

Université Mohamed Khider de Biskra

Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie Filière : Sciences biologiques Spécialité : Biochimie appliquée

Réf.:....

Présenté et soutenu par : Noussaiba ZAGHEZ et Rebiha HENANOU

Le: mercredi 10 juillet 2019

Étude de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos Scoparius «* Guezzah »

Mme. Soulef KRIKER MAA Université de Biskra Président

Mme. Lamia BOUDJEDJOU MAA Université de Biskra Rapporteur

Mme. Asma SAIDI MAA Université de Biskra Examinateur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciement

Notre remerciement les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :

A ALLAH le tout puissant qui nous a permis d'être ce que nous sommes aujourd'hui. Seigneur, veuillez toujours diriger notre pas.

Nous tenons à adresser notre très sincères remerciements à Notre promoteur de mémoire madame BOUDJEDJOU Lamia qui nous a guidé dans notre travail, Merci pour nous avoir accordé votre temps, Merci d'avoir été très patient avec nous, Merci pour d'avoir mis votre expérience à notre profit.

Sans oublier de remercier vivement l'équipe de laboratoire de notre Département, l'équipe de bibliothèque de biologie, les travailleurs de l'administration et les agents de la faculté.

Mes remerciements vont également à tous notre enseignant du département de biologie, pour les informations et les aides au cours des années de mes études.

À tous les étudiants de master de la promotion 2019.

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes chers parents : Wahiba et Lekhdari,

Qui m'avez dirigé et suivi pondent toute mes années d'étude et leurs sacrifices de tous les instants, sa patience sans limite

Et l'éducation qu'elle m'a donnée, je luis dit merci mille fois.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à :

Ma tante Souad, que Dieu ait pitié d'elle

Mon oncle Abd Elrrezak

mes frères: Khaleb Eddine Ali, Nouh et Mohamed Elcherif

 $\mathcal{E}t$

Mes sœurs: Reguia, katre Elnada, Assala et Wided

Je vous remercie pour votre soutien moral, vous patience et vos

dévouements

À ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts. Et enfin je dédie ce travaille à Tous mes amis sans exception.

Dédicace

Avec mes sentiments de gratitudes les plus profonds, Je dédie ce travail :

A ma chère mère, Khalissa

A mon cher père, Lotfi

Qui n'ont jamais cessé, de me soutenir

Et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes frères, Khalil et Ahmed el-mahdi

A mes sœurs: Ibtihel et Batoul

Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A ma chère grande mère,

Qui je souhaite une bonne santé

A tous mes amies et mes collègues d'étude.

 \mathcal{A} tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

Noussaiba

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste des tableaux	I
Liste des figures	. II
Liste des abréviations	IV
Introduction	1
Chapitre I : Polyphénols	3
I-1 définition	3
I-2 Principales classes des polyphénols	3
I-2-1 Acides phénoliques simples	3
I-2-1-1 Acides hydroxycinnamiques	3
I-2-1-2 Acides hydroxybenzoïques	3
I-2-2 Flavonoïdes C6-C3-C6	3
Figure 1 : Squelette de base des flavonoïdes	4
I-2-3 Tannins	4
Chapitre II : Activités biologiques des polyphénols	5
II-1 Activité antioxydante	5
II-1-1 Radicaux libres	5
II-1-2 Production de radicaux libres	5
II-1-2-1 Production intracellulaire	5
II-1-2-2 Production extracellulaire	6
II-1-3 Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant	6
II-1-4 Antioxydants	6
II-1-4-1 Antioxydants primaires	6
II-1-4-2 Antioxydants secondaires	7
II-1-5 Polyphénols naturels comme antioxydants	7
II-2 Activité antibactérienne	7
II-2-1 Principales substances antibactérienne	. 8

II-2-1-1 Antibiotiques	8
II-2-1-2 Composés phénoliques	8
II-2-1-3 Résistance bactériennes aux antibiotiques	8
a-Résistance naturelle	8
b-Résistance acquise	9
Chapitre III : Aspect botanique de l'espèce Pituranthos Scoparius	10
III-1 Famille des Apiaceae	10
III-2 Genre Pituranthos	10
III-3 Espèce Pithurantos Scoparius	10
III-3-1 Description botanique de la plane	10
Figure 2: Pituranthos Scoparius dans son milieu naturel.	11
III-3-2 Classification botanique	11
III-3-4 Origine et répartition géographique	11
III-3-5 Usage en médecine traditionnelle	12
Chapitre IV : Matériel et méthodes	13
IV-1 Matériel	13
IV-1-1 Matériel végétal	13
Figure 3 : Photo de la partie aérienne sèche de Pituranthos Scoparius	13
IV-1-2 Souches bactériennes	14
IV-1-3 Matériel de laboratoire	14
IV-1-3-1 Réactifs	14
IV-1-3-2 Instruments et Appareillages	14
IV-1-3-3 Antibiotiques	14
IV-2 Méthodes	14
IV-2-1 Préparation des extraits bruts	14
Figure 4 : Protocole de préparation de l'extrait brut	15
IV-2-2 Calcul du rendement	15
IV-2-3 fractionnement de l'extrait brute hydro-éthanolique	16
Figure 5 : Protocole de fractionnement	16
IV-2-4 Rendement de fractionnement	16
IV-2-5 Etude phytochimique	17
IV-2-5-1 Dosage des composés phénoliques	17
IV-2-5-1-a Dosage des polyphénols totaux	17

IV-2-5-1-b Dosage des flavonoïdes	. 17
IV-2-6 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits in <i>vitro</i>	. 18
IV-2-6-1 Test de piégeage du radical libre DPPH	. 18
Figure 6 : Forme libre et réduite du DPPH	. 18
IV-2-6-2 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)	. 19
IV-2-6-3 Capacité antioxydante totale (CAT)	. 20
IV-2-7 Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits	. 20
IV-2-7-1 Repiquage des souches microbiennes	. 20
IV-2-7-2 Préparation de l'inoculum bactérien	. 21
IV-2-7-3 Détermination de l'effet antibactérien (antibiogramme et aromatogramme)	21
IV-2-7-4 Evaluation de l'effet antibactérien de l'association des extraits avec les antibiotiques	. 21
IV-2-8 Analyse statistique	. 22
Chapitre V : Résultats et discussion	. 23
V-1 Rendement des extraits	23
V-1-1 Rendement de l'extrait hydro-éthanolique	. 23
V-1-2 Rendement du fractionnement	. 23
Figure 7 : Les pourcentages (%) des rendements des extraits de Pituranthos Scoparius	. 23
V-2 Dosage des métabolites secondaires	. 24
V-2-1 Dosage des polyphénols totaux	. 24
Figure 8 : Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	. 24
Figure 9 : Teneur en polyphénols des différentes fractions de l'extrait brut	. 25
V-2-2 Dosage des flavonoïdes totaux	. 25
Figure 10 : Courbe étalon de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux	. 26
Figure 11 : La teneur des différentes fractions en flavonoïdes totaux	. 26
V-3 Evaluation de l'activité antioxydante	. 27
V-3-1 Test de piégeage du radical libre DPPH	. 27
Figure 12 : Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique	. 28
Figure 13: Pourcentage d'inhibition du DPPH• par la fraction d'hexane	. 28
Figure 14 : Pourcentage d'inhibition du DPPH• par la fraction la d'acétate d'éthyle	. 29
Figure 15 : Pourcentage d'inhibition du DPPH• par la fraction de butanol	. 29
Figure 16 : Les valeurs des IC50 de l'acide ascorbique et des différents fraction de l'extrait hydro-éthanolique en mg/ml.	. 30
V-3-2 Test du pouvoir réducteur du Fer: FRAP (Ferric reducing antioxydant power).	

Figure 17 : pouvoir réducteur des différents extraits phénolique de <i>Pituranthos Scoparius</i>
Figure 18 : Pouvoir réducteur du Fer de l'acide ascorbique
V-3-3 Méthode de la Capacité antioxydant totale (CAT)
Figure 19 : Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test "CAT"
Figure 20 : La capacité antioxydante totale des extraits de <i>P. scoparius</i>
V-4 Evaluation du potentiel antibactérien
V-4-1 Aromatogramme
Tableau 1 : Activité antibactérienne de la fraction d'hexane de <i>P. Scoparius</i> 34
Figure 21 : Photos illustrant la sensibilité de souche bactérienne <i>P. aeruginosa</i> testée vis- à-vis de l'extrait d'hexane avec différente concentration (E : éthanol, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2, 3 : dilution 1/4).
Tableau 2 : Activité antibactérienne de la fraction d'acétate d'éthyle de P. Scoparius 35
Figure 22 : Photos illustrant la sensibilité de souche bactérienne <i>E.colis</i> testés vis-à-vis l'extrait acétate d'éthyle avec différente concentration (E : éthanol, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2, 3 : dilution 1/4)
Tableau 3 : Activité antibactérienne de la fraction de 1-butanole de <i>P.Scoparius</i> 36
Figure 23 : Photos illustrant la sensibilité de souche bactérienne <i>S. aureus</i> testés vis-à-vis de l'extrait 1-butanol avec différente concentration (E : éthanol, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2, 3 : dilution 1/4)
V-4-2 Antibiogramme
V-4-3 Résultats de la combinaison des Fractions avec les antibiotiques
Tableau 4 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques conventionnels utilisés seuls et en association avec l'extrait d'hexane de <i>P. Scoparius</i> vis-à vis des souches bactériennes.
Figure 24 : Photos illustrant la sensibilité de <i>E. coli</i> testée vis-à-vis des antibiotiques (G : Gentamicine, Am : Amoxicilline, Au : Augmentin) combinés avec l'extrait d'hexane (avec différente concentration, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2, 3 : dilution 1/4)
Tableau 5 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques conventionnels utilisés seuls et en association avec l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>P. Scoparius</i> vis-à vis des souches bactériennes
Figure 25 : Photos illustrant la sensibilité de <i>S. aureus</i> testés vis-à-vis des antibiotiques (G : Gentamicine, Am : Amoxicilline, Au : Augmentin) combinés avec l'extrait d'acétate d'éthyle (avec différente concentration, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2 , 3 : dilution 1/4).
Tableau 6 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques conventionnels utilisés seuls et en association avec l'extrait de 1-butanole de <i>P. Scoparius</i> vis-à vis des souches bactériennes

Figure 26 : Photos illustrant la sensibilité de P. aeruginosa testée vis-à-vis des	
antibiotiques (G : Gentamicine, Am : Amoxicilline, Au : Augmentin) combinés avec	
l'extrait 1-butanole (avec différente concentration, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2 , 3 :	
dilution 1/4)41	
Conclusion)
Références bibliographiques	ļ
Résumés	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Activité antibactérienne de la fraction d'hexane de P. Scoparius. 34
Tableau 2 : Activité antibactérienne de la fraction d'acétate d'éthyle de P. Scoparius 35
Tableau 3 : Activité antibactérienne de la fraction de 1-butanole de P. Scoparius. 36
Tableau 4 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques conventionnels utilisés
seuls et en association avec l'extrait d'hexane de P. Scoparius vis-à vis des souches
bactériennes
Tableau 5 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques conventionnels utilisés
seuls et en association avec l'extrait d'acétate d'éthyle de P. Scoparius vis-à vis des souches
bactériennes
Tableau 6 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques conventionnels utilisés
seuls et en association avec l'extrait de 1-butanole de P. Scoparius vis-à vis des souches
bactériennes

Liste des figures

Figure 1 : Squelette de base des flavonoïdes	4
Figure 2: Pituranthos Scoparius dans son milieu naturel.	11
Figure 3 : Photo de la partie aérienne sèche de Pituranthos Scoparius.	13
Figure 4 : Protocole de préparation de l'extrait brut	15
Figure 5 : Protocole de fractionnement	16
Figure 6 : Forme libre et réduite du DPPH	18
Figure 7 : Les pourcentages (%) des rendements des extraits de Pituranthos Scoparius.	23
Figure 8 : Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	24
Figure 9 : Teneur en polyphénols des différentes fractions de l'extrait brut	25
Figure 10 : Courbe étalon de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux	26
Figure 11 : La teneur des différentes fractions en flavonoïdes totaux.	26
Figure 12: Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique	28
Figure 13: Pourcentage d'inhibition du DPPH• par la fraction d'hexane	28
Figure 14 : Pourcentage d'inhibition du DPPH• par la fraction la d'acétate d'éthyle	29
Figure 15 : Pourcentage d'inhibition du DPPH• par la fraction de butanol	29
Figure 16 : Les valeurs des IC50 de l'acide ascorbique et des différents fraction de l'ex	trait
hydro-éthanolique en mg/ml.	30
Figure 17 : pouvoir réducteur des différents extraits phénolique de Pituranthos Scopari	us31
Figure 18 : Pouvoir réducteur du Fer de l'acide ascorbique.	32
Figure 19 : Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test "CAT"	33
Figure 20 : La capacité antioxydante totale des extraits de P. scoparius	33
Figure 21 : Photos illustrant la sensibilité de souche bactérienne P. aeruginosa testée vi	is-à-
vis de l'extrait d'hexane avec différente concentration (E : éthanol, 1 : extrait pure,	2:
dilution 1/2, 3: dilution 1/4)	35
Figure 22 : Photos illustrant la sensibilité de souche bactérienne <i>E.colis</i> testés vis-à-vis	
l'extrait acétate d'éthyle avec différente concentration (E : éthanol, 1 : extrait pure,	2:
dilution 1/2, 3: dilution 1/4)	36
Figure 23 : Photos illustrant la sensibilité de souche bactérienne S. aureus testés vis-à-v	is de
l'extrait 1-butanol avec différente concentration (E : éthanol, 1 : extrait pure, 2 : dil	ution
1/2, 3 : dilution 1/4).	37
Figure 24 : Photos illustrant la sensibilité de E. coli testée vis-à-vis des antibiotiques (C	j :
Gentamicine, Am : Amoxicilline, Au : Augmentin) combinés avec l'extrait d'hexar	ne
(avec différente concentration, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2, 3 : dilution 1/4)	39
Figure 25 : Photos illustrant la sensibilité de S. aureus testés vis-à-vis des antibiotiques	(G:
Gentamicine, Am : Amoxicilline, Au : Augmentin) combinés avec l'extrait d'acéta	te
d'éthyle (avec différente concentration, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2, 3 : dilution	ı 1/4).
	40
Figure 26 : Photos illustrant la sensibilité de P. aeruginosa testée vis-à-vis des antibioti	iques
(G : Gentamicine, Am : Amoxicilline, Au : Augmentin) combinés avec l'extrait 1-	
butanole (avec différente concentration, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2, 3 : dilution	n 1/4
)	41

Liste des abréviations

- **OH:** groupe hydroxyle.
- **ROO**: radical peroxyle.
- **RO**: radical alkoxyle.
- ROS / ERO: espèces réactives de l'oxygène.
- O2[•]: radical superoxyde.
- **OH**: radical hydroxyle.
- **NO**: monoxyde d'azote.
- ¹O2: oxygène singulet.
- **H**₂**O**₂: peroxyde d'hydrogène.
- **ONOO** : peroxynitrite.
- O_2 : oxygène.
- **SOD**: suproxyde dismutase.
- **H**⁺: proton.
- TCA: acide trichloracétique.
- **DPPH**: 2,2-diphényle-1- picrylhydrazyl.
- **UV**: ultra-violet.
- **Al**⁺³: ions d'aluminium.
- **DPPH-H**: 2,2-diphényle-1- picrylhydrazine.
- IC50: concentration d'inhibition à 50 %.
- **Fe**⁺³: fer ferrique.
- \mathbf{Fe}^{+2} : fer ferreux.
- **GN:** gélose nutritive.
- **UFC**: unité formant colonie.
- **FRAP:** Ferric Reducing Antioxidant Potential.
- **CAT**: Capacité antioxydant totale.

- **PR**: pouvoire réducteur.
- **R**² : coefficient de corrélation.
- **Abs**: absorbance.
- **EAG**: équivalent acide gallique.
- **ES**: extrait sec.
- **EQ**: équivalent qeurcitine.
- **EAA**: équivalent acide ascorbique.
- E. coli: Escherichia Coli ATCC 25922.
- S. aureus: Staphylococcus Aureus ATCC 25923.
- P. aeruginosa: Pseudomonas Aeruginosa ATCC 27353.
- **GEN**: Gentamicine.
- **AMX**: Amoxicilline.
- **AUG**: Augmentin.
- **Abs**: antibiotiques.
- **EH**: extrait hexane.
- **EH/GEN**: extrait hexane combinée avec gentamicine.
- **EH/AMX**: extrait hexane combinée avec amoxicilline.
- EH/AUG : extrait hexane combinée avec Augmentin.
- **EA**: extrait acétate d'éthyle.
- EA/GEN: extrait acétate d'éthyle combinée avec gentamicine.
- **EA/AMX**: extrait acétate d'éthyle combinée avec amoxicilline.
- **EA/AUG**: extrait acétate d'éthyle combinée avec Augmentin.
- **EB**: extrait 1-butanole.
- **EB/GEN**: extrait 1-butanole combinée avec Augmentin.
- **EB/AMX**: extrait 1-butanole combinée avec Augmentin.
- **EB/AUG**: extrait 1-butanole combinée avec Augmentin.

Introduction

Les remèdes naturels, et surtout les plantes médicinales, ont été pendant longtemps le principal, voir l'unique recours traditionnel pour soigner diverses pathologies, et comme matière première pour la médecine moderne (Ould El Hadj et *al.*, 2003). Les plantes médicinales constituent un groupe numériquement vaste de plantes économiquement importantes. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 4000 sont des plantes médicinales, ce qui constitue 60 % de la médecine traditionnelle en Afrique (OMS, 2003).

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits chimiques. Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence et une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires. Ces derniers ont pour fonction notamment la protection contre les microorganismes, les animaux et même d'autres plantes. Ces métabolites jouent donc un rôle primordial dans la lutte contre diverses maladies et herbivores (Cox et Balick, 1994 ; Junio et al., 2011).

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse (Boudjouref, 2011).

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe, la hamada et les oasis sahariennes. Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales sont utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique et phytothérapie (Duraffourd et coll, 1997).

Les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques dont l'activité antioxydante et antimicrobienne (Ghazghazi et *al.*, 2013).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés dans la présente étude à extraire et doser des polyphénols de l'espèce *Pituranthos Scoparius* d'une part, et l'étude de leurs propriétés antioxydantes et antibactériennes d'autre part.

Le développement de cette étude s'échelonnera sur trois chapitres : le premier englobe des généralités exhaustives sur les composés phénoliques et leur classification, activité antioxydants et antibactérienne et l'étude botanique de l'espèce *Pituranthos Scoparius*. Le deuxième chapitre illustre le matériel et les méthodes utilisés dans les différentes manipulations : l'extraction et dosage des composés phénoliques, l'évaluation de l'activité antioxydante par les trois tests ; FRAP, DPPH et CAT ainsi que l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits seuls et combinés avec les antibiotiques.

Le troisième chapitre rassemble les résultats obtenus et leurs discussions et Enfin la conclusion.

Partie I Synthèse bibliographique

Chapitre I Polyphénols

Chapitre 1 Polyphénols

Chapitre I : Polyphénols

I-1 définition

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (Nathalie et Jean-Paul, 2006).

I-2 Principales classes des polyphénols

I-2-1 Acides phénoliques simples

I-2-1-1 Acides hydroxycinnamiques

Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C6-C3). Existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent une réactivité chimique importante de ces molécules (Harrar, 2012).

I-2-1-2 Acides hydroxybenzoïques

Les acides phénols en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. (Bruneton, 1993). Les principaux acides hydroxybenzoïques retrouvés dans les végétaux sont les acides phydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, gallique et syringique (Chanforan, 2010).

I-2-2 Flavonoïdes C6-C3-C6

Ce sont des pigments responsables de coloration jaune, orange et rouge de différents organes de végétaux. Ils sont rencontrés dans les fruits, légumes, les boissons (vin rouge, thé, café) et plusieurs plantes médicinales (Ghedira, 2005). Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (C6-C3-C6), ils contiennent quinze atomes de carbone dans leur structure de base : deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones (figure 01) liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C. (Tapas et *al.*, 2008).

Chapitre 1 Polyphénols

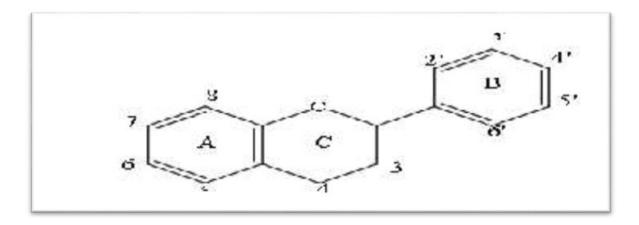


Figure 1 : Squelette de base des flavonoïdes (Macheix et al., 2006).

En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; isoflavanes ; isoflavanoles ; tavones ; tavones ; tavones (Edenharder et Grünhage, 2003).

I-2-3 Tannins

Classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire compris entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Haslam, 1996).

On distingue deux grands groupes de tanins, différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Macheix et *al.*, 2006).

Chapitre II Activités biologiques des polyphénols

Chapitre II : Activités biologiques des polyphénols

II-1 Activité antioxydante

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (Guinebert et *al.*, 2005).

II-1-1 Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne (Dacosta, 2003).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxyle ROO*, radical alkoxyle RO*), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Novelli, 1997).

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ROS). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde O_2^{\bullet} , radical hydroxyle OH $^{\bullet}$, monoxyde d'azote NO $^{\bullet}$, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet $^{1}O_2$, peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , peroxynitrite ONOO (Favier, 2003).

II-1-2 Production de radicaux libres

II-1-2-1 Production intracellulaire

La production des ERO dans les cellules mammifères découle de plusieurs sources possibles mais est essentiellement d'origine enzymatique. Il s'agit principalement de la NAD(P)H oxydase membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire (Mazat et Ransac, 2010).

II-1-2-2 Production extracellulaire

L'environnement et le mode de vie sont également responsables de la création et de l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme. Les facteurs environnementaux incluant des agents cancérogènes non-génotoxiques peuvent directement, ou indirectement, être impliqués dans la génération de radicaux libres (xénobiotiques, activation des leucocytes...). Les rayonnements UV induisent la synthèse de $O_2^{\bullet -}$, OH^{\bullet} , 1O_2 et d' H_2O_2 (John, 2014).

L'oxyde d'azote et le dioxyde d'azote présents dans le mode de vie (tabagisme, radiations ionisantes, champs électriques, polluants industriels...), ainsi qu'une alimentation « chimique » (raffinée, riche en graisses saturées et en sucre, consommation d'alcool...), sont autant d'éléments favorisant la genèse de radicaux libres (John, 2014).

II-1-3 Balance Oxydants / Antioxydants et stress oxydant

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (Tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (Sohal et *al.*, 2002).

Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (Kohen et Nyska, 2002).

II-1-4 Antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS (Favier, 2003).

II-1-4-1 Antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Favier, 2006). Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :

$$2 O_{2} - + 2 H^{+} \xrightarrow{\text{superoxyde dismutase}} H_{2}O_{2} + O_{2}$$

$$2 H_{2}O_{2} \xrightarrow{\text{catalase}} 2 H_{2}O + O_{2}$$

$$H_{2}O_{2} + 2 GSH \xrightarrow{\text{glutathione peroxydase}} 2 H_{2}O + GSSG$$

De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (Dacosta, 2003).

II-1-4-2 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 (Dacosta, 2003). Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in *vivo* ont était proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β-carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques…etc. (Kohen et Nyska, 2002).

II-1-5 Polyphénols naturels comme antioxydants

Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants (Apak et *al.*, 2007) qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène. Leurs structures leurs confèrent une activité antioxydante aussi importante. Les groupes hydroxyle des polyphénols sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogènes ; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactifs de l'azote, enfin de réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu. Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques est également attribué à leur capacité à chélater les métaux ioniques impliqués dans la production de radicaux libres (Tsao, 2010).

II-2 Activité antibactérienne

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman, 1998).

II-2-1 Principales substances antibactérienne

II-2-1-1 Antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (Bergogne-Berezin et Dellamonica, 1995).

II-2-1-2 Composés phénoliques

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis- à -vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

II-2-1-3 Résistance bactériennes aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème majeur de santé publique dans le monde, avec un impact défavorable sur la mortalité des patients (Cosgrove, 2006). Les causes de l'émergence et de la dissémination de la résistance bactérienne sont multiples ; toutefois, l'utilisation excessive ou inappropriée des antibiotiques est le déterminant essentiel (Harbarth et Samore, 2005).

Les bactéries ont développé, tant sur le plan biochimique que génétique de nombreux mécanismes de résistance. Cette dernière est codée par les micro-organismes au niveau chromosomique ou plasmidique. La plupart des bactéries résistantes aux antimicrobiens, contiennent des gènes de résistance située sur les plasmides R, plutôt que sur des chromosomes (Perry et *al.*, 2014). L'utilisation des antibiotiques à large spectre, pendant de longue période est aussi un facteur de risque pour la propagation des résistances (Yagupsky, 2006). Il existe deux types de résistance bactérienne ; la résistance naturelle et la résistance acquise.

a-Résistance naturelle

La résistance naturelle à un antibiotique est un caractère présent chez toutes les souches de la même espèce (Courvalin et Cuot, 2001). Des particularités structurales de la paroi

cellulaire, empêchant les antibiotiques d'accéder à leurs cibles, ou l'absence de cible sont autant de facteurs qui conditionnent la résistance naturelle. Les bacilles à Gram négatif sont naturellement résistants aux antibiotiques hydrophobes (Normark et Normark, 2002).

b-Résistance acquise

La résistance acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparait au niveau des souches d'une espèce normalement sensibles à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme par des mécanismes d'échanges génétiques. La plupart des résistances acquises sont portées par les plasmides R (Davies, 1994; Walsh, 2003).

Chapitre III aspect botanique de l'espèce *Pituranthos*Scoparius

Chapitre III : Aspect botanique de l'espèce Pituranthos Scoparius

III-1 Famille des Apiaceae

Les Apiaceae (Apiacées) anciennement appelées Ombellifères, comprennent environ 3000 espèces réparties en 469 genres se distribués dans toutes les régions tempérées mais surtout dans l'hémisphère Nord. En Algérie 55 genres regroupant 117 espèces, dont 24 endémiques, sont répertoriés (Quezel et Santa, 1963).

Les Apiaceae sahariennes sont bien différentes les unes des autres et leur détermination n'offre pas de grandes difficultés sauf la distinction entre les espèces du genre *Pituranthos*. Pour toute identification il est très important de cueillir des échantillons portant des fruits mûrs (Ozenda, 1983).

C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Les plantes de la famille des Apiaceae sont essentiellement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles, ou le plus souvent vivaces (Deysson, 1979).

III-2 Genre *Pituranthos*

Le genre *Pituranthos* possède plus de vingt espèces, dont certaines sont spécifiques à l'Afrique du nord (Quezel et Sanata, 1963 ; Kaabeche, 1990) et sont souvent rencontrées dans les régions arides ou désertiques.

Le potentiel floristique algérien de ce genre comporte les espèces suivantes :

- -Pituranthos Scoparius, l'objet de notre travail, espèce abondante dans les Aurès.
- -Pituranthos Chloranthus, espèce particulièrement moins présente.
- -Pituranthos Battandieri (Mair) : endémique au Sahara marocain et l'oranie (Bellakhdar, 1997).

Quezel a décrit le genre *Pituranthos* comme une plante vivace, totalement aphylle, à tige très ramifiées, portant des ombelles à involucre et involucelles polyphylles est des péricarpes ovoïdes à six bandelettes (Quezel et Sanata, 1963).

III-3 Espèce Pithurantos Scoparius

III-3-1 Description botanique de la plane

Pithurantos Scoparius Benth et Hook, appelée en arabe « Guezzah » » est une plante vivace, aphylle ou presque, à tiges souvent très ramifiées. Ses tiges décombantes, longue de 40-80 cm, florifères avec des fleurs blanches à ombelles latérales et pédoncule court (1-3 cm).

Ses fruits sont plus longs que larges, hérissés de poils dressés. C'est une plante à souche ligneuse ramifiée émettant de nombreuses rosettes de feuilles triséquées 1-2 fois. La floraison a lieu de février à octobre. (Quézel et Santa, 1963) (figure 02).



Figure 2: Pituranthos Scoparius dans son milieu naturel.

III-3-2 Classification botanique

D'après Quzel et Santa (1963), Pituranthos scoparius est classé comme suit :

Règne: Plantae (végétal)

Embranchement : Spermaphytes

S/embranchement : Angiosperme

Classe: Magnoliopsida (Eudicote)

Ordre: Apiales

Famille : Apiacées

Genre: Pituranthos

Espèce: scoparius

Nom binomiale: Pituranthos scoparius

III-3-4 Origine et répartition géographique

Pituranthos Scoparius est une espèce endémique qui se trouve dans le nord d'Afrique, donnée pour rare au Sahara Central, elle est fréquente sur le plateau du Tassili des Ajjers et dans le Hoggar (Ozanda, 1991).

III-3-5 Usage en médecine traditionnelle

En médecine traditionnelle les tiges et les feuilles de *Pituranthos scoparius* sont utilisés pour le traitement de la rougeole, l'asthme, l'ictère, les troubles digestifs et les soins post-partum : spasmes et douleurs (Boudjelal et *al.*, 2013). Contre les morsures des vipères et les piqures des scorpions, certains recommandent l'application locale de la poudre des feuilles ; cette dernière en cataplasme soulagerait également les douleurs rhumatismales (Boukef M.K, 1986).

Partie II Expérimental

Chapitre IV Matériel et méthodes

Chapitre IV: Matériel et méthodes

IV-1 Matériel

IV-1-1 Matériel végétal

Le matériel végétal faisant l'objet de la présente étude comprend la partie aérienne (tige, feuilles et fleurs) de *Pituranthos Scoparius* récoltée de la région de T'kout wilaya de Batna. La récolte a été faite au stade de pleine floraison qui correspond au mois d'octobre 2018. L'identification botanique a été effectuée à l'aide de la flore locale (Quezel et Santa, 1963) et par Dr. A. Zeraib, botaniste à la faculté de biologie université de Khenchela.

La plante entière a été séchée à température ambiante et à l'abri de la lumière. Elle est ensuite broyée à l'aide d'un mortier traditionnel pour obtenir une poudre grossière, puis réduite en poudre fine à l'aide d'un moulin (Moulinex).



Figure 3 : Photo de la partie aérienne sèche de Pituranthos Scoparius.

Les particules ainsi obtenues après broyage sont tamisées sur un tamis traditionnel de diamètre de 1 mm pour avoir une poudre fine et homogène. La poudre obtenue est conservée dans un récipient en verre recouvert de papier aluminium, pour éviter la fermentation et la photo-oxydation qui peuvent altérer les substances actives.

IV-1-2 Souches bactériennes

L'activité antibactérienne a été évaluée sur trois souches bactériennes de référence : une bactérie Gram positive, il s'agit de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, et deux autres Gram négative ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27353 et *Escherichia coli* ATCC 25922.

IV-1-3 Matériel de laboratoire

IV-1-3-1 Réactifs

Ethanol, hexane, acétate d'éthyle, 1-butanol, folin ciocalteu, NaCo₃, eau distillée, eau physiologique, AlCl₃, Na₂Hpo₄, KH₂Po₄, K₃Fe(CN)₆, TCA, FeCl₃, acide sulfurique, sodium monobasique, Molybdate d'ammonium tetrahydrate, gélose nutritive, Mueller-Hinton, DPPH (2,2-diphényle-1- picrylhydrazyl).

IV-1-3-2 Instruments et Appareillages

Spectrophotomètre UV-vis, étuve électrique, agitateur magnétique + plaque chauffante, vortex, balance analytique, boites de pétri, pipette pasteur, micropipettes, disques de papier wattman n°3(6 mm de diamètre), les disques d'antibiotiques, pince stérilisée, anse de platine, bec bunsen, tubes à essai, tubes sec, autoclave 120°c, erlen Mayer.

IV-1-3-3 Antibiotiques

- > Amoxicilline.
- > Augmentin.
- > Gentamicine.

IV-2 Méthodes

IV-2-1 Préparation des extraits bruts

Une quantité de 100 g du matériel végétal broyé ont été mises à macérer dans 700 ml du solvant d'extraction (30 % eau, 70 % éthanol). Après 24 heures de macération sous agitation, le mélange a été filtré et évaporé à une température de 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les mêmes étapes ont été répétées avec le résidu pour récupérer le maximum des substances actives, comme il est indiqué dans la figure 4.

Chapitre 4 matériel et méthodes

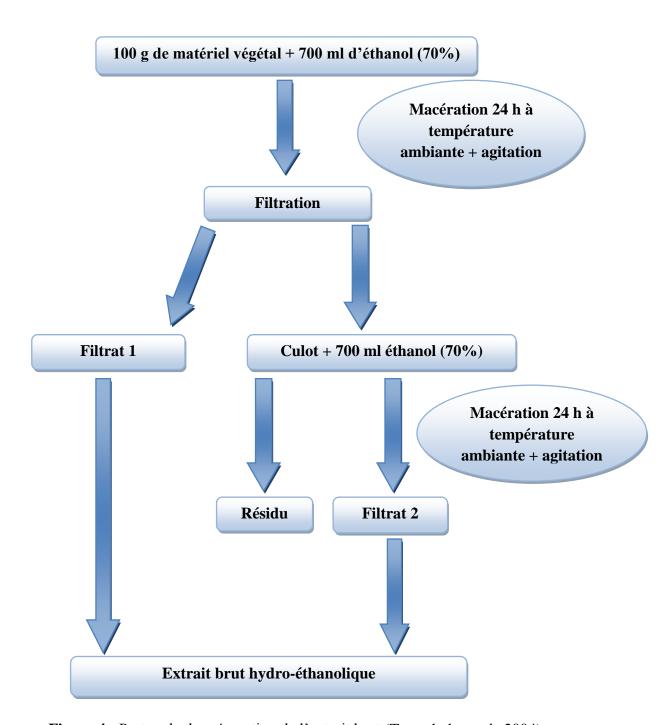


Figure 4 : Protocole de préparation de l'extrait brut (Tereschuk. et *al.*, 2004).

IV-2-2 Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est déterminé par le calcul du rapport entre le poids de l'extrait sec par rapport au poids du matériel végétal utilisé pour l'extraction. Le rendement est exprimé en pourcentage et est calculé par la formule suivante :

Rendement (%) = $(M_0/M_1) \times 100$

M₀: Masse en gramme de l'extrait brut sec.

M₁: Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

IV-2-3 fractionnement de l'extrait brute hydro-éthanolique

L'extrait hydro-éthanolique obtenu par macération 24 heures a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants à polarité croissante : Hexane, acétate d'éthyle et 1-butanol. Les étapes suivies sont schématisées sur la figure 5.

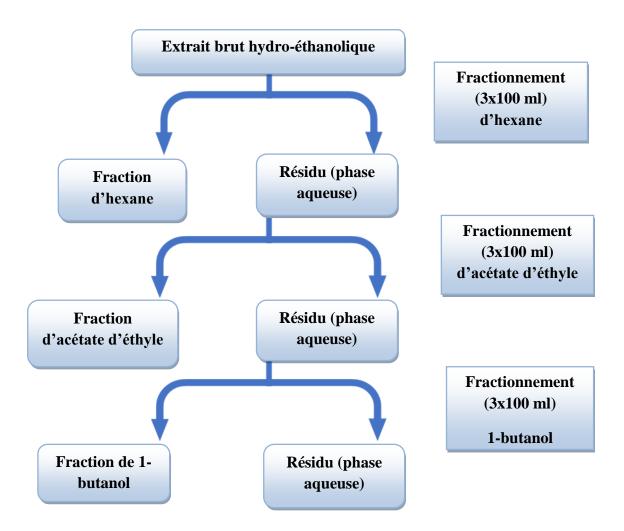


Figure 5 : Protocole de fractionnement (Tereschuk. et *al.*, 2004).

IV-2-4 Rendement de fractionnement

Ce rendement est calculé via l'équation :

$$R_{dt}~\% = (M_{\rm f} \, / \, M_{Eb}) \times 100$$

Avec:

M_f: masse de chaque fraction en gramme.

M Eb: masse d'extrait brut (hydro-éthanolique) en gramme.

IV-2-5 Etude phytochimique

IV-2-5-1 Dosage des composés phénoliques

IV-2-5-1-a Dosage des polyphénols totaux

• Principe

La teneur en phénols totaux des différents extraits de la plante a été estimée par la méthode de en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu .

Cette méthode est basée sur l'interaction des composées phénoliques avec le réactif de folin ciocalteu qui est un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), en oxydant les composés phénoliques, ce réactif est réduit en un mélange d'oxyde de tungstène (W₂PW₂₃) et d'oxyde de molybdène (MO₈O₂₃). Ces produits ont une couleur bleue, dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Ribéreau-Gayon et *al.*, 1982).

• Mode opératoire

Un volume de 0.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10%) est ajouté à 0,1 ml de chaque extrait. Après 4 minutes, 0,4 ml de la solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) (7,5%) sont ajoutés. Le mélange est incubé 2h à l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 765 nm contre un blanc sans extrait.

La concentration des composés phénoliques dans chaque extrait est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par 1g de matière sèche grâce à une courbe d'étalonnage obtenue avec différentes concentrations d'acide gallique (Ribéreau-Gayon et *al.*, 1982).

IV-2-5-1-b Dosage des flavonoïdes

Principe

La teneur en flavonoïdes des extraits obtenus est déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium décrite par Ribéreau-Gayon (1968).

Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres lors de chélation des métaux ; dans cette méthode c'est l'aluminium sous forme d'ions $A1^{+3}$; après décomposition de chlorure

d'aluminium (AlCl₃). Les complexes formés sont responsables de l'absorption de la lumière dans le visible qui est proportionnelle à la concentration en flavonoïdes.

• Mode opératoire

Un volume de 1 ml de chlorure d'aluminium (2%) est ajouté à 1 ml de chaque extrait. L'absorbance est lue à 430 nm, après 15 min d'incubation à température ambiante, contre un blanc sans extrait. La concentration des flavonoïdes dans chaque extrait est exprimée en milligramme équivalent d'un standard par 100 g de matière sèche grâce à une courbe d'étalonnage obtenue avec différentes concentrations de la quercétine (Ribéreau-Gayon, 1968).

IV-2-6 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits in vitro

L'activité antioxydante des extraits obtenus a été évaluée *in vitro* par trois méthodes à savoir :

IV-2-6-1 Test de piégeage du radical libre DPPH

• Principe

L'activité scavenger du DPPH. (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl $(C_{18}H_{12}N_5O_6)$ des extraits de *Putiranthos Scoparus* est déterminée par la méthode de Kroyer et Hegedus (2001), avec de légères modifications.

Cette méthode est basée sur le fait qu'un antioxydant a la capacité de donner un hydrogène au radical DPPH de couleur pourpre sous sa forme oxydée et donc le réduire en DPPH-H (2,2 Diphenyl-1- picryl hydrazine) de couleur jaune-verte (Molyneux, 2004).

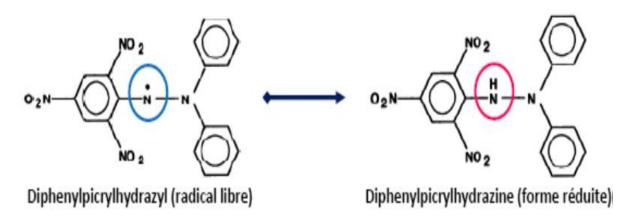


Figure 6: Forme libre et réduite du DPPH (Molyneux, 2004).

Chapitre 4 matériel et méthodes

• Mode opératoire

Un volume de 0.9ml de la solution éthanolique de DPPH (4%) est ajouté à 0,1 ml de chaque extrait (à différentes concentrations). L'absorbance a été lue à 517nm, après 30 min d'incubation à l'obscurité.

Le contrôle est préparé de la même manière sauf que l'extrait est remplacé par le solvant d'extraction.

Le pourcentage de réduction du radical DPPH est exprimé par la formule suivante :

Pourcentage d'inhibition (%) = [(A $_{Contrôle}$ - A $_{\acute{e}chantillon}$) /A $_{Contrôle}$] × 100

A Contrôle: Absorbance du contrôle.

A échantillon : Absorbance de l'échantillon.

La valeur IC50 est définie comme la concentration des antioxydants correspondant à 50 % d'inhibition (Kroyer et Hegedus, 2001).

IV-2-6-2 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

• Principe

Le pouvoir réducteur (PR) des différents extraits est estimé en appliquant la méthode de Yildirim et *al.* (2001) avec de légères modifications.

L'évaluation du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du complexe fer ferrique (Fe³⁺⁾ du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe²⁺), en présence des antioxydants réducteurs, dont la couleur est verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits.

• Mode opératoire

Un volume de 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium $(C_6N_6FeK_3)$ (1%) est ajouté à 1 ml de chaque extrait (à différentes concentrations). 2,5 ml d'acide trichloracétique $(C_2HCl_3O_2)$ (10%) sont ajoutés au mélange après une incubation de 20 min à 50°C. Après centrifugation à 3000 tpm pendant 10 min, 2,5 ml du surnageant sont mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique (FeCl₃) (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700nm.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Yildirim et *al.*,2001).

IV-2-6-3 Capacité antioxydante totale (CAT)

• Principe

La capacité antioxydante totale (CAT) ou l'activité réductrice du molybdate des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène proposée par Prieto et *al.* (1999) avec de légères modifications.

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de molybdène présent sous la forme d'ions molybdate MoO₄-2 à molybdène MoO⁺² en présence de l'antioxydant pour former un complexe vert de phosphate dans un milieu acide (Prieto et *al.*, 1999).

Mode opératoire

Un volume de 3 ml d'une solution préparée en mélangeant 0,6 M d'acide sulfurique (H₂SO₄), 28 mM de phosphate de sodium (Na₃PO₄) et 4 mM de molybdate d'ammonium ((NH₄)₆Mo₇O₂₄), est ajouté à 0,3 ml de chaque extrait (à différentes concentrations). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. l'absorbance des solutions est mesurée, après refroidissement, à 695 nm (Prieto et *al.*, 1999).

IV-2-7 Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits

La technique utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne et l'antibiogramme ainsi que celle de la combinaison des extraits avec les antibiotiques est celle de la diffusion sur gélose ou méthode des disques adoptée par Boudjedjou et *al.* (2019). Cette méthode est basée sur la diffusion de l'extrait testé dans la gélose. Elle consiste à déposer à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé par la suspension des germes choisis, des disques en papier Wattman N°3(6 mm de diamètre), imprégnés des extraits ou des antibiotiques à tester. Après l'incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres.

IV-2-7-1 Repiquage des souches microbiennes

Les différentes souches microbiennes sont repiquées par la méthode des stries ensemencées sur des boites de pétri contenant la gélose nutritive (GN), puis incubées à l'étuve à 37 °C pendant (18-24) heures. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum bactérien.

IV-2-7-2 Préparation de l'inoculum bactérien

L'inoculum est préparé en prélevant 3 à 5 jeunes colonies à l'aide d'une anse de platine, puis mises en suspension dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%. L'inoculum doit avoir une opacité équivalente à 0.5 Mac Farland qui correspond à une absorbance comprise entre 0,08 et 0,10 lue à 625 nm équivalent à une concentration de 10⁶ à 10⁸ UFC/ml (Communiqué du CA-SFM, 2012).

IV-2-7-3 Détermination de l'effet antibactérien (antibiogramme et aromatogramme)

Le test est effectué en cultivant les bactéries sur un milieu Muller Hinton. Chaque boîte de pétri de 90 mm a reçu 20 ml du milieu de culture et est ensemencée avec 1 à 2 ml de la suspension bactérienne. Les disques d'antibiotiques et des disques stériles imprégnés de 10 µl des extraits à différentes concentrations sont déposés à la surface du milieu. Ensuite, les boites ont été inversées et incubées à l'obscurité dans une étuve à une température de 37°C durant 24 h.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de nos extraits a été faite sur trois souches bactériennes. La sensibilité des trois souches vis-à-vis des différents extraits et des antibiotiques est classée selon le diamètre d'inhibition en adoptant l'échelle établie par Ponce et *al.* (2003) :

- ► Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- ► Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- ► Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) diamètre > 20 mm.

IV-2-7-4 Evaluation de l'effet antibactérien de l'association des extraits avec les antibiotiques

Les disques des antibiotiques sont imprégnés par 10 µl de chacun des extraits à une concentration préalablement choisie. Après 24 heures d'incubation, les zones d'inhibition ont été mesurées.

L'effet antibactérien des combinaisons entre les extraits et les antibiotiques a été évalué par la formule suivante :

$$C = (E_{ex} + E_{ab}) - D.$$

$$S = (E_{ex} - D) + (E_{ab} - D).$$

Avec:

C : Diamètre d'inhibition produit par l'association des extraits avec les antibiotiques.

S : La somme des diamètres d'inhibition produits par les extraits et les antibiotiques pris isolément.

E_{ex}: diamètres d'inhibition produits par l'extrait.

E_{ab}: diamètres d'inhibition produits par l'antibiotique.

D : Diamètre du disque égale 6 mm.

Les interactions peuvent produire 3 types d'effets :

- Additif : si l'effet de l'association est égal (P ≥ 0.05) à la somme des effets d'antibiotique et d'extrait pris isolément.
- Synergique : si l'effet d la combinaison est supérieur à la somme des effets d'antibiotique et d'extrait pris isolément.
- Antagoniste : si l'effet de la combinaison est inférieur à la somme des effets d'antibiotique et d'extrait pris isolément (Boudjedjou et *al.*, 2019) .

IV-2-8 Analyse statistique

Tous les tests ont été réalisés en triplicata. Les résultats sont exprimés en moyenne± SD. La différence a été évaluée par le test ANOVA à un seul facteur (5%) en utilisant le logiciel STATISTICA 8.0 Software, StatSoft Inc., USA (site web 1) pour l'évaluation de l'effet antibactérien de l'association des extraits avec les antibiotiques.

Chapitre V : Résultats et discussion

V-1 Rendement des extraits

V-1-1 Rendement de l'extrait hydro-éthanolique

L'opération de l'extraction par macération de la partie aérienne de la plante *Pituranthos Scoparius* par l'éthanol aqueux a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute avec un rendement de 18,6 % (figure 7).

V-1-2 Rendement du fractionnement

Le rendement obtenu après le fractionnement de l'extrait hydro- éthanolique de la partie aérienne de *Pituranthos Scoparius* par différents solvants est montré dans la figure 7.

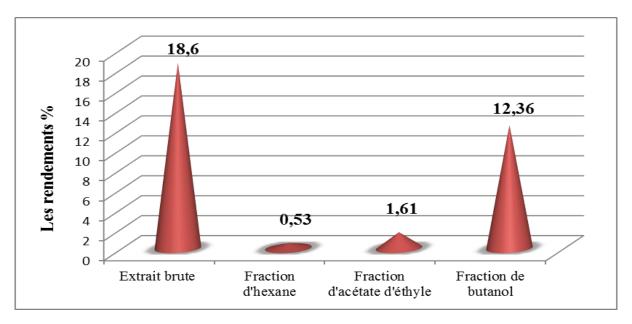


Figure 7: Les pourcentages (%) des rendements des extraits de *Pituranthos Scoparius*.

Le rendement de l'extraction solide-liquide de notre plante est 18,6%. Ce rendement est largement supérieur par rapport à ceux obtenu par Adida (2015) et Tahraoui (2014) à partir la partie aérienne de la même espèce et qui sont de 8,67% et 3,5% successivement.

Le meilleur rendement était celui de la fraction du butanol avec 12,36%, suivi par la fraction d'acétate d'éthyle avec 1.61%, et enfin l'hexane avec 0.53%.

Nos résultats diffèrent de ceux d'Adida (2015) qui a enregistré des rendements de 1.57% et 2,16% pour la fraction d'acétate d'éthyle et du butanol successivement. De même, dans l'étude de Tahraoui (2014), la fraction d'acétate d'éthyle a donné un rendement de 6% alors que le rendement de la fraction du butanol était de 5.5%.

Le rendement d'extraction dépend de la saison de récolte, la partie de plante utilisée, la méthode d'extraction et le choix des solvants utilisés selon leurs caractéristiques physicochimiques, notamment leur polarité.

V-2 Dosage des métabolites secondaires

V-2-1 Dosage des polyphénols totaux

Les différentes fractions obtenues par extraction liquide-liquide ont été analysées par spectrophotométrie pour leur contenu en polyphénols totaux. La méthode adoptée est celle du folin-ciocalteu et les résultats sont exprimés en termes d'équivalents acide gallique à l'aide d'une courbe étalon tracée avec des concentrations allant de 0.0039 mg/ml à 0.062 mg/ml (figure 8).

Les résultats de l'analyse colorimétrique de la teneur en polyphénols sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/ g d'extrait sec). Figure 9.

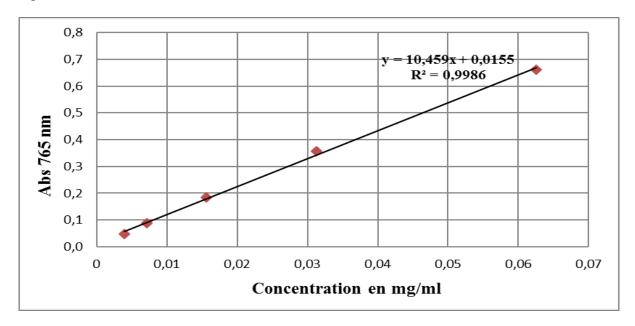


Figure 8 : Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

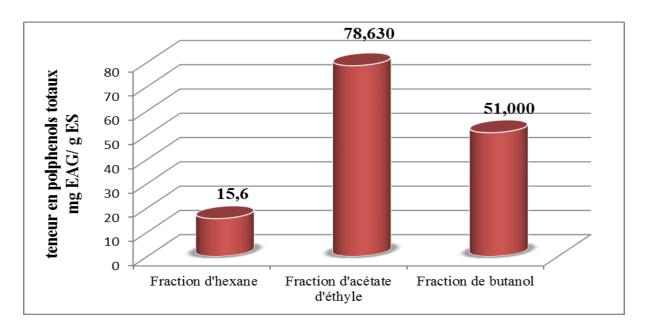


Figure 9 : Teneur en polyphénols des différentes fractions de l'extrait brut.

Selon les résultats présentés dans la figure n, la fraction acétate d'éthyle est la plus riche en polyphénols totaux avec une teneur de $78,630 \pm 0,015$ mg EAG/ g ES, suivie par la fraction butanolique avec $51,000 \pm 0,003$ mg EAG/ g ES et enfin la fraction d'hexane contient une teneur de $15.60 \pm 0,010$ mg EAG/ g ES.

Ces résultats sont similaires à ceux de Tahraoui (2014) sur la même espèce avec 70,37 mg EAG/ g ES et 56,94 mg EAG/ g ES pour la fraction d'acétate d'éthyle et de butanol successivement.

Nos valeurs sont plus élevées par rapport aux teneurs déterminées par Adida (2015), dans les différentes fractions de l'extrait hydro-méthanolique de *Piturantho Scoparius* récolté de Bécher qui sont de : $10,35 \pm 0$ mg EAG/ g ES de polyphénols dans la fraction acétate d'éthyle et $10,05\pm 0,020$ mg EAG/ g ES dans la fraction de butanol.

La teneur en composés phénoliques variant en fonction de la saison de culture et de récolte, les conditions climatique et environnementales, la localisation géographique, la maturité de la plante et la durée de conservation, ainsi que les méthodes d'extraction et des dosages différentes. (Bentahar et *al.*, 2012).

V-2-2 Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes est déduite à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la Quercétine et est exprimée en milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g d'extrait sec).

La courbe d'étalonnage suit une équation de type : y = 22.362x+0.0589. Sachant que le coefficient de corrélation est : $R^2 = 0.9936$ (Figure 10).

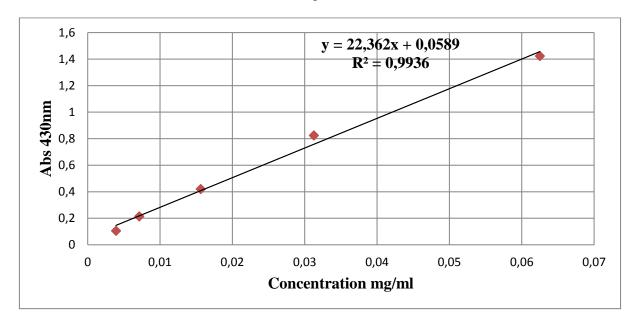


Figure 10 : Courbe étalon de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

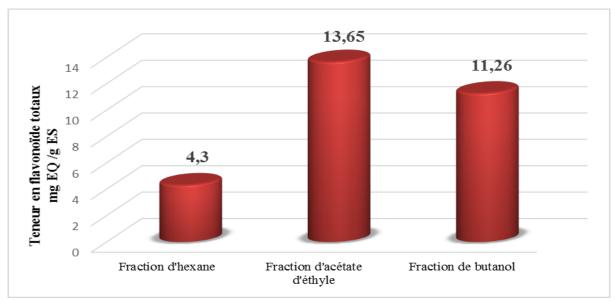


Figure 11 : La teneur des différentes fractions en flavonoïdes totaux.

Les teneurs en flavonoïdes totaux (Figure 11) montrent que la fraction d'acétate d'éthyle représente la teneur la plus élevée de l'ordre de $13,65\pm0.002~$ mg EQ/ g d'extrait sec, suivie par la fraction butanolique qui renferme une teneur de $11,26\pm0.001~$ mg EQ/ g d'extrait sec, alors que la fraction d'hexane enregistre une teneur de $4,3\pm0,001~$ mg EQ/g d'extrait sec.

Adida (2015), ont trouvé une teneur en flavonoïdes de 0.23 ± 0.02 mg EQ/ g d'extrait sec pour la fraction d'acétate d'éthyle, et 0.4 ± 0.01 mg EQ/ g d'extrait sec pour la fraction butanolique. Ce qui est différent de nos résultats.

Les résultats de notre travail sont relativement en accord avec ceux rapportés dans l'étude réalisée par Tahraoui (2014), qui ont montré que le teneur en flavonoïdes totaux pour la fraction d'acétate d'éthyle est 11,77 mg EQ/ g d'extrait sec et 5,9 mg EQ/ g d'extrait sec pour la fraction de butanol.

V-3 Evaluation de l'activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des fractions de l'extrait hydroéthanolique de la partie aérienne de l'espèce *Pituranthos Scoparius* été réalisée par trois méthodes à savoir le piégeage du radical libre DPPH, la réduction de fer FRAP et la capacité antioxydante totale (CAT).

V-3-1 Test de piégeage du radical libre DPPH

L'activité anti radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée (Bortolomeazzi et *al.*, 2007). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires, ceci est expliquée par l'augmentation du pourcentage d'inhibition. L'inhibition de la décoloration du radical DPPH est en fonction de la concentration des différents extraits utilisés et du témoin l'acide ascorbique (antioxydant de référence).

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en CI50, qui définit la concentration efficace du substrat qui cause réduction de 50% du radical DPPH (couleur jaune). Ces CI50 sont déterminées à partir des graphes (Fig. : 12, 13, 14 et 15), plus la valeur de l'IC50 est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

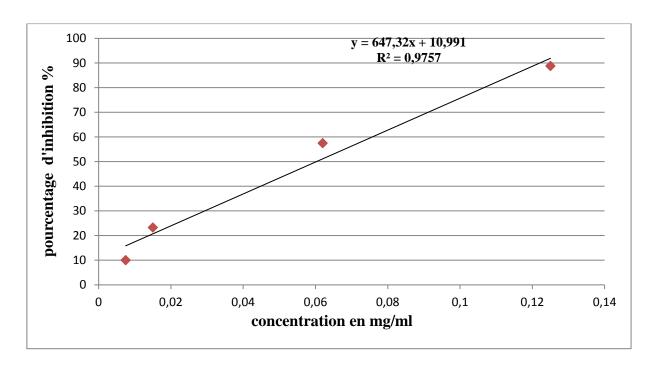


Figure 12: Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique.

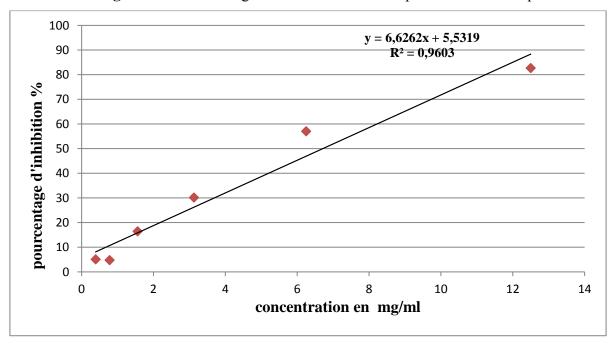


Figure 13: Pourcentage d'inhibition du DPPH• par la fraction d'hexane.

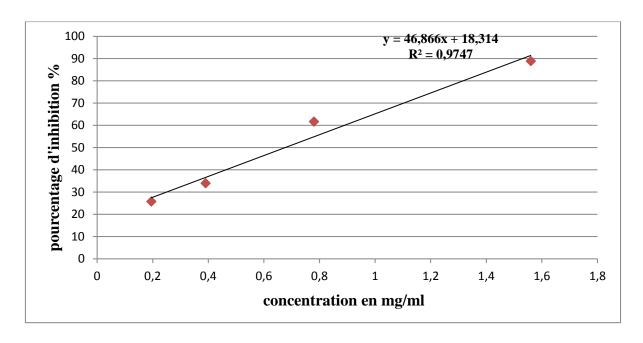


Figure 14 : Pourcentage d'inhibition du DPPH• par la fraction la d'acétate d'éthyle.

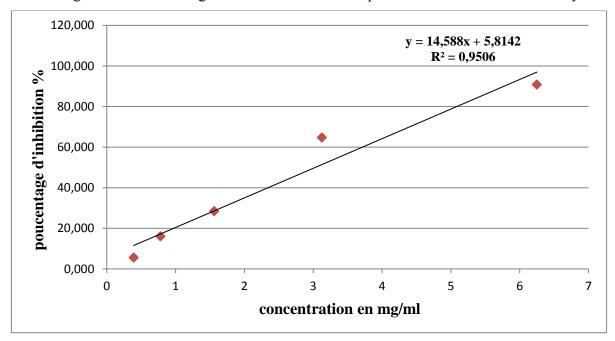


Figure 15: Pourcentage d'inhibition du DPPH• par la fraction de butanol.

Les résultats du pouvoir antiradicalaire obtenus pour différentes concentrations des fractions de l'extrait hydro-éthanolique de *P. scoparius* déterminés sur le DPPH, montrent que le pourcentage de réduction augmente en fonction de la concentration.

Pour une meilleure comparaison entre les trois fractions et la substance de référence acide ascorbique, les IC50 sont calculées. Les IC50 obtenues sont présentées dans la figure 16.

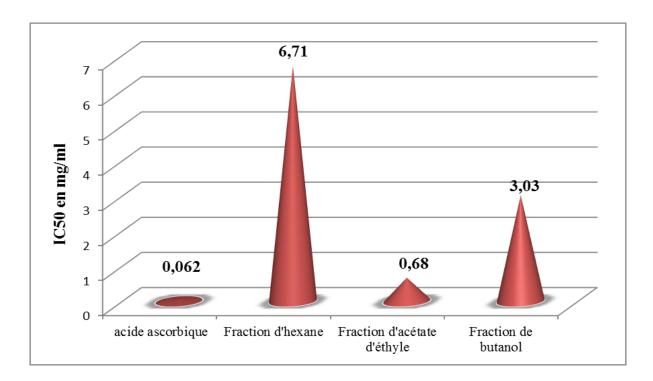


Figure 16 : Les valeurs des IC50 de l'acide ascorbique et des différentes fractions de l'extrait hydro-éthanolique en mg/ml.

Nous constatons que la capacité antioxydante la plus élevée qui correspond à la valeur d'IC50 la plus faible a été enregistrée avec la fraction d'acétate d'éthyle avec une concentration de IC50 égale à 0,68 mg/ml suivi par la fraction butanolique avec concentration de IC50 égale à 3,03 mg/ml et enfin la fraction d'hexane avec IC50 égale à 6,71 mg/ml. Ces activités antiradicalaires sont faibles en comparaison à l'acide ascorbique (0.060 mg/ ml).

L'étude menée par Adida (2015) sur la même plante, indique que la fraction d'acétate d'éthyle est la plus active avec une IC50 de 78,5 μ g/ml suivi de fraction butanolique (155.5 μ g/ml).

Selon Rice-Evans et *al.* (1997), l'augmentation de l'efficacité antioxydante retourne à la structure, la qualité et la concentration des composées phénoliques, et ses quantités dans les tissus des plantes.

V-3-2 Test du pouvoir réducteur du Fer: FRAP (Ferric reducing antioxydant power)

C'est une analyse de l'activité antioxydante rapide, et reproductible. Dans cette méthode, la détermination de l'activité antioxydante est basée sur la capacité des polyphénols les (spécialement flavonoïdes) à réduire le fer ferrique Fe⁺³ en fer ferreux Fe⁺².

La capacité antioxydante a été déterminé à partir des absorbances mesurées en fonction des concentrations. Plus les valeurs d'absorbance sont fortes plus l'activité de l'extrait est grande.

Les résultats du pouvoir réducteur du fer des fraction phénolique de *Pituranthos Scoparius* sont représenté dans la figure 17 ci-dessous :

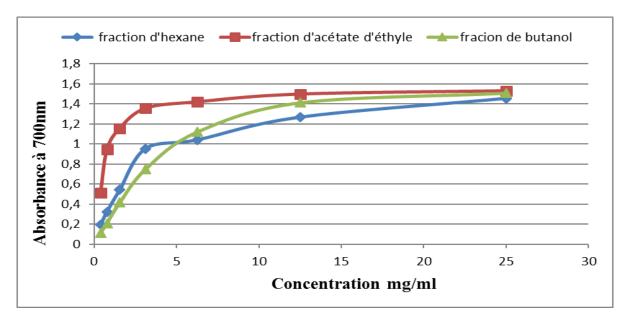


Figure 17 : pouvoir réducteur des différents extraits phénolique de *Pituranthos Scoparius*.

D'après les résultats montrés dans la figure 17, il a été remarqué que toutes les fractions possèdent un pouvoir réducteur plus ou moins important.

A une concentration de 0.5mg/ml le fraction acétate d'éthyle révélé un pouvoir réducteur plus forte de l'ordre 0.942 ± 0.01 , tandis que la fraction de l'hexane et de butanol montrent des valeurs plus faibles, à la même concentration, qui sont de l'ordre 0.324 ± 0.035 et 0.210 ± 0.061 respectivement.

Le pouvoir réducteur les fractions de *Pituranthos Scoparius* est nettement inférieur par comparaison au standard l'acide ascorbique (figure 18) qui enregistre une absorbance de 0,9 à une concentration ne dépassant pas 0,039mg/ml.

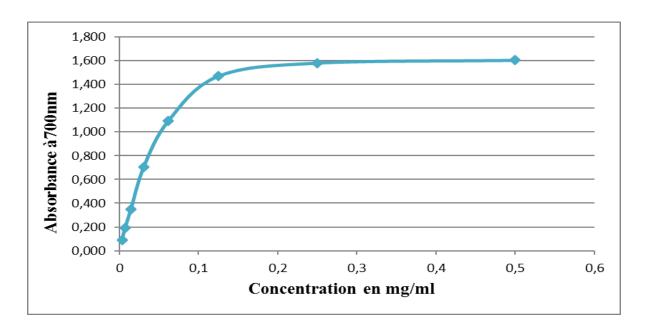


Figure 18 : Pouvoir réducteur du Fer de l'acide ascorbique.

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont proches à ceux rapportés par Adida (2015), à la concentration 6 mg/ml, les absorbances obtenues sont égales à 1,420 pour la fraction d'acétate d'éthyle et 1,124 pour la fraction butanolique. A la même concentration Adida a enregistré l'absorbance 1,73 pour la fraction d'acétate d'éthyle et 1,67 pour la fraction de butanol.

V-3-3 Méthode de la Capacité antioxydant totale (CAT)

La détermination de la Capacité antioxydant totale TAC des différents extraits est estimée par la méthode de Prieto et *al.*, (1999).

La Capacité antioxydant totale a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec une substance de référence, l'acide Ascorbiques à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide Ascorbiques par g d'extrait (mg EAA/ g d'extrait sec). La courbe d'étalonnage suit une équation de type :

y=5,0004+0,2185 Sachant que le coefficient de corrélation est : $R^2=0,9904$ figure 19.

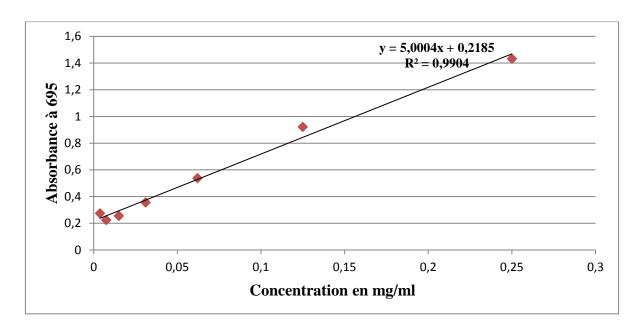


Figure 19 : Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test "CAT".

Les résultats de l'activité antioxydante total sont obtenues en mg EAA/ g ES par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Absorbance en fonction de la concentration) (Figure 20).

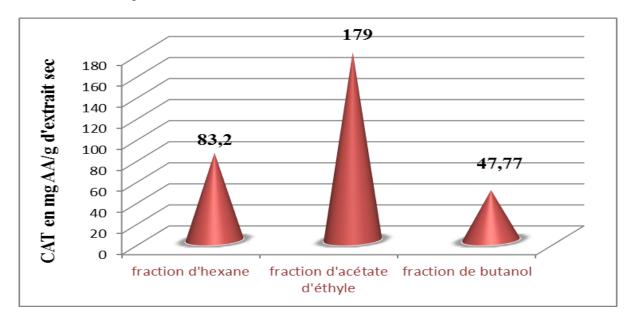


Figure 20 : La capacité antioxydante totale des extraits de *P. scoparius* .

Les résultats de la figure 20 montrent que la fraction d'acétate d'éthyle ayant la capacité antioxydant totale la plus élevée avec $179 \pm 2,12$ mg EAA/g ES, suivie par la fraction d'hexane avec $83,2 \pm 12,5$ mg EAA/g ES enfin la fraction de butanol possède la faible capacité antioxydant total $47,77 \pm 1,5$ EAA/g ES.

V-4 Evaluation du potentiel antibactérien

V-4-1 Aromatogramme

L'activité antibactérienne des fractions obtenues de la partie aérienne de *P. scoparius* a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats sont récapitulés dans le Tableaux 1,2, et 3.

Les trois fractions testées pour leur potentiel antibactérien se sont révélées inactives contre les trois souches testées *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* qui ont montré une résistance vis-à-vis des trois fractions.

Tableau 1 : Activité antibactérienne de la fraction d'hexane de *P. Scoparius*.

Souches testées	Pure	1/2	1/4	Éthanol
E.coli	7.0±1.41	7.0±0.0	7.0±0.0	6.0±0.0
S. aureus	8.0±0.0	7.5 ± 0.71	6.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0
P. aeruginosa	6.0±0.0	6.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0
Effet				
antibactérien				
E.coli	-	-	-	-
S. aureus	-	-	-	-
P. aeruginosa	-	-	<u>-</u>	-

^{(-) :} Non sensible ou résistante. Les résultats en gras correspondent aux concentrations retenues pour l'essai de l'association d'extrait hexane avec les Abs. Eth : éthanol.

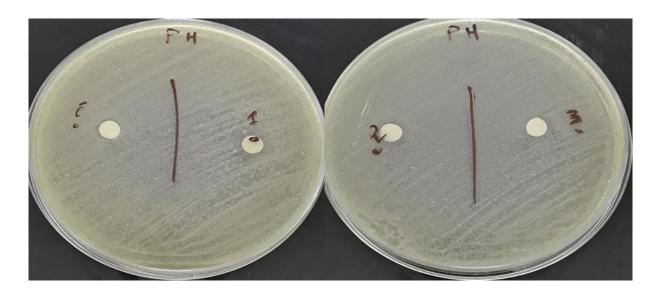


Figure 21 : Photos illustrant la sensibilité de souche bactérienne *P. aeruginosa* testée vis-à-vis de l'extrait d'hexane avec différente concentration (E : éthanol, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2, 3 : dilution 1/4).

Tableau 2 : Activité antibactérienne de la fraction d'acétate d'éthyle de *P. Scoparius*.

Souches testées	Pure	1/2	1/4	Éthanol
E.coli	8.0±0.0	8.0±0.0	8.0±0.0	6.0±0.0
S. aureus	8.5±0.71	$6,5\pm0,71$	6.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0
P. aeruginosa	6.0±0.0	6.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0
Effet				
antibactérien				
E.coli	-	_	-	-
S. aureus	-	-	-	-

^{(-) :} Non sensible ou résistante. Les résultats en gras correspondent aux concentrations retenues pour l'essai de l'association d'extrait acétate d'éthyle avec les Abs. Eth : éthanol.

P. aeruginosa

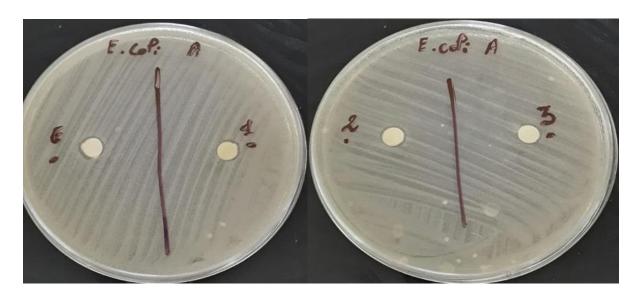


Figure 22 : Photos illustrant la sensibilité de souche bactérienne *E.colis* testés vis-à-vis l'extrait acétate d'éthyle avec différente concentration (E : éthanol, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2, 3 : dilution 1/4).

Tableau 3 : Activité antibactérienne de la fraction de 1-butanole de *P. Scoparius*.

Souches testées	Pure	1/2	1/4	Éthanol
E.coli	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0
S. aureus	6.0±0.0	6.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0
P. aeruginosa	6.0±0.0	6.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0
Effet				

antibactérien

E.coli	-	-	-	-
S. aureus	-	-	-	-
P. aeruginosa	-	-	-	-

^{(-) :} Non sensible ou résistante. Les résultats en gras correspondent aux concentrations retenues pour l'essai de l'association d'extrait 1-butanol avec les Abs. Eth : éthanol.

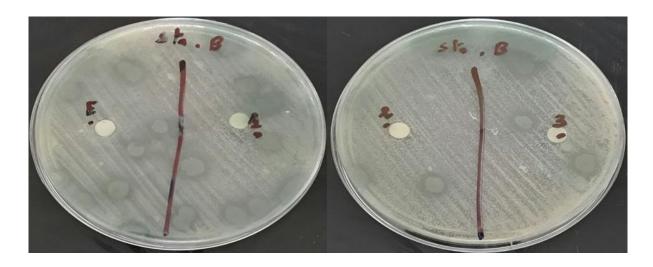


Figure 23 : Photos illustrant la sensibilité de souche bactérienne *S. aureus* testés vis-àvis de l'extrait 1-butanol avec différente concentration (E : éthanol, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2, 3 : dilution 1/4).

V-4-2 Antibiogramme

Les tests de sensibilité aux antibiotiques : l'Amoxicilline, la Gentamicine et l'Augmentin a révélé que *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* sont sensibles à tous les antibiotiques. (tableaux 4,5 et 6).

V-4-3 Résultats de la combinaison des Fractions avec les antibiotiques

L'effet antibactérien de la combinaison des extraits obtenus avec trois antibiotiques : l'Amoxicilline, la Gentamicine et Augmentin a été évalué. Les effets produits varient entre synergique, additif et antagoniste.

La combinaison EH / GEN a donné un effet synergique contre les trois souches : *S. aureus* et *P. aeruginosa*, et *E. coli*. La combinaison entre EH/ AMX a montré un effet synergique contre *E. coli* et *S. aureus* et un effet antagoniste contre *P. aeruginosa*. L'effet de la combinaison EH/ AUG est synergique contre *E. coli* et *S. aureus*, et additif contre *P. aeruginosa* (Tableau 4).

La combinaison entre EA/AMX montre un effet Additif contre *P. aeruginosa*, et un effet synergique contre *E. coli* et *S. aureus*. Cependant la combinaison entre EA/GEN et EA/AUG ont donné des effets synergiques contre toutes les souches bactériennes testées. Cela est mis en évidence par l'augmentation significative des diamètres de la zone d'inhibition (tableau 5).

D'autre part, un effet synergique contre toutes les souches bactériennes testées a été enregistré lors de la combinaison EB/GEN et EB/AUG. En revanche, l'association de EB avec l'AMX a donné un effet synergique contre *E. coli* et *S. aureus*, et un effet additif contre *P. aeruginosa* (tableau 6).

Tableau 4 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques conventionnels utilisés seuls et en association avec l'extrait d'hexane de *P. Scoparius* vis-à vis des souches bactériennes.

Extrait testé	E. coli	S. aureus	P. aeruginosa
GEN	25,5±0,70	30±0,00	21,5±0,70
AMX	22,5±0,70	27±0,00	25,5±0,70
AUG	17±0.0	31.0±1.0	14.5±0.5
GEN+EH	25.0±0.0	28.0±0.0	25±0.0
AMX+EH	25.0±0.0	33.5±0.5	16.0±1.0
AUG+EH	22.0±0.0	30.0±0.0	11.0±3.0
Valeurs P			
EH/GEN	2,66× 10-4***	9,78× 10-4***	0,05× 10-4***
EH/AMX	0,23× 10-4***	0,11× 10-4***	0,005**
EH/AUG	2,6610-4***	2,66 × 10-4***	0,2ns
Effet de			
combinaison			
EH/GEN	Synergique	Synergique	Synergique
EH/AMX	Synergique	Synergique	Antagoniste
EH/AUG	Synergique	Synergique	Additif

(ns): non significatif. *: significatif (P<0.05). **: hautement significatif (P<0.01). ***: très hautement significatif (P<0.001). GEN: Gentamicine. AMX: Amoxicilline. AUG: Augmentin. EH: extrait hexane.

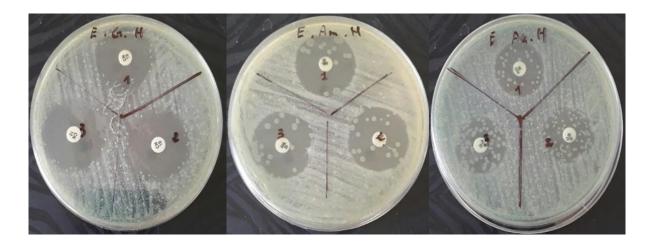


Figure 24 : Photos illustrant la sensibilité de *E. coli* testée vis-à-vis des antibiotiques (G : Gentamicine, Am : Amoxicilline, Au : Augmentin) combinés avec l'extrait d'hexane (avec différente concentration, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2 , 3 : dilution 1/4).

Tableau 5 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques conventionnels utilisés seuls et en association avec l'extrait d'acétate d'éthyle de *P. Scoparius* vis-à vis des souches bactériennes.

Souches testées	E. coli	S. aureus	P. aeruginosa	
GEN	25,5±0,70	30±0,00	21,5±0,70	
AMX	22,5±0,70	$27\pm0,00$	25,5±0,70	
AUG	17±0.0	31.0±1.0	14.5±0.5	
GEN+EA	25.0±0,0	33.0±0.0	24.5±0.5	
AMX+EA	26,7±0,6	29.5±0.5	17.5±1.5	
AUG+EA	21,0±1,0	29.5±0.5	14.0±1.0	
Valeurs P				
EA/GEN	2,66× 10-4***	0,08× 10-4***	0,25× 10-4***	
EA/AMX	0,50× 10-4***	0,40× 10-4***	0,09ns	
EA/AUG	1,57× 10-4***	0,01**	10,41× 10-4***	
Effet de				
combinaison				
EA/GEN	Synergique	Synergique	Synergique	
EA/AMX	Synergique	Synergique	Additif	
EA/AUG	Synergique	Synergique	Synergique	
(ns) : non significatif. * : significatif (P<0.05). ** : hautement significatif (P<0.01). *** : très				

hautement significatif (P<0.001). GEN: Gentamicine. AMX: Amoxicilline. AUG:

Augmentin. EA: extrait acétate d'éthyle.



Figure 25 : Photos illustrant la sensibilité de *S. aureus* testés vis-à-vis des antibiotiques (G : Gentamicine, Am : Amoxicilline, Au : Augmentin) combinés avec l'extrait d'acétate d'éthyle (avec différente concentration, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2 , 3 : dilution 1/4).

Tableau 6 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques conventionnels utilisés seuls et en association avec l'extrait de 1-butanole de *P. Scoparius* vis-à vis des souches bactériennes.

Souches testées	E. coli	S. aureus	P. aeruginosa	
GEN	25,5±0,70	30±0,00	21,5±0,70	
AMX	$22,5\pm0,70$	27±0,00	$25,5\pm0,70$	
AUG	17±0.0	31.0±1.0	14.5±0.5	
GEN+EB	25.0±0.0	28.0±0.0	26.5±0.5	
AMX+EB	26.0±1.0	34.0±0.0	19.0±0.0	
AUG+EB	23.0±1.0	31.0±0.0	14.0±0.0	
Valeurs P				
EB/GEN	0,45× 10-4***	0,00**	0,11× 10-4***	
EB/AMX	1,24× 10-4***	0,00**	0,1ns	
EB/AUG	0,32× 10-4***	4,84× 10-4***	$0,45 \times 10-4***$	
Effet de				
combinaison				
EB/GEN	Synergique	Synergique	Synergique	
EB/AMX	Synergique	Synergique	Additif	
EB/AUG	Synergique	Synergique	Synergique	
$(ns): non\ significatif.\ *: significatif\ (P<0.05).\ **: hautement\ significatif\ (P<0.01).\ ***: tr\`es$				

hautement significatif (P<0.001). GEN: Gentamicine. AMX: Amoxicilline. AUG: Augmentin. EB: extrait 1-butanol.



Figure 26 : Photos illustrant la sensibilité de *P. aeruginosa* testée vis-à-vis des antibiotiques (G : Gentamicine, Am : Amoxicilline, Au : Augmentin) combinés avec l'extrait 1-butanole (avec différente concentration, 1 : extrait pure, 2 : dilution 1/2 , 3 : dilution 1/4).

Un effet synergique peut être produit si les constituants d'un mélange affectent différentes cibles (Wagner et Ulrich-Merzenich, 2009 ; Boudjedjou et *al.*, 2018). En revanche, la combinaison de produits agissant sur la même cible du microorganisme conduit à des effets antagonistes ou additifs (Wagner et Ulrich-Merzenich, 2009).

Les interactions synergiques observées respectivement lors des mélanges EH/GEN, EA/GEN et EB/GEN pourraient être expliquées par le fait que l'GEN et ces trois extraits agissent sur des cibles différentes dans la cellule bactérienne.

Néanmoins, l'interprétation de tels résultats nécessitent une certaine prudence, car les supports de croissance et les conditions de culture peuvent influencer les effets observés.



Conclusion

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de substances naturelles bioactives tels les polyphénols, ces molécules suscitent actuellement l'intérêt de plusieurs chercheurs en raison des bénéfices qu'ils pourraient procurer à la santé humaine.

Ce travail a porté sur l'extraction et le dosage des polyphénols et des flavonoïdes de la partie aérienne d'une espèce médicinale endémique de l'Afrique du Nord *Pituranthos Scoparius* ainsi que l'évaluation de leur activités antioxydante et antibactérienne.

Dans un premier temps, l'extraction hydro-éthanolique a donné un rendement de 18,6 %. Le rendement du fractionnement le plus important a été enregistré avec la fraction de butanol (12,36 %), suivie par l'acétate d'éthyle (1,61 %) et enfin la fraction d'hexane avec le rendement le plus faible qui est de (0,53 %).

L'estimation de la teneur en polyphénols totaux a montré que la fraction de l'acétate d'éthyle est très riche en polyphénols totaux et renferme une teneur forte de $78,630 \pm 0,015$ mg EAG/ g ES, suivie par la fraction butanolique avec $51,0 \pm 0,003$ mg EAG/ g ES et enfin la fraction d'hexane contient une teneur très faible de $15.60 \pm 0,010$ mg EAG/ g ES.

Pour ce qui est des flavonoïdes totaux, les résultats montrent que la fraction d'acétate d'éthyle a représenté la teneur la plus élevée de l'ordre de $(13,65\pm0.002 \text{ mg EQ/g d'extrait sec})$, vient en deuxième position la fraction butanolique avec une teneur de $(11,26\pm0.001 \text{ mg EQ/mg d'extrait sec})$, suivie par la fraction d'hexane $(4,3\pm0,001 \text{ mg EQ/g d'extrait sec})$.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits a été réalisée par trois tests à savoir : le piégeage du radical libre DPPH, la réduction de fer FRAP et la capacité antioxydante totale (CAT). Il a été ressorti que cette plante exhibe un pouvoir antioxydant intéressant, la fraction de l'acétate d'éthyle s'est révélée possédant le plus grand pouvoir antioxydants.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antibactérien. Les trois fractions testées seules n'ont montré aucune activité antibactérienne contre *S.aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*. Alors que combinés aux antibiotiques, les fractions testées ont donné des résultats intéressants. Des effets synergiques ont été observés en raison de l'application combinée EH / GEN contre *S.aureus*, *P.aeruginosa* et *E.coli*. La combinaison entre EH/ AMX a donné un effet synergique contre *E.coli* et *S.aureus*, et un effet antagoniste contre *P.aeruginosa*. EH/ AUG a donné un effet synergique contre *E.coli* et *S.aureus*, et un effet additif contre *P.aeruginosa*. En outre, La combinaison entre EA/GEN ou EA/AUG montre un

effet synergique contre toutes les souches bactériennes testées. En revanche la combinaison entre EA/AMX montre un effet additif contre *P.aeruginosa*, et un effet synergique contre *E.coli* et *S.aureus*. Aussi, la combinaison entre EB/GEN ou EB/AUG montrée un effet synergique contre toutes les souches bactériennes testées. Cependant, l'association de EB/AMX donnée un effet synergique contre *E.coli* et *S.aureus* et un effet additif contre *P.aeruginosa*.

Au vue de l'activité antioxydante intéressante des extraits de cette espèce mise en évidence dans la présente étude, il serait intéressant de les incorpores dans des produits aussi bien à visée alimentaire que pharmaceutique comme alternative aux antioxydants de synthèse. De même, les effets synergiques ressortis lors de cette étude, nous amènent à souligner que les extraits de *P.Scoparius* pourraient augmenter l'efficacité des antibiotiques de synthèse, et permettre ainsi de faire face au phénomène de l'antibiorésistance.

Cette étude peut être approfondie par d'autres études afin d'évaluer l'activité antifongique et réaliser des tests *in vivo* pour évaluer certaines activités thérapeutiques (activités antidiabétique, antihypertensive, anti-inflammatoire, antitumorale...etc).

Les références

Références bibliographiques

А

1/ADIDA, H. 2015. Étude des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de *Pituranthos Scoparius* Benth et Hook «Guezzah»: plante médicinale endémique du Sahara (Doctoral dissertation).

2/Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Celik, S., Bektaşoğlu, B., ... & Özyurt, D. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.

B

3/Boudjedjou L, Ramdani M, Zeraib A, Benmeddour T, Fercha A.2018. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Berries Essential Oil of Algerian *Juniperus thurifera*(Var. aurasiaca). *Pharmaceutical Sciences*, 24, 240-245.

4/Boudjouref M. 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L* : Biochimie appliquée. Thèse de doctorat d'état, Université Ferhat Abbes, Sétif,64 p

5/Bellakhdar, J. 1997. Médecine arabe ancienne et savoir populaires, *La pharmacopée traditionnelle Marocaine*. Ibis presse, 510-512.

6/Bentahar A., Khennouf S., Bouaziz A., Djidel S. 2012. Evaluation de la teneur en polyphénols et l'activité antioxydantes des extraits aqueux des *Ceratonia Siliqual* et *Ruta Montana L*. Proceeding of the 2nd African congress on biology & Healh. 166-170.

7/Bergogne-Bérézin, E., Dellamonica, P. 1999. *Antibiothérapie en pratique clinique*. (DEPRECIATED).

8/Billing, J., & Sherman, P. W. 1998. Antimicrobial functions of spices: why some like it hot. *The Quarterly review of biology*, 73(1), 3-49.

9/Boizot, N., & Charpentier, J. P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'INRA, In: Numéro spécial, 79-82.

10/Bonnet, R., Caron, F., Cavallo, J. D., Chardon, H., Chidiac, C., Courvalin, P., ... & Lambert, T. 2012. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2012.

11/Boukef M.K. 1986. Médecine traditionnelle et pharmacopée : les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Tunisie, 350.

12/Bruneton, J. 1993. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2ème édition.Tec & Doc. Paris.

C

13/Chanforan, C. 2010. Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Thèse de Doctorat : Université D'AVIGNON et des PAYS de VAUCLUSE.

14/Courvalin P., Cuot P. T. 2001. Minimizing potential resistance: the molecular view. Clinical infectious diseases, 33 (3), S138-S146.

15/Cosgrove S. E. 2006. The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. Clinical Infectious Diseases, 42(2), S82-S89.

16/Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews12(4): 564-582.

17/Cox P. A., Balick M. J. 1994. The ethnobotanical approach to drug discovery. Scientific American. 270(6):82-87.

D

18/Dacosta, Y. 2003. Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta.

19/Davies J. 1994. Inactivation of antibiotics and the dissmination of resistance genes. Science, 264 (5157), 375-382.

19/DEYSSON G. 1979.- Organisation et classification des plantes vasculaires, cours de botanique générale quatrième série, tome II, Paris, 529 pp.

20/Duraffourd C., Lapraz J.C., Chemli R. 1997. La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris, 222.

 \mathcal{E}

21/Edenharder, R., Grünhage, D. 2003. Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium TA102*. Mutat. Res, 540: 1–18.

 \boldsymbol{F}

22/Favier, A. 2003. Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108.

 \mathcal{G}

23/Ghazghazi.H., Chedia,A., Abdererazak,M. et Brahim,H. 2013. Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydantedes extraits méthanoliques des quatre plantes collectées du nord de Tunisie. Microbial.Hyg.Alim.73(25): 37-41.

24/Ghedira, K. 2005. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 3(4), 162-169.

25/Guinebert, E., Durand, P., Prost, M., Grinand, R., & Bernigault, R. 2005. Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole*, 554.

26/Gülçın, İ., Oktay, M., Kıreçcı, E., & Küfrevioğlu, Ö. İ. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L*). seed extracts. Food chemistry, 83(3), 371-382.

 \mathcal{H}

27/Harberth S., Samore M. H. 2005. Antimicrobial resistance determinants and future control. Emerg Infect Dis, 11 (6), 794-801.D.

28/Harrar, A. 2012. Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus Alaternus L* (Doctoral dissertation, Université de Sétif 1-Ferhat Abbas).

29/Haslam, E. 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. J. Nat Pro, 59: 205 215.

К

30/Kaabeche, M. 1990. Les groupements végétaux de la région de Bou saad (Algérie). Essai desynthèse sur la végétation steppique du Maghreb. Thèse de Doctorat en sciences, Université de Paris Sud, Centre d'Orsay, 93.

31/Kohen, R., & Nyska, A. 2002. Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicologic pathology, 30(6), 620-650.

32/Kohen, R., Nyska, A. 2002. Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicologic pathology, 30(6), 620-650.

M

33/Macheix, J. J., Fleuriet, A et Sarni-Manchado, P. 2006. "Composés phénoliques dans laplante, structure, biosynthèse, répartition et rôle. In : Les polyphénols en agroalimentaire" .Edition Technologie et document, Paris, 380-398.

34/Mazat, J.P., Ransac, S. 2010. Le complexe bc1 de la chaîne respiratoire mitochondriale fonctionne selon l'hypothèse du cycle Q de Mitchell. La preuve par une approche stochastique. Med Sci (Paris) ; 26 : 1079-86.

35/Miliauskas G.V., Enskutonis P.R., Van Beek T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry 85 (2): 231-237.

36/Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Jornal of Science and Technologie*, 26:211–219.

N

37/Normark B. H., Normark S. 2002. Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of internal medicine*, 252 (2), 91-106.

38/Novelli, G. P. 1997. Role of free radicals in septic shock. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*, 48(4), 517-527.

0

39/OMS (Organisation mondiale de la Santé). 2003. Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle, WOH/TRM/2000.1; annexe II : 31-35.

40/Ould El Hadj M.D., Hadj-Mahammed M., Zabeirou H. 2003. Place des plantes spontanées dans la médicine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). Courrier du Savoir. 03 : 47-51.

41/Ozenda P., 1983. Flore du Sahara. Ed. 2. Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS.), Paris : 401.

 ${\bf P}$

42/Perry J. D., Hanin B., Despland J. N. 2004. Echelle d'évaluation des mécanismes de défence. Traduction et adaptation française du Defence Mechanism Rating scales de JC Perry.

43/Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical biochemistry, 269(2), 337-341.

Q

44/Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méditerranéennes. Centre national de la recherche scientifique, Paris, France, 19-23.

R

45/Ribéreau-Gayon, P. 1968. Notions générales sur les composés phénoliques. Composées phénoliques des végétaux. Edition Dunod, Paris, 105-133.

46/Ribéreau-Gayon P., Ribéreau-Gayon J., Peynaud E, Sudraud P. 1982.Composés phénoliques. in traité d'oenologie, sciences techniques de vin. Edition dunod. P: 477-499.

47/Rice-Evans C.A, Sampson J., Brameley P.M., Holloway D.E. 1997. Why do we expect carotenoids to be antioxidants *in vitro*?. Free Radical Research 26 (4): 381-398.

 \mathcal{S}

48/Sohal, R. S., Mockett, R. J., & Orr, W. C. 2002. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. Free Radical Biology and Medicine, 33(5), 575-586.

 $\boldsymbol{\mathcal{T}}$

49/Tahraoui, F. Z (2014). Contribution à l'étude phytochimique et activités antioxydante d'extraits de *Pituranthos Scoparius* (Guezzah) par la méthode de réduction du fer: FRAP (Doctoral dissertation).

50/Tsao, R. 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients, 2(12), 1231-1246.

51/Tapas, A. R., Sakarkar, D. M. & Kakde, R. B. 2008. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7 (3), 1089-1099.

52/Tereschuk M.L, Baigorí M.D., De Figueroa L.I., Abdala L.R. (2004). Flavonoids from Argentine Tagetes (Asteraceae) with antimicrobial activity. Public Health Microbiology. Methods in Molecular Biology. 268: 317-330.

W

53/Wagner, H., Ulrich-Merzenich, G. 2009. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine*, 16(2-3), 97-110.

54/Walsh G. 2003. Biopharmaceutical benchmarks-2003. *Nature biotechnology*, 21 (11), 1396-1396.

54/site web 1 : www.statsoft.com/textbook/k-nearest-neighbors.

 $\boldsymbol{\gamma}$

55/Yagupsky P. 2006. Selection of antibiotic-resistant pathogens in the community. *The Pediatric infectious disease journal*, 25 (10), 974-976.

Résumés

ملخص

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للببكتيريا لي Pituranthos Scoparius (القزاح). كشف التقدير اللوني للبوليفينول الكلي والفلافونويد التي تم الحصول عليها من الجزء الجوي أن مستخلص اسبتات الإيثيل هو الأكثر ثراءً بالبوليفينول الكلي مع $78.630 \pm 0.002 \pm 0.002$ ملغم مكافئ حمض الغاليك/ غرام للمستخلص الجاف، وبالفلافونويد الكلي مع $13.65 \pm 0.002 \pm 0.002$ ملغم مكافئ حمض الكرسيتين / غرام للمستخلص الجاف.

تم تسجيل أفضل مضادات الأكسدة المحتملة التي تم تقييمها بواسطة اختبار FRAP ، DPPH و CAT مع مستخلص اسيتات الإيثيل.

كشف تقييم تأثير مضاد الجراثيم أن المستخلصات الثلاثة كانت غير نشطة ضد E. coli و E. aureus و P. aeruginosa. آثار مزيج المستخلصات الثلاثة مع المضادات الحيوية التقليدية: الأموكسيسيلين، الجنتاميسين وأوجمنتين تختلف بين التآزر، الإضافة والخصم. ومع ذلك، فقد لوحظ التأثير التآزري أكثر ما يشير إلى أن المستخلصات التي تمت دراستها إلى جانب المضادات الحيوية التقليدية قد تكون مفيدة في التعامل مع مشكلة المقاومة البكتيرية.

الكلمات المفتاحية: مضادة للأكسدة' مضادة للبكتيريا' Pituranthos Scoparius' البوليفينول الكلي' الفلافونويد الكلي' DPPH.

Résumé

La présente étude a pour but d'évaluer les activités antioxydantes et antibactériennes de *Pituranthos Scoparius* (Guezzah). Le dosage colorimétrique des polyphénols totaux et flavonoïde des fraction obtenues de la partie aérienne a révélé que la fraction acétate d'éthyle est la plus riche en polyphénols totaux avec $(78,630 \pm 0.015 \text{ mg EAG/g ES})$, et en flavonoïdes totaux avec $(13,65\pm0.002 \text{ mg EQ/g ES})$.

Le meilleur potentiel antioxydant évalué par le test de DPPH, FRAP et CAT a été enregistré avec la fraction d'acétate d'éthyle.

L'évaluation de l'effet bactéricide a révélé que les trois fractions se sont manifestées inactives contre *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*. Les effets de la combinaison des trois fractions avec les antibiotiques conventionnels : Amoxicilline, Gentamicine et Augmentin varient entre synergie, addition et antagoniste. Cependant l'effet synergique a été le plus observé ce qui suggère que les extraits étudiés combinés aux antibiotiques traditionnels pourraient être utiles pour faire face du problème de la résistance bactérienne.

Mots clés : Antioxydantes, Antibactériennes, polyphénols totaux, flavonoïde total, *Pituranthos Scoparius*, DPPH, FRAP, CAT.

Abstract

The purpose of this study is to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of *Pituranthos Scoparius* (Guezzah). The colorimetric determination of the total polyphenols and flavonoid fractions obtained from the aerial part revealed that the ethyl acetate fraction is the richest in total polyphenols with $(78,630 \pm 0.015 \text{ mg EAG/g ES})$, and in total flavonoids with $(13,65 \pm 0.002 \text{ mg EQ/g ES})$.

The best antioxidant potential evaluated by the DPPH, FRAP and TAC tests was recorded with the ethyl acetate fraction.

Evaluation of the bactericidal effect revealed that the three fractions were inactive against *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*. The effects of the combination of the three fractions with conventional antibiotics: Amoxicillin, Gentamicin and Augmentin vary between synergy, addition and antagonism. However, the synergistic effect has been most observed suggesting that the extracts studied combined with traditional antibiotics could be useful in dealing with the problem of bacterial resistance.

Key words: Antioxidants, Antibacterial, *Pituranthos Scoparius*, total polyphenols, flavonoid, DPPH, FRAP, TAC.