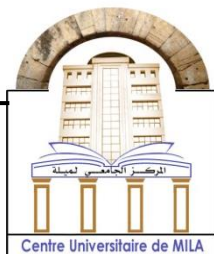


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Étude phytochimique et biologique d'une plante de la famille
Pinaceae**

Présenté par :

- KALKOUL Malak
- BELMAHFOUNE Aya

Devant le jury :

HARRIECHE Ouahiba
LALAOUI Meriem
BENAYACHE Feryal

M.A. A au Centre Univ. Mila.
M.C. B au Centre Univ. Mila.
M.C. B au Centre Univ. Mila.

Présidente
Examinatrice
Promotrice

Année Universitaire : 2024/2025

الحمد لله الذي أعاننا على إنهاء هذا العمل وسخر لنا القوة لإتمامه فكل توفيق منه وحده وكل سهو أو خطأ
فمنا أو من الشيطان.

Remerciements

En préambule, louange et gratitude à Dieu le Clément et Miséricordieux, de nous avoir donné la santé, le courage et la patience de mener à bien ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères et vifs remerciements à **Dr. BENAYACHE feryal** notre directrice de thèse pour son encadrement rigoureux, ses conseils éclairés, et ses remarques constructives qui ont largement contribué à l'élaboration et à l'amélioration de ce travail. Qu'elle soit assurée de notre profonde reconnaissance.

Nous adressons également nos remerciements à madame **HARRIECHE Ouahiba** maitre Assistant au centre universitaire -Mila -pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de soutenance.

Nous remercions également **Dr. LALAOUI Meriem** qui nous honore en acceptant de faire partie du jury de notre thèse.

On a eu la chance et le plaisir d'effectuer une partie de ce travail de recherche dans le laboratoire des analyses médical, au centre de diagnostique KHELLAF à Mila sous la direction du docteur **Wassila BENAYACHE**. Nous tenons à lui exprimer nos sincères remerciements et aux membres du laboratoire et en particulier **Amina**, pour leurs précieux accueils.

Nous remercions nos très chers parents qui nous ont fourni au quotidien un soutien et une confiance sans faille et de ce fait, nous ne saurions exprimer notre gratitude seulement par des mots.

À la fin nous remercions chaleureusement toutes les personnes qui nous ont encouragé et ont cru de nos capacités.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mon cher père, mon guide et mon exemple de sagesse, de force et de patience. Toi qui as su allier amour et respect, je t'aime profondément. Je t'adresse ces mots pour te remercier du fond du cœur pour tous tes sacrifices et ton soutien indéfectible. Tu es mon ami, mon compagnon préféré, et aucun mot ne saurait vraiment te décrire. Merci d'avoir toujours été là pour moi.

À ma chère mère, source d'amour et de tendresse, qui n'a jamais cessé de me soutenir émotionnellement et de m'encourager. Tu as toujours été la meilleure, et je vois chacun de tes gestes de dévouement. Que Dieu te protège et te préserve.

À mes sœurs bien-aimées, Douaa et Chaima, qui m'ont toujours soutenue, encouragée et valorisée dans tout ce que j'entreprends. Je vous aime tendrement, mes amies si proches de mon cœur.

À mes petits frères, Omar et Louai, vous êtes la joie de mon cœur et vos présences illuminent mes journées.

À ma compagne de route dans ce travail, Aya, merci pour tous les moments partagés, les joies comme les difficultés. Merci pour les sourires, la complicité et le soutien durant toute cette année. Je te souhaite tout le succès que tu mérites dans l'avenir.

À mes chères amies, Darine et Omnia, je vous exprime toute ma gratitude pour votre amour, votre soutien et les moments merveilleux passés ensemble. Merci encore d'avoir rendu ces instants parmi les plus précieux et les plus agréables.

À mon encadrante, notre précieuse guide durant cette étape importante, merci pour votre patience, votre compréhension et votre bienveillance à notre égard. Merci pour vos conseils enrichissants, pour le partage généreux de votre savoir et de votre expérience académique. Vous avez été un véritable modèle de professionnalisme et d'intégrité.

Enfin, cette dédicace s'adresse à toute personne, proche ou lointaine, qui porte de l'amour à ***Malak***.

Malak

Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect et reconnaissance, je dédie ce modeste travail à tous ceux qui sont chers à moi :

À mon cher père, ma source de vie, d'amour et d'affection. A mon support qui était toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Mon cher Papa je t'aime énormément.

À ma chère mère, mon paradis, ma moitié et ma source de tendresse et l'exemple du dévouement. Merci pour tes sacrifices silencieux et tes prières. Je t'adore maman.

À mes chères sœurs, Fouzia, Rafika et Bouchra qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.

À mes chers frères, fawzi et salah eddine pour l'amour qu'il me réserve.

À la mémoire de mon frère, Soulaïmen, qui est toujours présent dans mon cœur, et qui serait très heureux s'il était là, que Dieu lui accorde son pardon et sa grande miséricorde.

À mes petites anges, mes chers neveux, Alaa errahmane et moncef , source de joie de notre famille et de motivation quotidienne.

À ma compagne de route dans ce travail, Malak merci pour tous les moments partagés, les joies comme les difficultés. Merci pour les sourires, la complicité et le soutien durant toute cette année. Je te souhaite tout le succès que tu mérites dans l'avenir.

À mes chers amis, Hanin, Manel, Lilia, Lina, Abir, Ikram, batoul, sara, hadir etwided pour votre amour, votre soutien et les moments doux et amers passés ensemble.

Sans oublier ma chère encadrante, Merci pour votre compréhension, pour votre patience, pour vos conseils et pour le partage généreux de votre savoir et de votre expérience académique.

Aya

Liste des figures

Figure 1 : Exemple des Pinaceae	6
Figure 2 : Les aiguilles du cèdre en forme d'une rosette	7
Figure 3 : Répartition du genre <i>Cedrus</i> dans le monde	8
Figure 4 : Quelques composés majoritaire des huiles essentielles de <i>C.atlantica</i>	10
Figure 5 : la structure de base de flavonoïdes	14
Figure 6 : Paroi bactéries à Gram positif.	18
Figure 7 : Paroi des bactéries à Gram négatif	18
Figure 8 : Protocole d'extraction de <i>C.atlantica</i>	24
Figure 9 : Résultat de l'acide gallique.....	34
Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	35
Figure 11 : l'activité antiradicalaire de l'extraits AcOEt de <i>C. atlantica</i> et l'acide ascorbique. ..	36
Figure 12 : Zone d'inhibition des souches bactériennes	38

Liste des tableaux

Tableau N° 1 : Position systématique de la famille des Pinacées.....	5
Tableau N° 2 : différents types de Bactéries :	18
Tableau N° 3 : les différentes souches bactériennes utilisées et leur origine	27
Tableau N° 4 : Résultats du screening phytochimique de l'extrait AcOEt de <i>Cedrus atlantica</i> ...	32
Tableau N° 5 : Les IC ₅₀ de l'extrait et standard.	36
Tableau N° 6 : Zone d'inhibition (mm) des souches bactériennes avec l'extrait AcOEt	37

Liste des abréviations

AcOEt	Acétate d'éthyle.
CHCl ₃	Chloroforme.
ATCC	American Type Cell Culture.
DPPH	1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyle.
IC ₅₀	Inhibition Concentration (Concentration inhibitrice à 50%).
Gram -	Bactérie Gram négative
Gram +	Bactérie Gram positif
MH	Muller Hinton
AG	acide gallique
FeCl ₃	Chlorure de fer
HCl	Acide chlorohydrique
R ²	coefficient de corrélation
Mg EAG/g	milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait
µg	Microgramme
B. subtilis	Bacillus subtilis
S. aureus	Staphylococcus aureus
P.aeruginosa,	Pseudomonas aeruginosa
E.coli	Escherichia coli
E. cloacae	Enterobacter cloacae
SM	Solution mère
ZI	Zone d'inhibition des souches bactériennes
DMSO	Le diméthylsulfoxyde
VA-30	Vancomycine
CZ—30	Céphazoline
C.atlantica	Cedrus atlantica
D1	Dilution 1
D2	Dilution 2
AB	Antibiotique
MeOH	Méthanol
EtOH	Ethanol

Sommaire

Introduction générale	1
-----------------------------	---

PARTIE 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre I Aperçus bibliographiques sur le genre *Cedrus*

1. La famille des Pinaceae	5
1.1. Position systématique.....	5
1.2. Caractères botaniques	6
1.3. Répartition géographique.....	6
1.4. Les propriétés de la famille Pinaceae.....	6
2. Présentation du genre <i>Cedrus</i>	7
2.1. Description botanique et distribution.....	7
3. L'espèce <i>Cedrus atlantica</i>	8
3.1. Position systématique.....	8
3.2. Description botanique	9
3.3. Principes actifs	10
3.4. Les Propriétés pharmacologique de cèdre de l'Atlas.....	10

Chapitre II Les métabolites secondaires et les activités biologiques

1. Les métabolites secondaires	13
1.1. Les alcaloïdes.....	13
1.2. Les terpènes	13
1.3. Les composés phénoliques.....	13
1.3.1. Les flavonoïdes	13
1.3.2. Les tanins.....	14
1.3.3. Les coumarines.....	14
2. Méthodes d'analyse qualitative et quantitative	14

3. Les activités biologiques	15
3.1. L'Activité antioxydante	15
3.1.1. Les antioxydants.....	15
3.2. Evaluation de l'activité antioxydante.....	16
4. L'activité antibactérienne	17
4.1. Caractères biologiques	17
4.1.1. Bactéries à Gram positif	17
4.1.2. Bactéries à Gram négatif	18

PARTIE 2 : Etude expérimentale

Chapitre I Méthodes et analyses

Introduction	22
1. Matériel végétale	23
1.1. Récolte de la plante	23
1.2. Extraction.....	23
2. Screening phytochimique:	24
2.1. Recherche des flavonoïdes:.....	24
2.2. Recherche des saponines.....	24
2.3. Recherche des tanins.....	25
2.4. Recherche des phénols	25
2.5. Recherche des Quinones	25
2.6. Recherche des terpénoides	25
2.7. Recherche des protéines.....	25
3. Etude quantitative	25
3.1. Dosage des polyphénols.....	25
4. Les activités biologiques	26
4.1. L'évaluation de l'activité antioxydante par DPPH	26

4.1.1. Mode opératoire	26
4.2. Évaluation de l'activité antibactérienne	26

Chapitre II Résultats et discussions

1. Screening phytochimique	32
2. Le dosage de polyphénols.....	34
3. Evaluation de l'activité anti-radicalaire de l'extrait AcOEt	35
4. L'activité antibactérienne	37
Conclusion générale	41
Références bibliographiques.....	43

Résumé

Abstract

الملخص

Introduction

Introduction générale

Depuis des milliers d'années l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans leur environnement, afin de traiter traditionnellement toutes sortes de maladies. En combinant ces connaissances traditionnelles avec de nouvelles méthodes issues de la science moderne, les possibilités de développement de médicaments semblent infinies [1].

Les plantes médicinales sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments [2], grâce à leurs substances actives. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la planète ont recours à la médecine traditionnelle à base de plantes en tant que soins de santé primaire [3]. L'une des familles de plantes les plus utilisées comme source d'extrait à fort pouvoir antimicrobien, antifongique et antioxydant est la famille des Pinaceae [4].

Cette famille riche en métabolites secondaires (composés phénoliques, huiles essentielles, terpenoïdes et flavonoïdes ..) fait un sujet important de la recherche scientifique.

Le genre *cedrus* comprend 4 espèces fait partie de la famille Pinaceae est reparti à travers l'Asie et la Méditerranée. L'espèce *Cedrus atlantica* connu sous le nom le cèdre de l'atlas est utilisée comme un bon antiseptique urinaire et pulmonaire, employée pour soigner les gonorrhées, urétrites chroniques et vaginites. Elle donne de bons résultats dans le traitement des bronchites chroniques et de la bronchorrhée. [5] .

Dans ce contexte, notre but principal dans ce présent travail est l'extraction et l'identification de la composition chimique, ainsi que l'évaluation des propriétés biologiques: antioxydante et antibactérienne de l'extrait acétates d'éthyle de cette espèce.

Ce travail a été réalisé entre le centre universitaire Abdelhafid Boussouf, et le laboratoire d'analyse au centre médical Khellaf à Mila.

Les travaux reportés dans ce manuscrit sont présentés dans deux parties :

- Une première partie bibliographique, comportant deux chapitres dont :

- Le premier chapitre portera sur l'étude bibliographique de la famille Pinaceae, le genre *cedrus* et l'espèce *cedrus atlantica*, que nous allons étudier pratiquement, sa systématique, description botanique, et ses propriétés pharmacologiques.
 - Le deuxième chapitre portera sur l'étude des métabolites secondaires et les activités biologiques.
- Une deuxième partie expérimentale, consacrée à la présentation de nos travaux personnels, comportant deux chapitres :
- Le premier chapitre : décrit les détails expérimentaux entrepris tout au long de ce travail, il comprend le screening phytochimique, le dosage de polyphénols, l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne.
 - Le deuxième chapitre : est consacré à la discussion des résultats de différents tests biologiques et chimiques effectués.

Et nous finirons par une conclusion générale.

PARTIE 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Aperçus bibliographiques sur le genre

Cedrus

1. La famille des Pinaceae

La famille des Pinacées ou Abiétacées appartient à un grand groupe d'arbres à feuilles appelé conifères. Il compte 225 espèces réparties en 12 genres : *Abies*, *Hesperopeuce*, *Cedrus*, *Larix*, *Picea*, *Pinus*, *Pseudolarix*, *Pseudotsuga*, *Tsuga*, *Cathaya*, *Ketelariaet* *Nothotsuga* [6].

En Algérie, on rencontre trois genres qui sont : *Abies* (le Sapin), *Cerdus* (le Cèdre) et *Pinus* (le Pins) [7].

La famille Pinaceae est la plus grande famille de gymnospermes [8], constitue une grande importance économique en tant que source de bois, de pâte et de résines. Elle joue également un rôle écologique très important en produisant une grande biomasse et en créant un habitat pour de nombreux autres organismes. Les arbres forestiers des pinacées sont essentiels pour la séquestration du carbone qui peut affecter le climat mondial [9]. Les espèces de Pinacées sont riches en huiles essentielles (à partir de multiples organes, avec des compositions chimiques distinctes), qui pourraient contribuer à prévenir diverses maladies, notamment le cancer, les maladies cardiaques, les troubles cognitifs ou l'affaiblissement du système immunitaire, en piégeant les radicaux libres [10].

1.1. Position systématique

Les Pinacées font partie de l'ordre des Pinales et sont actuellement classées dans la classe des Pinopsida, selon la classification établie en 2009 [11-12] .

Tableau N° 1 : Position systématique de la famille des Pinacées

Règne	Planta
Embranchement	Spermatophytina
Sous embranchement	Gymnospermae
Division	Pinochyte
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Pinaceae

1.2. Caractères botaniques

Les Pinaceae contiennent de la résine dégagent une odeur caractéristique due à des composés chimiques appelés " pinènes", qui jouent un rôle dans la défense de l'arbre contre les herbivores [13]. Les feuilles sont en forme d'aiguilles, disposées en spirale ou en faisceaux. Elles peuvent être persistantes, restant sur l'arbre toute l'année, ou caduques, tombant en automne, comme chez les mélèzes [14]. Les pinaceae sont des arbres ou plus rarement des arbustes persistants, monoïques, aux rameaux régulièrement verticillés [14] [15].



Figure 1 :Exemples des Pinaceae.

1.3. Répartition géographique

Cette famille est exclusivement distribuée dans l'hémisphère nord à l'exception d'une espèce de *Pinus* présente à Sumatra, près de l'équateur. Les espèces rares poussent principalement en montagne, notamment dans les forêts de conifères des régions tempérées et froides. On les trouve plus rarement dans les zones semi-arides ainsi que sous les latitudes tropicales et subtropicales [16] .

1.4. Les propriétés de la famille Pinaceae

- ✓ Plusieurs études pharmacologiques ont reporté que *Pinus halepensis* présente un large éventail d'activités biologiques associées à sa composition chimique.

- ✓ Les rameaux feuillés de *Pinus halepensis* renferment une huile essentielle riche en pinène, puissant antiseptique apprécié en cas d'affections respiratoires [17]. les travaux de Kadri, 2013 sur l'HE montre un effet inhibiteur de l'appétit, un stimulant de l'absorption des protéines, et comme traitement de la leishmaniose.
- ✓ Le genre *Pinus* est utilisé dans le domaine cosmétique grâce à sa richesse en acide gras, vitamine E, polyphénols et antioxydants naturels. Les grains de pin sont utilisés dans le domaine agroalimentaire [18].
- ✓ Les cônes d'*Abies numidicas* ont été utilisés pour traiter diverses affections pulmonaires et vasculaires. Sa résine présente des propriétés antiseptiques et antiscorbutiques. Son huile essentielle est fréquemment employée pour apaiser certaines pathologies des voies respiratoires et présente une activité antibactérienne significative [19-20].
- ✓ Les espèces du genre *Picea* ont été utilisées en médecine traditionnelle, dans le traitement de nombreuses affections, selon des méthodes thérapeutiques variées [21].

2. Présentation du genre *Cedrus*

Le cèdre est un grand arbre de l'ordre des conifères essentiellement montagnard, occupe des surfaces d'importance inégale et forme spontanément trois blocs géographiques distincts : Afrique du Nord, Asie mineure et Himalaya , présentant quelque analogie avec les sapins et avec les mélèzes [22].

2.1. Description botanique et distribution

Le genre *Cedrus* se distingue par la présence de deux types de rameaux : les rameaux courts, sur lesquels les aiguilles sont disposées en rosette, et les rameaux longs, où les aiguilles s'agencent en spirale [23] [24].



Figure 2 : Les aiguilles du cèdre en forme d'une rosette [25].

Le genre *Cedrus* comprend quatre espèces [26]. *Cedrus libani* naturellement présent au Liban, en Syrie et en Turquie, *Cedrus atlantica* originaires d'Afrique du nord au Maroc et en

Algérie, *Cedrus brevifolia* sur l'île de Chypre et *Cedrus deodara* qui est distribué dans les montagnes de l'Himalaya.

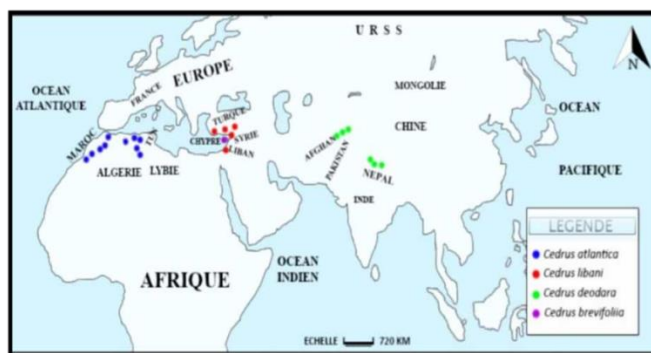


Figure 3 : Répartition du genre *Cedrus* dans le monde [27].

3. L'espèce *Cedrus atlantica*

Le cèdre de l'atlas occupe naturellement les hautes montagnes de l'Algérie et du Maroc. En Algérie occupe une superficie de 30 400 ha et elle est divisée en : Cédraie humide (Atlas tellien) et en cédraie sèche (Atlas saharien) [28] .

3.1. Position systématique

selon la classification réalisée par Ran et ses collaborateurs en 2018 [29], *Cedrus atlantica* (Manetti) suit le taxon suivant :

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyte
Sous-embranchement	Gymnosperme
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Pinaceae
Sous famille	Abietoideae
Genre	<i>Cedrus</i>
Espèce	<i>atlantica</i>

3.2. Description botanique

Le port :



Arbre de grande taille pouvant atteindre 40 mètres de hauteur [30,31] jusqu'à 60 mètres dans les conditions écologiques les plus favorable [32]. avec une moyenne de taille entre 25 et 30 mètres vers 70 à 80 ans [33]. La cime est conique pyramidale à l'état jeune, elle sera de forme tabulaire avec le vieillissement de l'arbre [34].

Les feuilles :



Les feuilles ont des formes d'aiguilles persistantes (durent généralement 3 ans), peu aigues, raides et fines [35]. Elles ont une couleur verte ou glauque [36].

Les fleurs :



Jusqu'à 5 centimètres de long, fleurs monoïques, le cône femelle court, dressé de couleur vert rougeâtre, le cône mâle dressé de couleur jaune [37].

Les fruits :



De 5–8 centimètres, verts et marrons, de forme cylindriques avec un sommet plat [38].

Les graines :



Les graines sont d'une forme triangulaire, dont la longueur est de 10 à 15 mm, empreintes d'une couleur marron roux et munies de larges ailes, tendres et enveloppées d'une pellicule résineuse protectrice [39].

3.3. Principes actifs

La composition chimique de la plante dépend de lieu et de récolte, les études antérieures sur cette espèce montrent que la plante accumule :

- **L'huile essentielle** dont les principaux composants sont : β -Himachalène (31,55%, 30,08%), α -Himachalène (15,00%, 16,38%), Longifolène (11,22%, 14,45%), δ -Cadinène (4,08%, 4,55%). α -pinène (5-23%) [40].
- **Acide phénoliques** : l'acide malique, l'acide protocatéchique, l'acide vanillique et l'acide rosmarinique [41]
- **Flavonoïdes** : quercétine, le kaempférol [41].
- **Coumarines**.

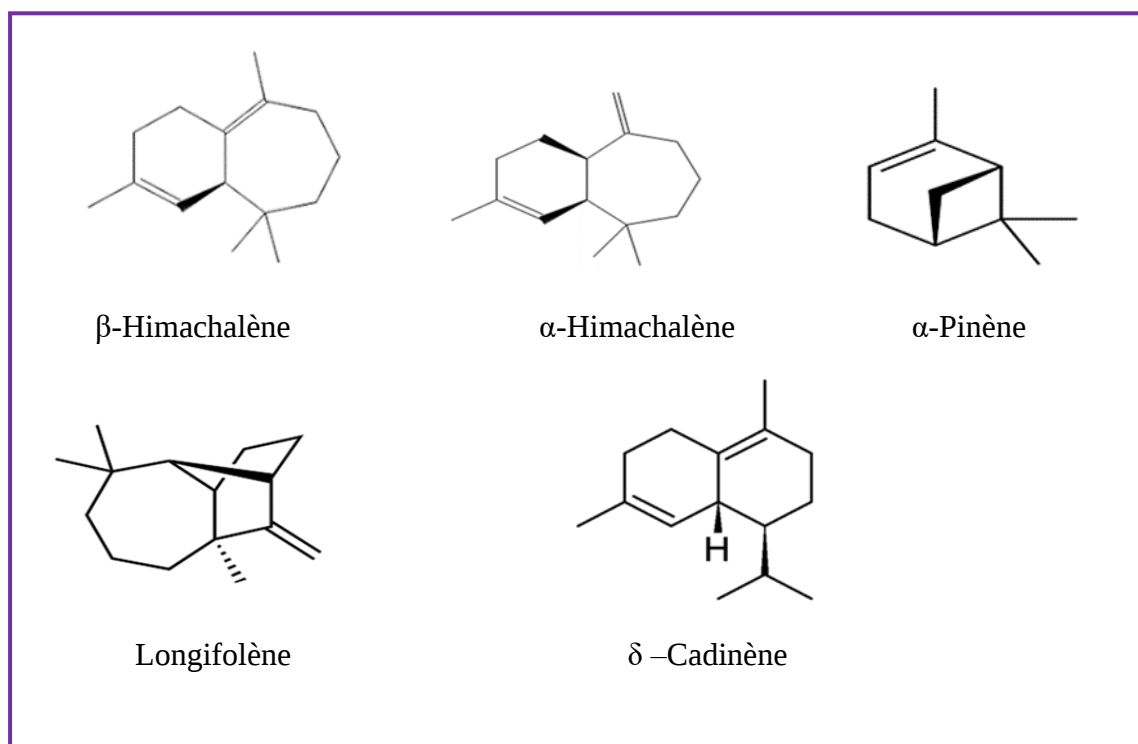


Figure 4 : Quelques composés majoritaires des huiles essentielles de *C. atlantica*.

3.4. Les Propriétés pharmacologique de cèdre de l'Atlas

Le Cèdre de l'Atlas est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter des différentes maladies tel que :

- ✓ Les maladies génito-urinaires, cutanées et pour le traitement des troubles musculo-squelettiques [42] .

- ✓ L'huile essentielle de *Cedrus atlantica* présente des propriétés sédatives, analgésiques et anti-inflammatoires [42], antiseptiques, diurétiques, antifongiques et antivirales [43-44] .
- ✓ Elles font partie également de la composition chimique de certains lotions et shampoings traitants le cuir chevelu (Bardeau, 2009) [45] . Et également la chute des cheveux [42-43] .
- ✓ Le mélange résine-huile essentielle est utilisé pour le traitement des yeux [46].
- ✓ Ses huiles essentielles sont très efficaces contre le rhume [45].
- ✓ L'inhalation d'huile essentielle de *Cedrus atlantica* induit un effet anti hyperalgésique dans un modèle de douleur postopératoire et des propriétés antiseptique. Elle est utilisée dans le traitement des bronchites, de la toux et des indigestions [42 ,43,44].
- ✓ L'huile essentielle de *Cedrus atlantica* il est également utilisé en parfumerie et cosmétologie [79] et antimicrobiens, la cellulose et ses dérivées extraite de l'écorce est utilisée dans le traitement des bronchites, de la toux et des indigestions [64].

Chapitre II

Les métabolites secondaires et les activités biologiques

1. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes [47]. Elles sont caractérisées généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux [48]. Ces molécules jouent un rôle dans l'adaptation des plantes à leur environnement et représentent une source importante de produits pharmaceutiques [49]. Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques...) qui sont répartis de manière diversifiée chez les végétaux.[50].

1.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles hétérocyclique, composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote [51] produites à partir de différents acide aminé, servent essentiellement à protéger les plantes contre les herbivores[52].

1.2. Les terpènes

Sont des dérivés de l'isoprène C_5H_8 et ont formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à-dire $(C_5H_8)_n$. La plupart de ces composés ont des structures polycycliques qui diffèrent les uns des autres non seulement par les groupes fonctionnels, mais aussi par la structure basique de leur squelette hydrocarboné [53].

1.3. Les composés phénoliques

Les polyphénols sont caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside [54]. Ils ont substance des effets prébiotiques, antioxydants, chélation et inflammation [55]. Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques, Les flavonoïdes, les tanins, et les coumarines [56].

1.3.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes jouent un rôle essentiel dans la coloration des plantes, en particulier pour les teintes jaunes, orangées et rouges observées dans divers organes végétaux [57]. ces composés sont constitués d'un squelette carboné spécifique composé de 15 atomes de carbone, organisé selon un agencement C6-C3-C6 [58].

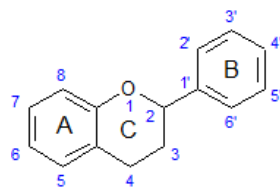


Figure 5 : la structure de base de flavonoïdes

De nombreux flavonoïdes possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales. La 8-prenylnaringénine, extraite du houblon est l'un des meilleurs phytoestrogènes [59].

1.3.2. Les tanins

Sont des composés polyphénoliques hydrosolubles qui possèdent la particularité de se lier aux macromolécules, notamment les protéines, ce qui leur confère des propriétés de précipitation des alcaloïdes et de la gélatine. Cette capacité est également à l'origine de leur pouvoir tannant, permettant de rendre la peau imputrescible en inhibant sa décomposition [60].

1.3.3. Les coumarines

Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone. Ces substances sont utilisées en médecine, notamment pour leurs propriétés anti oxydantes et anti-inflammatoires.

2. Méthodes d'analyse qualitative et quantitative

L'identification des composés phénoliques est fondée sur des différentes techniques parmi lesquels on cite :

Le screening phytochimique : qui est un ensemble de méthodes qui permet de détecter, dans la plante, la présence des différents métabolites secondaires. Suite à un prétraitement de la plante, les métabolites secondaires sont extraits. Ces derniers subissent une réaction spécifique lorsqu'ils sont mis en présence de réactifs chimiques donnés [61]. Cette réaction permet ainsi de les mettre en évidence. Il est alors possible à la fin d'un screening phytochimique d'établir une liste des métabolites secondaires présents dans la plante étudiée.

Le dosage : Parmi les méthodes de quantification des composés phénoliques, on peut citer un protocole utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Il s'agit d'une méthode analytique biochimique nécessitant la prise d'échantillons, l'extraction des composés phénoliques puis une mesure spectrophotométrique des extraits.

3. Les activités biologiques

3.1. L'Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Stress oxydant, antioxydants, espèces oxygénées activées (EOA), et radicaux libres sont devenus des termes familiers tant dans le monde médical [62].

La présence d'antioxydants dans les aliments permet d'éviter le rancissement dû à l'oxydation causée par l'oxygène, la lumière, la chaleur ou le contact de certains métaux [63].

3.1.1. Les antioxydants

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes ou proviennent de l'alimentation ou la médication et sont donc exogènes [64].

➤ Antioxydants naturels

- **Vitamine E**

La vitamine E est un antioxydant majeur liposoluble. C'est un composé amphiphile, il joue un rôle important dans l'organisme par son action antioxydante au niveau cellulaire.

- **Vitamine A**

La vitamine A est une vitamine liposoluble, elle existe sous deux formes : le rétinol et ses dérivés d'origine animale et les caroténoïdes d'origine végétale [65].

Le bêta-carotène est le principal précurseur de la vitamine A. Les autres caroténoïdes peuvent être de puissants antioxydants, mais ils sont moins connus et abondants [66].

- **Vitamine C**

La vitamine C ou acide ascorbique est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes.

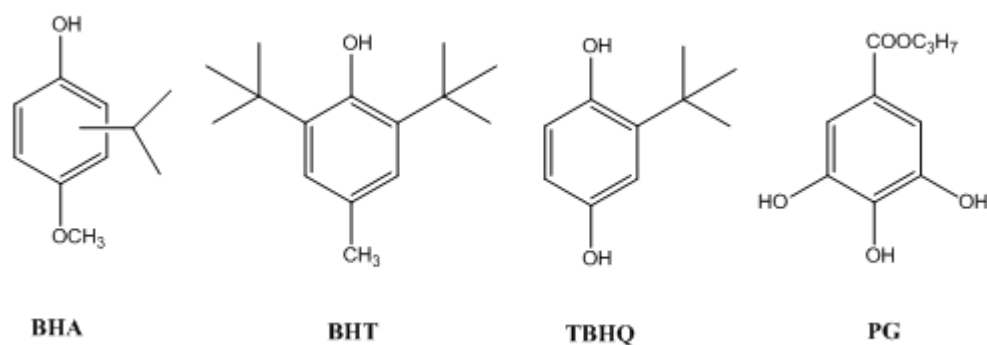
Les études *in vivo* de la supplémentation en vitamine C montrent, pour la plupart, une réduction de l'oxydation de l'ADN, des protéines et de la lipoperoxydation, alors que certains auteurs relatent l'effet pro-oxydant *in vitro* de cette molécule dans des milieux tamponnés contenant du fer en accélérant la réaction de Fenton [67].

✓ Les composés phénoliques

La capacité antioxydante des composés phénoliques réside dans leur faculté à « terminer » les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique [59].

➤ Les antioxydants de synthèse

Les antioxydants de synthèse les plus connus sont les composés phénoliques tels que:Hydroxyanisolebutylé (BHA), Hydroxytoluène butylé (BHT), *tert*Butylhydroquinone (TBHQ) et Gallate de propyle (GP). Les antioxydants synthétiques sont toujours substitués par un alkyle pour améliorer leur solubilité dans les graisses et les huiles [68].



3.1.2.Les radicaux libres :

Les radicaux libres ou espèce réactive de l'oxygène/Radical libre ou espèce réactive de l'oxygène (ROS), : C'est une molécule chimique qui possède un électron libre [69] dans l'orbitale la plus externe ; En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé [70].

Elle est très active et peut réagir avec l'ADN, les protéines, les lipides ...provoquant des dommages délétères [71], structuraux et fonctionnels [72].

3.2.Evaluation de l'activité antioxydante

L'approche appliquée pour l'évaluation de l'activité antioxydante est celle de la détermination de la réduction relative du radical (DPPH').

L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage %RSA (Radical Scavenger Activity), ou l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant. L'activité est calculée selon l'équation :

$$\text{RSA (\%)} = (A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}} / A_{\text{contrôle}}) \times 100\%$$

$A_{\text{Contrôle}}$ est l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

A_{Extrait} est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C), α -tocophérol (vitamine E) et les antioxydants synthétiques BHT et BHA.

L'indice relatif %RSA montre seulement la capacité de l'échantillon, à une concentration fixée, de réduire ou non les radicaux libres.

Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par la concentration effective IC_{50} de l'antioxydant, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité (de l'absorbance) du DPPH $\cdot$ dans le milieu réactionnel.

4. L'activité antibactérienne

Un agent antibactérien est un agent qui inhibe la croissance bactérienne ou tue les bactéries. Aujourd'hui, cependant, on a une meilleure connaissance des agents responsables de diverses maladies infectieuses, et le terme antibiotique remplace le terme antibactérien pour désigner un large éventail de composés antimicrobiens.

Cependant, l'usage répandu de ces « médicaments » a entraîné la sélection de souches multi-résistantes, mettant en évidence l'importance de focaliser la recherche sur de nouvelles alternatives, en particulier les plantes, qui ont longtemps été l'inspiration des chercheurs médicaux [73].

4.1. Caractères biologiques

4.1.1. Bactéries à Gram positif

Les bactéries à Gram + ont une structure unimembranée qui est organisée en trois grandes parties :

- La couche de peptidoglycane.

- L'espace péri plasmique.
- La membrane plasmique.

Les bactéries à Gram positif se cultivent, pour la plupart, facilement dans les milieux de base; on dit que ce sont des germes non exigeants. La plupart des coques, les bactéries de formes rondes, sont des Gram+, et de nombreux bacilles, bactéries de formes allongées en bâtonnets, sont aussi des Gram positif [74].

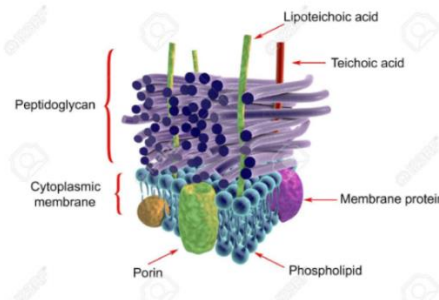


Figure 6 :Paroi bactéries à Gram positif.

4.1.2. Bactéries à Gram négatif

Les bactéries à Gram négatif ont une structure biomembrane qui est organisée en trois grandes parties:

- La membrane externe.
- L'espace périplasmique (comportant notamment la paroi avec le peptidoglycane) [75].
- La membrane plasmique .

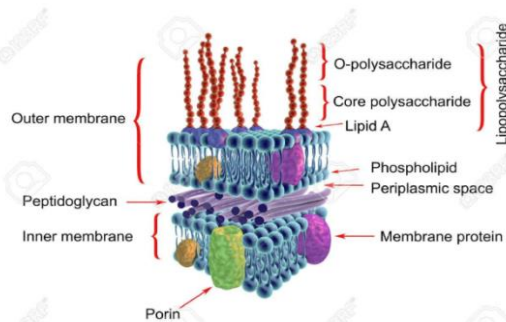


Figure 7 :Paroi des bactéries à Gram négatif.

Tableau N° 2 : différents types de Bactéries

<i>Escherichia coli</i> : Gram- 	Elles sont des bacilles fins 0.5 μm de diamètre sur 2 à 3 μm de long [76] , (de couleur rose), On la trouve naturellement dans le tube digestif, responsable de diarrhées .
<i>Staphylococcus aureus</i> : Gram+ 	Ce type de bactéries est immobile, asporulé, habituellement sans capsule. Apparaît sous forme sphérique (coque en grappes de raisin), de 0,5 à 1,5 μm de diamètre, (de couleur violette), se trouve sur la muqueuse nasale [77].
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> : Gram- 	une bactérie en forme de bâtonnet (bacille), mesurant environ 0,5 à 0,8 μm de diamètre pour une longueur de 1 à 3 μm[76]. De coloration rose en culture, elle est ubiquitaire dans l'environnement, notamment présente dans l'eau et sur les surfaces humides. Elle est fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales.
<i>Enterobacter cloacae</i>: Gram- 	<i>E. cloacae</i> fait partie de la flore intestinale normale des humains et des animaux, elle peut végéter sur la peau et les muqueuses et elle représente notamment l'espèce type du groupe Entérobactérie [78].
<i>Bacillus subtilis</i> :Gram+ 	Elle est naturellement présente dans le sol,. Cette espèce peut être impliquée dans certains cas d'intoxications alimentaires [79]. En raison de ses propriétés, <i>B. subtilis</i> trouve des applications dans de nombreux domaines, notamment en médecine, l'agroalimentaire, l'environnement et les industries des détergents et tannage [80].

PARTIE 2

Etude expérimentale

Chapitre I

Méthodes et analyses

Introduction

Nos travaux de recherche ont été réalisés au sein du centre universitaire Abdel Hafid Boussof, Mila (département de sciences et technologies) où nous avons effectué : le screening, l'activité antioxydante et le dosage des polyphénols de l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce *C.altantica*, et pour l'activité antibactérienne, elle a été réalisée en collaboration avec le laboratoire d'analyse au sein de clinique Médicale Khellaf à Mila.

Dans ce chapitre, nous présenterons les différentes méthodes et matériaux utilisés pour préparer l'extrait AcOEt, et les testes biologiques Notre travail sera partagé en 4 étapes :

- ✓ l'extraction.
- ✓ le Screening phytochimique.
- ✓ dosage polyphénols.
- ✓ les activités biologiques.

Matériel	Produits chimiques
• Erlenmeyer • Tubes à essai • Portoirs • Bécher • Entonnoir • Pipette graduée • Spatule • Micropipette • Pipette pasteur • Balance de précision • Papier filtre • Spectrophotomètre • Fiole à juger • Eprouvette • Bec bunsen • Les embouts • Autoclave • Etuve • Boites de pétri • Ecouvillons stériles	• Ethanol • Méthanol • CHCl_3 • Acétate d'éthyle • Butanol • Héxane • DPPH • HCl • DMSO • Folin-Ciocalteu • Acide ascorbique • Acide gallique • Na_2CO_3 • Eau distillée • Eau physiologie • MH • Les antibiotiques • (CZ30 ,VAN20)

1. Matériel végétale

1.1. Récolte de la plante

Les parties aériennes branche et aiguilles de *Cedrus atlantica* a été récoltée en mois de décembre de la région des Aurès (Wilaya de Batna). Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été macérées.

1.2. Extraction

300 g des parties aériennes de la plante sont mises à macérer à température ambiante dans un mélange hydroalcoolique (EtOH / H₂O, 80 : 20, V/V), en répétant cette opération 3 fois avec renouvellement du solvant (24 à 48 heures). L'extrait récupéré est concentré sous pression réduite à une température n'excédant pas 40°C, puis dilué avec de l'eau distillée.

Une décantation pendant une nuit permet le dépôt des composés hautement lipophiles (la chlorophylle, les cires, les résines, le sable etc...). La solution ainsi dégraissée subit une filtration pour obtenir une solution aqueuse claire. Cette dernière a subi des extractions de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol. Les phases organiques récupérées sont concentrées sous pression réduite à sec et pesées :

- **Extrait CHCl₃ = 0,2 g.**
- **Extrait AcOEt = 2g.**
- **Extrait *n*-BuOH = 5,8 g.**

Le protocole d'extraction est résumé dans la figure 8.

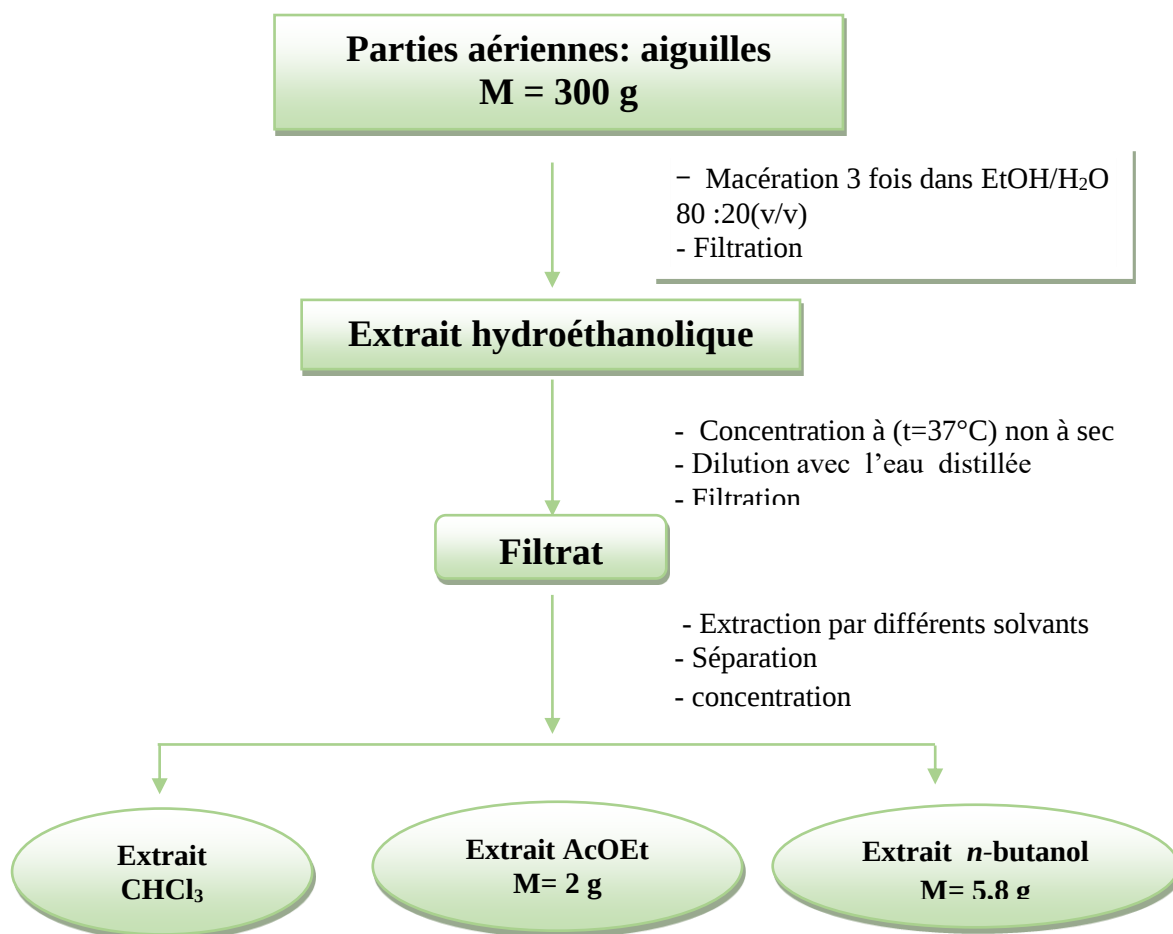


Figure 8 : Protocole d'extraction de *C. atlantica*

2. Screening phytochimique:

Un screening phytochimique a été effectué sur l'extrait acétate d'éthyle de *cedrus atlantica* afin de connaître ses principaux constituants. Le protocole réalisé lors de ce screening est le suivant :

2.1. Recherche des flavonoïdes:

2 ml d'extrait de *cedrus atlantica* préparé dans l'eau distillé ont été mis dans des tubes à essai. Après addition de HCl puis de quelques morceaux de magnésium, l'apparition d'une couleur rouge indique la présence de flavonoïdes [81].

2.2. Recherche des saponines

2ml d'extrait de *cedrus atlantica* solubilisé dans de l'eau distillé sont mis dans un tube à essai. Après agitation pendant quelques minutes. L'apparition de mousse persistante indique la présence de saponines [82].

2.3. Recherche des tanins

2 ml d'extrait de *Cedrus atlantica* solubilisé dans de l'eau distille dans des tubes à essai. Pour détecter la présence ou l'absence des tannins, le trichlorure de fer (FeCl_3 , 1%) a été ajouté. L'apparition d'une couleur vert-bleu foncé indique la présence des tanins galliques et la couleur bleu-verdâtre indique la présence des tanins catéchiques [83].

2.4. Recherche des phénols

Quelques millilitres 2ml d'extraits ont été mis dans des tubes à essai puis ajouter quelques millilitres de réactif FeCl_3 . L'apparition d'une couleur bleue verte indique la présence des phénols.

2.5. Recherche des Quinones

Ajouter 2ml d'extrait de *Cedrus atlantica* dans un tube à essai avec quelques millilitres d'acide sulfurique (10%) L'apparition d'une couleur rouge indique la présence des Quinones.

2.6. Recherche des terpénoides

L'extraits de *Cedrus atlantica* 0.5ml ont été mis en solution dans quelques millilitres d'acide sulfurique (10%) 3ml et agiter quelques seconds, L'apparition de la couleur rouge vermillon indique la présence des terpénoides .

2.7. Recherche des protéines

Ajouter 2ml d'extrait à 2gouttes de l'acide nitrique et agiter après laissés pendant quelques minutes. L'apparition de la couleur jaune indique la présence des protéines.

3. Etude quantitative

3.1. Dosage des polyphénols

Principe : Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

Protocole : on prépare des dilutions d'acide gallique de différentes concentrations comprise entre 25 et 200 $\mu\text{g/mL}$. On introduit 0,5ml de chaque dilution à l'aide d'une pipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 2,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué dans l'eau distillée). Après agitation et 5 min d'incubation 2 ml de carbonates de sodium à 7,5% ont été ajoutées, les solutions ainsi obtenues sont maintenues à l'obscurité pendant 2 heures à température

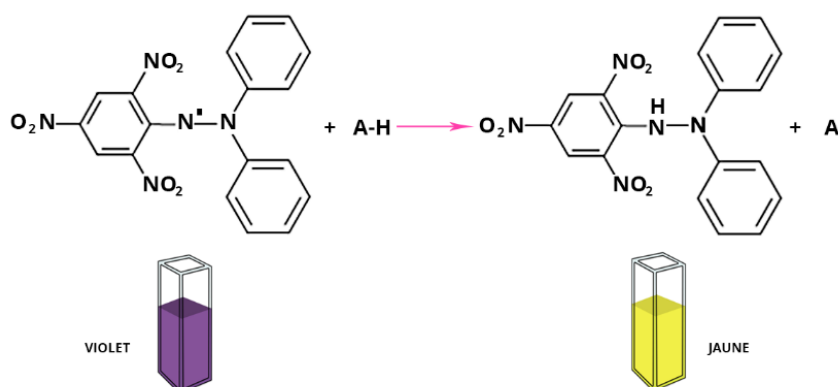
ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS.

L'analyse quantitative des phénols totaux de l'extrait AcOEt a été réalisée par l'ajout de 0,5 ml de l'extrait (1mg/ml) suivi par la même procédure. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

4. Les activités biologiques

4.1. L'évaluation de l'activité antioxydante par DPPH

L'activité anti-radicalaire de l'extrait AcOEt a été évaluée par le test de DPPH° (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle). Le DPPH°, radical stable, donne une solution violette et une absorbance caractéristique et maximale à 517 nm. Le principe de ce test repose sur la décoloration de la couleur violette lorsque le DPPH° est réduit par un composé anti-radicalaire. Pour l'évaluation comparative, l'acide ascorbique a été utilisé comme une référence [84].



4.1.1. Mode opératoire

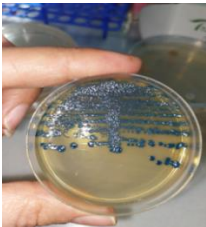
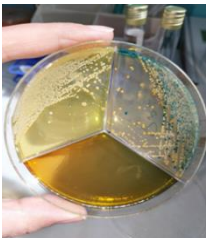
6mg de DPPH sont dissout dans 150 ml de MeOH et on mélange la solution jusqu'à ce qu'il devienne homogène. Un volume de 3,9 mL de la solution de DPPH est mélangé avec 1 mL de chaque dilution de différente concentration de l'acide ascorbique. Le même protocole est répété avec les différentes dilutions de l'extrait AcOEt. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm.

4.2. Évaluation de l'activité antibactérienne

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antibactérienne en milieu solide (MH) dans des boîtes de pétrie, après un certain temps de contact entre le produit et les microorganismes cible. L'activité inhibitrice du produit se manifeste par la formation d'une

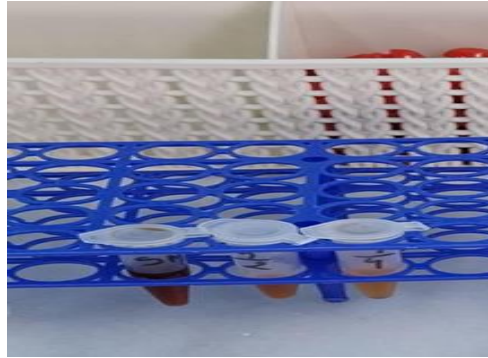
auréole d'inhibition autour du disque, elle est considérée comme positive pour tout produit donnant un diamètre d'inhibition supérieur à 8mm. [85].

Tableau N° 3 : les différentes souches bactériennes utilisées et leur origine .

Souches bactérienne	Origine
<i>E. cloacae</i> 	Pus
<i>S. aureus</i> 	Infection urinaire
<i>P. Aeruginosa</i> 	ATCC27853
<i>B. subtilis</i> 	ATCC6633
<i>E. coli</i> 	ATCC25922

➤ **Préparation des dilutions:**

400 mg de l'extrait sont dissous avec 1 ml de DMSO pour obtenir la solution mère. D'après la concentration de la solution mère on prépare 2 dilutions 1/2 et 1/4 .



➤ **Préparation de milieu de culture :**

Le milieu Muller Hinton a été utilisé comme milieu de culture approprié pour cette étude. Après dissolution du milieu MH au bain-marie, les flacons sont apportés au poste de travail. Le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri en plastique stériles, puis laissé sur la paillasse pendant 30 minutes jusqu'à ce qu'il doive être séché.



➤ **Préparation des disques :**

Les disques ont été préparés à partir de papier filtre, avec un diamètre de 6 mm puis ils ont été mis dans un tube à essai, et ont été stérilisés à l'autoclave après ils ont été conservés jusqu'à l'utilisation.

➤ **L'ensemencement :**

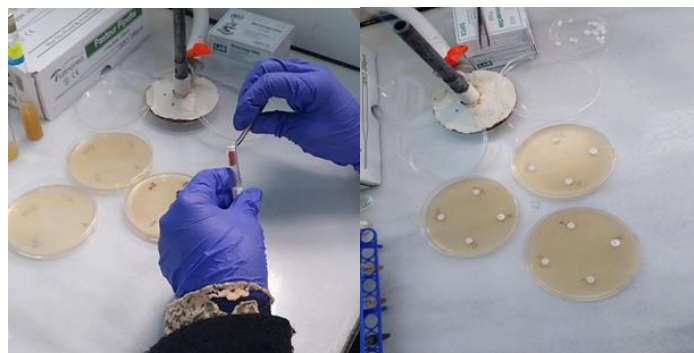
A partir des cultures jeunes préparées, on prélève quelques colonies des bactéries dans 3 ml d'eau physiologique stérile, ensuite les tubes ont été agités au vortex pendant quelques secondes.



Les boîtes de Pétri préalablement coulées, seront ensemencées dans un milieu stérile en présence de bec benzène par trempage d'un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, puis l'ensemencement s'effectue par le frottement de l'écouvillon à la surface de MH, sèche en tournant la boîte de Pétri de 60°. Cette opération est répétée 3 fois pour assurer une distribution homogène des bactéries.



- ✓ Ensuite on va divisés les boîte de Pétri en quatre parties (SM ,D1 ,D2 et AB).
- ✓ Les disques et antibiotique imprégnés à l'aide d'une pince stérilisé à chaque utilisation .
- ✓ 10 μ L de chaque dilution et de SM ont été mit dans les disques.
- ✓ Les boîtes de pétri ont été incubées pendant 24 heures à 37°C.





➤ Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Les résultats ont été exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches.

- ✓ **Non sensible (-)** : ou résistante : diamètre < 8 mm ;
- ✓ **Sensible (+)** : diamètre compris entre 8 à 14 mm ;
- ✓ **Très sensible (++)** : diamètre compris entre 15 à 19 mm ;
- ✓ **Extrêmement sensible (+++)** : diamètre > 20 mm[86].

Conclusion :

Après avoir appliqué des méthodes et du matériel chimiques et biologiques, nous sommes arrivés à un ensemble de résultats que nous présenterons et discuterons dans le dernier chapitre.

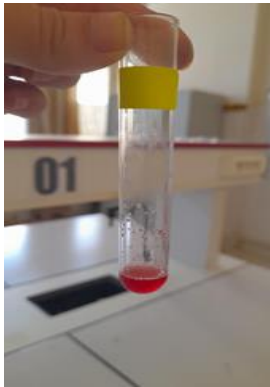
Chapitre II

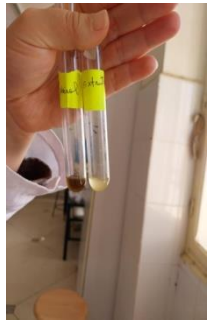
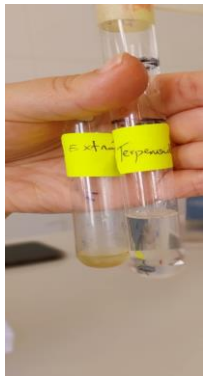
Résultats et discussions

1.Screening phytochimique

Les résultats de Screening phytochimique de *Cedrus atlantica* ont fourni des informations préliminaires sur la composition chimique du matériel végétal, en s'appuyant principalement sur des réactions de coloration ou de précipitation. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau N° 04. ,Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires.

Tableau N° 4 :Résultats du screening phytochimique de l'extrait AcOEt de *C.atlantica*.

Métabolites secondaires	Résultats	Observation
Flavonoïdes	+++	
Saponines	++	
Tanins	+++	

Phénols	++	
Quinones	-	
Terpénoides	-	
Protéines	+	

❖ (+++) : Réaction fortement positive.

❖ (++) : Réaction moyennement positive.

❖ (-) : Réaction négative.

D'après le tableau ci-dessus on constate la présence de la pluparts des métabolites secondaires.

Pour les tests des tanins, la couleur vire au bleu noir, ce qui indique la présence des tanins galliques par une réaction fortement positive, ainsi que pour les flavonoïdes, par l'apparition d'une coloration rouge qui révèle leur présence. La présence des phénols est bien observée par la coloration verdâtre. Les terpenoïdes sont absent dans l'extrait. Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Ameggouz et al. (2024)** [87].

La formation d'une mousse dans le tube à essai indique la richesse de la plantes en saponines.

L'étude effectuée par **ameggouz et al., 2024** sur l'extrait AcOEt révèle la présence des quinones par contre ils sont totalement absents dans notre étude .

Les protéines sont moyennement présents dans l'extrait AcOEt, et n'ont pas fait l'objet d'une étude antérieure dans le screening de cet extrait.

L'analyse complète du résultat du screening phytochimique a mis en évidence la présence des métabolites secondaires possédant des activités biologiques intéressantes.

2.Le dosage de polyphénols

La teneur en polyphénols totaux dans l'extrait acétate d'éthyle a été estimée par la méthode colorimétrique de FolinCiocalteu. L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode.

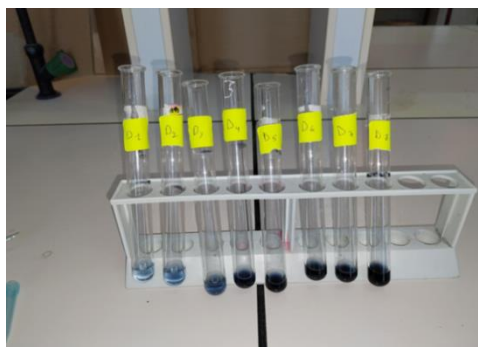


Figure 9 : dilutions de l'acide gallique.

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique ($y = 0,0115x - 0,0673$) avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,968$. Cette valeur, très proche de 1, témoigne d'un pouvoir prédictif élevé.

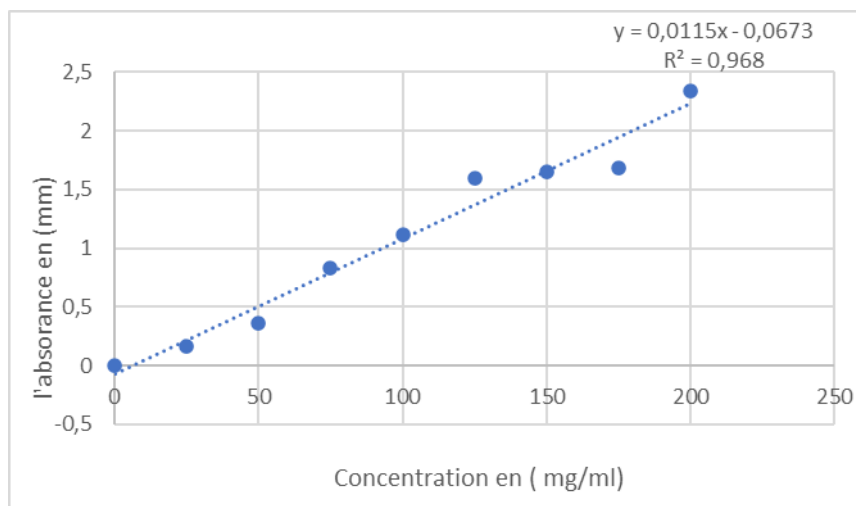


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux ont été obtenus par extrapolation de l'absorbance de l'extrait sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats obtenus montrent que la teneur moyenne en phénols totaux de l'extrait acétate d'éthyle est de **123,7 ± 8,64 mg EAG/g**.

Ces résultats sont inférieurs à ceux de **Ameggouz et al., 2024** qui ont mené leur étude sur une espèce issue de Maroc, avec une concentration de **132,02 ± 0,60 mg GAE/g** d'extrait.

La teneur en polyphénols reportée par **Benmerache et al. 2024** [41] qui est de l'ordre de **157,6 ± 0,2 ; (mg EGA/g)** est plus élevée par rapport à notre résultat.

Cette différence de résultats se trouve probablement due à la période de récolte ou la partie de plante étudiée (fruits, feuille, cônes...).

3. Evaluation de l'activité anti-radicalaire de l'extrait AcOEt

L'évaluation de cette activité a été effectuée en utilisant la méthode de DPPH. La mesure de cette activité a été réalisée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517 nm. À partir des valeurs d'absorbance obtenues, les pourcentages d'inhibition ont été calculés, puis utilisés pour tracer les courbes (**Figure 11**) illustrant l'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait acétates d'éthyle de *C. atlantica*.

Le paramètre IC_{50} est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). Les résultats ont été présentés par la moyenne de deux essais.

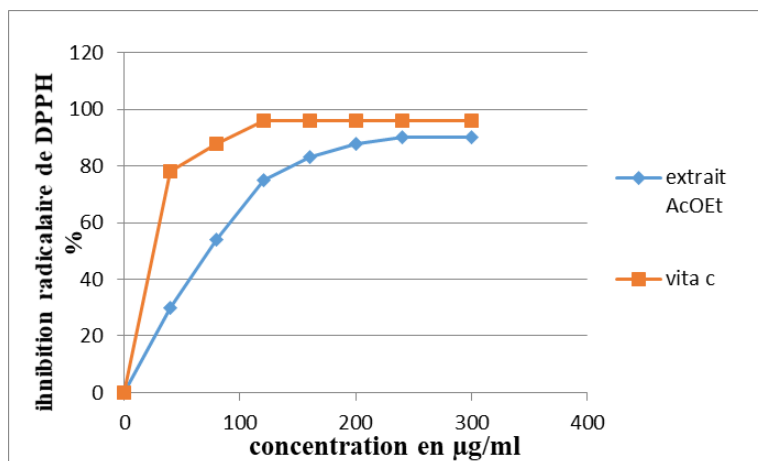


Figure 11 : l'activité antiradicalaire de l'extrait AcOEt de *C. atlantica* et l'acide ascorbique.

Nous avons déterminé la IC_{50} de l'extrait et comparer son activité avec la molécule de référence, l'acide ascorbique (Vitamine c).

Les valeurs des IC_{50} exprimées en $\mu\text{g/ml}$ calculées graphiquement sont représentées dans le tableau :

Tableau N° 5 : Les IC_{50} de l'extrait et standard.

Extrait	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
AcOET	95,33
Vitamine C	2,13

Selon les résultats obtenus, on remarque que la vitamine C atteint un plateau d'inhibition maximal avec des faibles concentrations dont la IC_{50} est de l'ordre de **2,13 $\mu\text{g/mL}$** , ce qui confirme sa capacité à neutraliser les radicaux libres à très faible dose. Alors que l'extrait AcOEt nécessite des concentrations bien plus élevées pour atteindre une inhibition comparable. La IC_{50} est de l'ordre de **95,33 $\mu\text{g/mL}$** .

L'étude effectuée par [87]**Ameggouz et al. (2024)** reporte une activité antioxydante plus importante pour l'extrait acétate d'éthyle de *C.atlantica* issu du Maroc dont la $IC_{50}=45,60\pm0,01\mu\text{g/mL}$.

Les résultats obtenus par **Benmerache et al. (2024)** [41] et [88] **Belkacem et al. 2021** ont révélé le meilleur pouvoir antioxydant de l'extrait acétate d'éthyle de *C.atlantica* issu de Khenchela (Algérie) avec une IC_{50} de $10,85 \pm 1,40$ et $6,16 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

Cette différence pourrait s'expliquer par la différence d'origine botanique, de méthode d'extraction, ou de conditions expérimentales (solvant, temps d'extraction, température).

4.L'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait acétates d'éthyle des aiguilles de l'espèce *C.atlantica* a été évaluée par la méthode de diffusion de disque en milieu gélosés solide MH. La lecture des résultats sur boîte se fait grâce à l'observation des halos d'inhibition autour des disques. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux ci-dessous:

Tableau N° 6 : Zone d'inhibition (mm) des souches bactériennes avec l'extrait AcOEt .

Souches bactériennes		Zones d'inhibition (mm)				
		SM 400 mg	C1 200 mg	C2 100 mg	Test	
<i>S. aureus</i>	Gram+	17,33	15	14	20	VA-30
<i>E. cloacae</i>	Gram-	9	8	-	-	CZ--30
<i>P.aeruginosa</i> (ATCC)	Gram-	14,47	10,34	9,07	-	DMSO
<i>B. subtullis</i> (ATCC)	Gram+	15,77	12	10,71	-	DMSO
<i>E.coli</i> (ATCC)	Gram-	11	11	-	-	DMSO

Non sensible (-) : $d < 8 \text{ mm}$. **Sensible :** d entre 8 à 14 mm .

Très sensible : d entre 15 à 19 mm . **Extrêmement sensible :** $d > 20 \text{ mm}$.

Les testes effectués sur *S. aureus* et *E.cloacae* ont été réalisés en triplicata, avec différentes concentrations de l'extrait et des antibiotiques de références : Céphazoline pour *E.cloacae* et Vancomycine pour *S. aureus*. Les résultats ont été présentés par la moyenne des 3 essais.

*E. cloacae**S. aureus**P. aeruginosa**B. subtilis**E. coli***Figure 12 :**Zone d'inhibition des souches bactériennes

Les résultats ont révélé que les bactéries Gram+ , étaient plus sensibles à cet extrait que les Gram -avec des zones d'inhibition allant de 15 mm à 18 mm pour la concentration mère (400mg/ml), dont *S. aureus* est la plus sensible dans différents concentrations.

Enterobacter cloacae, est la plus résistante des souches testées, les zones d'inhibitions sont très faibles (8 mm) ou nulles, il est observé aussi qu'il y a aucune efficacité de l'antibiotique qui s'explique par la barrière externe supplémentaire des bactéries Gram-, qui limite la pénétration des composés actifs de l'extrait.

Les résultats révèlent une activité antibactérienne notable des trois souches testées : *P.aeruginosa*, *B. subtilis* et *E. coli*. Les zones d'inhibition diminuent proportionnellement avec la concentration de l'extrait.

- Pour *P.aeruginosa*, on a observée à la concentration SM une sensibilité élevé (14,47 mm), suivie de C1 (10,34 mm) et C2 (9,07 mm). ce qui suggère une activité dose-dépendante.
- *B. subtilis*, une bactérie à Gram +, a montré la plus large zone d'inhibition globale avec 15,77 mm à la concentration 400mg/ml, et continue de reste sensible même pour les autres concentration C₂, C₁ pour une zone d'inhibition varie entre 10,17 et 12mm.
- Quant à *E.coli*, les résultats montrent une inhibition modérée avec une ZI constante de 11 mm pour SM, identique à celle de C1, mais une résistance pour C2, ce qui pourrait indiquer une limite de l'activité à des concentrations plus faibles.

En confrontant nos résultats à ceux rapportés dans la littérature, il apparaît que l'extrait d'acétate d'éthyle présente une activité inhibitrice inférieure mais reste sensible contre les différentes souches bactériennes [41] .

La résistance des souches aux extraits peut être due à la différence de structure de paroi cellulaire entre les bactéries Gram (+) et Gram (-).

Les bactéries Gram (+) tel que :*Staphylococcus aureus* et *bacillus subtilis* sont généralement des souches qui possède une hypersensibilité s'explique par la paroi qui est dépourvue de membrane externe et qui semble être sensible aux changements externes, tels que les extraits naturels [89].

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail s'inscrit dans la valorisation de la flore algérienne et notamment les plantes aromatiques riches en composés bioactifs.

L'investigation phytochimique des parties aériennes de l'espèce "*Cedrus atlantica* mène aux tests préliminaires du screening phytochimique, le dosage des polyphénols et l'évaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne de l'extrait acétates d'éthyle issus des aiguilles.

En outre, afin d'obtenir un extrait enrichi en métabolites d'intérêt, nous avons opté une extraction par macération, suivi par une extraction liquide-liquide en utilisant différents solvants de polarité croissantes (l'éther de pétrole, CHCl_3 , AcOEt et *n*-butanol).

Les résultats de screening phytochimique ont mis en évidence la présence de flavonoïdes, tanins, phénols et saponines, les protéines sont moyennement présent dans cet extrait. Cependant, les quinones et les terpenoides ont été absents.

La teneur en polyphénols en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle que l'extrait acétate d'éthyle montre une teneur moyenne de : **123,7± 8,64mg EAG/g**.

L'étude de l'activité antioxydante selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que l'extrait AcOEt possède une activité antioxydante importante **IC₅₀ = 95.33 µg/ml**. Cette activité reste néanmoins nettement inférieure à celle de la Vitamie C.

L'activité antibactérienne a été évaluée sur deux souches bactériennes Gram+ et trois souches Gram- par la méthode des disques. Les résultats montrent que les bactéries Gram positives :

B. subtilis et ***S. aureus*** sont les plus sensibles vis à vis l'extrait AcOEt par contre les souches gram négatifs sont plus résistantes mais restent efficace.

En perspective, ces résultats ne constituent qu'une petite partie dans le domaine de la recherche des antioxydants et des antibactériens naturels. Il est souhaitable de mener une étude plus approfondie pour isoler et caractériser les principes actifs responsables de ces propriétés pharmacologiques, et d'évaluer d'autres activités biologiques *in vitro* et *in vivo* de chacun de ces composés pris séparément.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] Christine B., Maria-Eleni, Grafakou E-M Tomou, Hélène S., 2021. Phytochimie et utilisations traditionnelles fondées sur des données probantes du genre *Achillea* L. Vol .89, N°4, p : 2-7.
- [2] Maurice .N. 1997. De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle, (Ed) Lavoisier, Paris, 12-14.
- [3] Bakchiche .B, Gherib. A, Aazza. S, Gago .C, Miguel M G ., 2013. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*. V 46, 85- 96.
- [4] Pascal L., 2018. Les Astéracées : description botanique, biologique et étude de plantes médicinales et toxiques. Thèse d'exercice .Université de Limoges. p: 18.
- [5] Ghafouri R . : Strani B , Zair T ., Ghanmi M ., Aafi A, El Omari M. et Bentayeb A, (2014). Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the cedar of *Cedrus atlantica*. *Mediterranean journal of chemistry* . 3(5).1027-1036.
- [6] Simpson, M. G. (2019). *Plant systematics*. Academic press.
- [7] Quezel, P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed. C.N.R.S., Paris, 860.
- [8] Ran J-H, Shen T-T, Wu H, Gong X, Wang X-Q. Phylogeny and evolutionary history of Pinaceae updated by transcriptomic analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. (2018);129:106-116.
- [9] Krutovsky KV, Troggio M, Brown GR, Jermstad KD, Neale DB. Comparative Mapping in the Pinaceae. *Genetics*. (2004);168(1):447-461.
- [10] Benabid. A. 1994. Biogéographie phytosociologie et phytodynamique des Cedraies de l'Atlas *Cedrus atlantica* Manetti. *Ann. Rech. For. Maroc*. T (27), 61-76.
- [11] Urgamal, M., Sanchir, C. (2016). An update of the family-Level taxonomy of vascular plants in Mongolia. *Erforschung biologischer Ressourcen der Mongolei*, 13, 75-81.
- [12] Ran, J. H., Shen, T. T., Wu, H., Gong, X., Wang, X. Q. (2018). Phylogeny and evolutionary history of Pinaceae updated by transcriptomic analysis. *Molecular phylogenetics and evolution*, 129, 106-116.
- [13] Renaud Paulian, *Biologie des coléoptères*, Editions Lechevalier, 1988, 260.

- [14] Farjon, Aljos. Pinaceae. Drawings and descriptions of the genera Abies, Cedrus, Pseudolarix, Keteleeria, Nothotsuga, Tsuga, Cathaya, Pseudotsuga, Larix and Picea. Koeltzscientific books, (1990).
- [15] Mathilde M. Larousse Agricole (Le Monde Agricole Au XXI^e Siècle).; (2002).
- [16] Ramos-Dorantes, D. B., Villaseñor, J. L., Ortiz, E., Gernandt, D. S. (2017). Biodiversity, distribution, and conservation status of Pinaceae in Puebla, Mexico. *Revistamexicana de biodiversidad*, 88(1), 215-223.
- [17] Boullard (2001). Plantes médicinales du monde Croyances et réalités. Ed. Stem, 638 p.
- [18] Cheikh - Rouhou S, Hentani B, Besbes S, Blecker C., Deroanne C, Attia H, (2006). Chemical composition and lipid fraction characteristics of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill) seeds cultivated in Tunisia. *Food Sciences and Technology International*. 12, pp. 49.
- [19] BelhadjMostefa, M., Abedini, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Gangloff, Sophie, C., Kabouche, A. & Kabouche, Z. (2016). Abietane diterpenes from the cones of *Abies Numidica* de Lannoy ex Carrière (Pinaceae) and in vitro evaluation of their antimicrobial properties
- [20] Tlili-Ait Kaki, Y. Bennadja, S. Chefrour, A. (2013). Revalorisation d'une essence endémique : le sapin de Numidie (*Abies numidica*). *Flora Mediterranea*, 23, 123-129.
- [21] ARNASON, T., R. J. HEBDA, and T. JOHNS. 1981. Use of plants for food and medicine by Native Peoples of eastern Canada. *Can. J. Bot.* 59: 2189-2325.
- [22] Naudin. C. 1887. Manuel l'Acclimateur ou choix de plantes recommandée pour l'Agriculture, l'Industrie et la Médecine et adaptées aux divers climats de l'Europe et des Pays tropicaux. (Ed), Paris.
- [23] M'hirit. O. 1999 . Le Cèdre de l'atlas à travers le réseau Silva méditerranée « cèdre ». *billon et perspectives. Forêt méditerranéenne*. n°3, 91-99 .
- [24] TOTH J., 2005. Le cèdre de France. Etude approfondie de l'espèce. Paris, L'Harmattan. Biologie. Ecologie, Agronomie. 207 p.
- [25] Toth, J. "Le cèdre de France. Etude approfondie de l'espèce. Paris, L'Harmattan. Biologie. Ecologie." *Agronomie* (2005).
- [26] M'hirit. O. 2006 . Le Cèdre de l'Atlas : Mémoire du temps. (Ed), Mardag, p288.

- [27] Derridj. A. 1990. Etude des populations de *Cedrus atlantica* Manetti en Algérie. Thèse de Doctorat .Université Paul Sabatier, Toulouse.
- [28] Boudy P., 1950a. Economie forestière Nord-Africaine : monographie et traitement des essences forestières. Éd. Larose.T2. Pp : 529-619.
- [29] Ran, J. H., Shen, T. T., Wu, H., Gong, X., Wang, X. Q. (2018). Phylogeny and evolutionary history of Pinaceae updated by transcriptomic analysis. *Molecular phylogenetics and evolution*, 129, 106-116.
- [30] Tabti M-E, tahdjerit O. étude taxonomique de quelques populations de *Salvia verbenacasp.* *Euverbenaca* et *ssp.clandestina* (Lamiaceae) du golfe de Bejaia et de la vallée de la soummam. Published online (2017).
- [31] Quezel, Pierre, and Sébastien Santa. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. No. 581.965 Q8. (1963).
- [32] Toth, J. "Le cèdre. III: Intérêt paysager, cédraies touristiques." *La Forêt privée* (1977) 33.195 (1990) : 50 -57.
- [33] Boudy, P. Economie forestière Nord-africaine-Tome 2: monographies et traitements des essences forestières. E. larose, (1950).
- [34] Boudy, P. "Guide du forestier en Afrique du Nord." (1952).
- [35] Schweingruber FH, Steiger P, Börner A. Bark Anatomy of Trees and Shrubs in the Temperate Northern Hemisphere.; 2019. Accessed August 26, (2020).
- [36] Boudy, P. Economie forestière Nord-africaine-Tome 2: monographies et traitements des essences forestières. E. la rose, (1950).
- [37] M'hirit O, Benzyane M, eds. Le cèdre de l'Atlas: mémoire du temps. Mardaga; (2006). p288 .
- [38] Krouchi, Fazia. Etude de la diversité de l'organisation reproductive et de la structure génétique du cèdre de l'Atlas (*cedrus atlantica manetti*) en peuplement naturel (Tala-Guilef, djurdjura nord-ouest, Algérie). Diss. Universite Mouloud Mammeri, (2010).
- [39] Arbez M, Ferrandes P, Uyar N. Contribution à l'étude de la variabilité géographique des Cèdres. *Ann Sciforest.* (1978);35(4):265-284.
- [40] BENOOUAKLIL Fatouma^{1,2*}, HAMAIDI-CHERGUI Fella ¹,HAMAIDI Mohand Said ¹ and SAIDI Fairouz ¹ CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF

ALGERIAN CEDRUS ATLANTICAM. ESSENTIAL OILS *Revue Agrobiologia* (2017) 7(1): 355-362.

[41] Abbes Benmerache, Ahmed Kabouche,^{1,2} Zahia Kabouche,^{1,*} Mehmet Ozturk,^{3,*} Cansel Çakir,³ Mustafa Abdullah Yilmaz,⁴ and Abdulsalam Erta⁴. PHENOLIC COMPOUNDS, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF CEDRUS ATLANTICA STEM BARKS, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, Vol. 58, No. 6, 2024.

[42] Martins, D. F., Emer, A. A., Batisti, A. P., Donatello, N., Carlesso, M. G., Mazzardo Martins, L., dos Santos, A. R. S. (2015). Inhalation of *Cedrus atlantica* essential oil alleviates pain behavior through activation of descending pain modulation pathways in a mouse model of postoperative pain. *Journal of ethnopharmacology*, 175, 30-38.

[43] Maya, B. M., Abedini, A., Gangloff, S. C., Kabouche, A., Kabouche, Z., Voutquenne-Nazabadioko, L. (2017). A new δ -tocotrienolic acid derivative and other constituents from the cones of *Cedrus atlantica* and their in vitro antimicrobial activity. *Phytochemistry letters*, 20, 252-258.

[44] Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, S. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC complementary and alternative medicine*, 6(1), 1-8.

[45] BARDEAU F., «Huiles essentielles», Edition, LANOR, Paris, (2009), 315P.

[46] Bouazza. K. 2019. La Biodiversité végétale et le dépérissement du *Cédrus atlantica* dans le parc national de Theniet El Had (W. Tissemsilt). These Doctorant. Université djillaliliabes de sidi bel abbes.

[47] Lutge U ; Kluge M, Bauer G. 2002. Botanique 3eme Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris. p.211.

[48] Newman D.J., Cragg G.M. 2012. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75) : 311-335.

[49] Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., Gontier E. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Review Plant Science* 161 : 839–851.

[50] Macheix J., Fleuriet A., Jay C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires. *Collection Biologie*, pp.1-11.

- [51] Houria BECHLEM , Feryal BENAYACHE 2 , Djamila BENOUCHE 1 , Amira LABED
DNA intercalators alkaloids as Potential candidates to fight COVID-19 disease. *J Res Pharm.* 2022;
26(5): 1102-1111.
- [52] Nabors. M. 2008. *Biologie végétale, Structure, fonctionnement, Ecologie et Biotechnologie.*
(Ed), Paris, p159 .
- [53] Fontanay S. 2012. *Complexation de triterpènes penta cycliques par des cyclo dextrines*
Caractérisation physicochimique et activités biologiques. Université de Lorraine, France. 287p.
- [54] Bruneton. 1999 . *Champignons basidiomycetes lignivores.* Thèse Doctorant. Université
Mohammed.
- [55] Protova. J, Lasousky. J, Vicar. J., 2003. Metal-chelating properties. Electrochemical behaviour,
scavenging and cytoprotective activities of six naturel phenolics .
- [56] Tapiero . H, Tew . K D , Nguyen . Ba G, Mathe . G., 2002. Poly phénol : Do they play a role in
prevention of human pathologies ? *Biomed Pharmacother .* V 56 , 200-207 .
- [57] Marouf A and Reynaud J. 2007. *La botanique d'A à Z : 1662 définitions.* Dunod, Paris. 352p
.
- [58] Collin S and Crouzet J. 2011. *Polyphénols et procédés.* Lavoisier, Paris. 336p.
- [59] Bruneton J. (2009). *Pharmacognosie – Phytochimie, Plantes médicinales,* Tec & Doc,
Médicales internationales (Eds.), 4e édition.
- [60] Harrar, A. (2012). *Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus*
Le Diplôme de Magister Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbas- Sétif.
8-31.
- [61] Etude Rwandaises. (1977). *Médecine traditionnelle et pharmacopée rwandaise,* Butare,
UNR, 19 pages.
- [62] Defraigne. J O, Pincemail. J., 2008. Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Revu,*
63 , 10-19.
- [63] Sanchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging
Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International,* 8(3), 121–
137.
- [64] Ferdjioui. S. 2014 . *Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanoliques et de*
l'huile essentielle de la plante Mentharotundifolia . Mémoire. Université ferhat Abbas-Setif

- [65]Alejandro Carazo 1,* , Kateřina Macáková 2 , Kateřina Matoušová 3 , Lenka Kujovská Krčmová 3,4 ,Michele Protti 5 and Přemysl Mladěnka. Nutrients . 2021. Vitamin A Update: Forms, Sources, Kinetics, Detection, Function, Deficiency, Therapeutic Use and Toxicity.13(5), 1703.
- [66] Wolinsky I. (1998). Nutrition in Exercise and Sport. 3th edition. New York: CRCPress .
- [67] Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., Bitto, A.(2017).OxidativeMedicine and Cellular .
- [68] Hudson JF., (1990). Food antioxidants. Elsevier Applied Science, London.
- [69]Preiser, J. C. (2012). Oxidative stress. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 36(2), 147-154.
- [70] Goudable, J. Favier, A. 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme 11,115-120.
- [71] Manisha, H. W., Rajak, R., &Jat, D. (2017). Oxidative stress and antioxidants: an overview. International Journal of Advanced Research and Review, 2(9), 110-9.
- [72] Bensakhria, A. (2018). Stress oxydatif .Chapitre IX. TOXICOLOGIE GÉNÉRALE .
- [73] Kahlouche-Riachi, F. (2014) evaluation chimique et activiteantibacterienne de quelques plantes médicinales d'Algerie.these de doctorat, Université Constantine1 .
- [74] Prescott, Harley, J.P., Klein, D.N. Microbiology. 4th Edition, The mcgraw- Hill Companies, Inc., New York.
- [75]YamadaZ ,Ohta K , TAKEUCHI S , SUZUKI K , and MORI T, Preparation and properties of antibacterial clay interlayer compound. KagakuRonbunshu. 17, 29-34,1991.
- [76] Federighi. M. 2005 .Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments. (2ème Ed).
- [77] Patrick, J., Haines, B. (1988). Training and transfer of fault finding skill.Ergonomics, 31, pp 193-210. Paris .
- [78] Le Minor, L., Véron, M, 1989. Bactériologie médicale. Paris : Flammarison Médecine science. 393, 432-434 p.
- [79] Jerome, J.P., James, S., et Stephen, L. 2004. Microbiologie. Ed Dunod; 483P. Kellal.C et Lacete.D.2018. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

d'Origanumcompactum et Cedrusatlantica : Application pour la conservation des fruits de pomme. Mémoire De Fin D'études. Université Mouloud Mammeri De Tizi Ouzou .

[80] Danchin. A., Glaser.PH. Kunst.F., Moszer.I et Rapport.G.1988. Bacillus Subtilisdévoile ses gènes. Page 1.

[81] Shahid-Ud-Duaula AFM, Anwarul-Basher M. 2009. Phytochemical screening, plant growth inhibition, and antimicrobial activity studies of Xylocarpus granatum Malaysian. Journal of Pharmaceutical Sciences 7(1): 9-21.

[82] Adegoke AA, Iberi PA, Akinpelu DA, Aiyegoro OA, Mboto CI. 2010. Studies on phytochemical screening and antimicrobial potentials of Phyllanthus amarus against multiple antibiotic resistant bacteria. International Journal of Applied Research in Natural Products3(3): 6-12.

[83] Boxi M, Rajesh Y, Raja Kumar V, Praveen B, Mangamma K. 2010. Extraction, phytochemical screening and invitro evaluation of antioxidant properties of Commicarpuschinesis (aqueous leaf extract). International Journal of pharma and bio sciences 1: 537-547.

[84] Ramdan, MF. (2010). Rapid antiradical method for screnning deep fried oils.journalofconsumer protection and food safety.5:47-50.

[85] Benguelil I., Aouifourmerie M., 2017. Etude phytochimique et évaluations et Sambucusnigra L, Université Les Frères Mentouri Constantine 1, p : 50. des activités antibactérienne et antifongique des deux espèces : Achillea millefolium L.

[86] Bougiuerra O., Dahmani N., 2022. Etude phytochimique et Activitébiologique de plante Santolinachamaecyparissus, Université Mohamed Boudiaf - Msila, p : 27.

[87] Mouna Ameggouz^{1,2*}, Soufiane Drioua¹, Otman El-Guourrami¹, Hanane Azalmad¹, Mohamed Ouajdi², Ahmed Zahidi³, Anass Doukkali¹, Badr Satani², Hanane Benzeid¹
Phytochemical Analysis and Evaluation of the Antioxidant Activity of Cedrusatlantica (Endl.) G. Manetti ex Carrière Stem Extracts. March 2024; 8(3):6741-6750.

[88] Nassim Belkacem, BachraKhetal, Mohammad Hudaib, Yasser Bustanji, Bashaer Abu-Irmaileh, Chiraz Soumia M. Amrine.

Antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activities of Cedrusatlantica organic extracts and essential oil. European Journal of Integrative Medicine 42 (2021):101292.

- [89] Balentine, C. W., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., Duong, D. Q., Pohlman, F. W. (2006). The preand post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73: 413-421.

Résumé

Le présent travail concerne l'étude phytochimique et biologique d'une plante aromatique appartenant à la famille des Pinaceae : *Cedrus atlantica* qui a été récoltée du parc national de Chélia (Batna).

La partie aérienne (aiguilles) a été soumise à une macération dans l'éthanol/eau (8 :2) suivi par une extraction par des solvants de différentes polarités afin d'extraire les métabolites secondaires.

Les résultats obtenus de screening phytochimique de l'extrait AcOEt indiquent la présence des principaux métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les phénols, les tanins et les saponines. Cependant, les terpénoïdes et les quinones sont absents.

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait AcOEt a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, $(123,7 \pm 8,64)$ mg EAG/g.

Les résultats obtenus révèlent une activité antibactérienne de l'extrait AcOEt contre les bactéries à Gram+, et une activité antimicrobienne notable des deux souches de Gram - : *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. Et une forte résistance pour la souche *Enterobacter*.

Le test *in vitro* de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH a montré que le pouvoir antioxydant est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait Acétate d'éthyle avec une $IC_{50} = 95.33 \mu\text{g/ml}$

Mots clés : *C. atlantica*, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

This work concerns the phytochemical and biological study of an aromatic plant belonging to the Pinaceae family: *Cedrus atlantica*, harvested from Chélia National Park (Batna). The aerial part (needles) was macerated in ethanol/water (8:2) followed by extraction with solvents of different polarities to extract secondary metabolites. The results obtained from phytochemical screening of the AcOEt extract indicate the presence of the main secondary metabolites such as flavonoids, phenols, tannins, and saponins; however, terpenoids and quinones are absent. The total polyphenol content of the AcOEt extract was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, (123.7±8.64) mg EAG/g. The results obtained reveal the antibacterial activity of the EtOAc extract against Gram-positive bacteria, and significant antimicrobial activity against two Gram-negative strains: *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. It also demonstrates strong resistance against the *Enterobacter* strain. *In vitro* testing of antioxidant activity using the DPPH method showed that antioxidant power was proportional to the increase in the concentration of the ethyl acetate extract, with an IC₅₀ of 95.33 µg/ml.

Keywords: *C. atlantica*, antioxidant activity, antibacterial activity.

الملخص

يتناول هذا العمل الدراسة الفيتوكيميائية والبيولوجية لنبات عطري ينتمي إلى فصيلة الصنوبريات (Pinaceae)، وهو *Cedrus atlantica*، الذي تم جمعه من الحظيرة الوطنية شلية (ولاية باتنة). تمت معالجة الجزء الهوائي من النبات (الإبر) بعملية نقع في خليط من الإيثانول/الماء بنسبة (8:2)، تلتها عملية استخلاص باستخدام مذيبات ذات قطبية مختلفة بهدف استخراج المركبات الثانوية. أظهرت نتائج التحري الفيتوكيميائي لمستخلص اسيتات الإيثيل (AcOEt) وجود المركبات الثانوية الرئيسية مثل الفلافونويدات، والفينولات، والتانينات، والصابونينات؛ بينما غابت كل من التربينويدات والكينونات.

تم تحديد المحتوى الكلي من البوليفينولات في مستخلص اسيتات الإيثيل باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu، حيث بلغ (8.64 ± 123.7) ملغ مكافئ حمض الغاليك لكل غرام من المستخلص. (mg EAG/g)

كشفت النتائج عن نشاط مضاد للبكتيريا لمستخلص خلاص الإيثيل ضد البكتيريا موجبة الغرام، بالإضافة إلى نشاط مضاد ميكروبي ملحوظ ضد سلالتين سالبتَي الغرام *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli*. كما أظهر المستخلص مقاومة قوية من طرف سلالة *Enterobacter*.

أما بالنسبة للاختبار *in vitro* للنشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة DPPH، فقد أظهر أن الفعالية المضادة للأكسدة تزداد طرديًا مع زيادة تركيز مستخلص اسيتات الإيثيل، حيث بلغت قيمة IC_{50} حوالي 95.33 ميكروغرام/مل.

الكلمات المفتاحية: *C. atlantica*، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.