



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE
ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des sciences de la nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biochimie Appliquée*

Thème

Etude comparative des activités biologiques d'une plante médicinale : *Ecballium elaterium*

Soutenu publiquement le : 04/10/2020

Par

Mlle BOUFERIOUA Yousra

&

Mlle TERROUCHE Bouthaina

Jury

Présidente Mme MOSBAH.A. M.C.A Université des Frères Mentouri Constantine 1

Encadreur Mme DEMMAK.R.G M.C.B Université Salah Boubnider Constantine 3

Examineur Mme TENIOU.S. M.A.A Université des Frères Mentouri Constantine 1

Année universitaire : 2019-2020

Remerciement

On tient tout d'abord à remercier en premier lieu Allah le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il nous a donné pour accomplir ce modeste travail.

*Un grand merci à notre Encadreur Mme **DEMMAK Rym.G** (MCB) qui a tout d'abord acceptée la conduite et la direction de notre mémoire.*

Nous ne saurions jamais oublier sa disponibilité, Sa compétence et la confiance qu'elle nous a témoignée et ont été déterminantes dans la réalisation de notre travail de recherche..

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Mme **Teniou Soumia**(MAA) pour l'intérêt qu'elle a porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par ses propositions.*

*Nous tenons aussi à remercier Mme **Mosbah Asma**(MCA) de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*

*Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à Mme **BOUZIDI Nadjat** du laboratoire de Biologie cellulaire et moléculaire, Université des Frères Mentouri Constantine1 pour son soutien et sa générosité.*

Yousra et Boutheïne



Dédicaces

*Je rends grâce, à mon dieu de m'avoir donné la force, la
volonté, l'intelligence et la sagesse d'être patiente dans mes études.*

Je dédie ce modeste travail :

*À Mes parents **Yassine et Houria**, symboles de courage et de volonté, qui ont consacré et sacrifié
leurs vies pour mon bien être ;*

*À ma chère sœur **Nour El Houda** pour son soutien durant mon parcours universitaire plus
particulièrement ce mémoire.*

*À Mes chers frères : **Mohamed Achraf Eddine et Aymen et Youssef Islam***

*À mon cher beau-frère : **Ihab Taissir***

*À ma chère nièce **Nour Aline** la petite joie de la famille*

*À toute la famille **Bouferioua et Benzaid** chacun par son nom*

*À mon adorable amie et binôme **Boutheina** source de tendresse, de joie et de courage.*

*À mes chères copines : **Rym , Souha , Lamis , Khalida, Nini***

À tous ceux qui me sont chers



Yousra



Dédicaces

*C'est avec l'aide et la grâce du Dieu qu'on a achevé ce modeste travail que je dédie :
À tous ceux qui me sont chers :*

*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, mon père **houcine** que j'adore.*

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, ma mère **Malïa** à qui je souhaite une longue vie pleine de bonheur et de santé.*

*À ma chère tante **Fadïla** ;
Merci pour ton amour, ton soin, ta gentillesse et tes conseils .Je t'envoie là où tu es, cette réalisation comme titre de reconnaissance .Que dieu nous rassemble dans son paradis.*

*À mes sœurs **Malak et Imen et Hawa acile** et mes frères **Mouhamed el Amine et Abd el jalil** , je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*À toute la famille **Terrouche Et Saadoune** chacun par son nom*

*À mon binôme **Youssra** avec qui j'ai partagé tous les moments de stress de Fatigue mais, aussi de fous rires, sans toi ce travail n'aurait pu être réalisé*

*À toutes mes amies,
Lamis et Halima
À tous ceux que j'aime et que j'estime,*

À l'ensemble des personnes qui m'ont aidé durant la réalisation de ce travail et qui m'ont soutenu moralement



BOU THEINA

Plan de travail

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION GENERALE.....1

CHAPITRE I: RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

I.PHYTOTHERAPIE ET ETUDE BOTANIQUE.....3

I.1. Plantes médicinales.....3

I.2. Phytothérapie.....3

I.2.1. Types de phytothérapies3

I.2.2. Phytothérapie en Algérie4

I.3. La famille Cucurbitaceae.....4

I.3.1. Généralité.....4

I.3.2. Présentation du genre *Ecballium*.....5

I.4. Description botanique d'*Ecballium elaterium*.....5

I.5. Classification botanique.....6

I.6. Usage traditionnelle d'*Ecballium elaterium*.....6

I.7 Composition chimique d'*Ecballium elaterium*.....7

II. METABOLITES SECONDAIRES.....7

II.1. Généralités sur les métabolites secondaires.....7

II.1.1. Les composés phénoliques.....7

II.1.2.Classification des polyphénols.....8

II.1.2.1. Les acides phénoliques.....9

II.1.2.2.Flavonoïdes.....9

II.1.2.3. Tannins.....10

 a.Tannins hydrolysables.....11

 b.Tannins condensés.....11

II.2. Les propriétés biologiques des polyphénols.....11

III. ACTIVITES BIOLOGIQUES.....12

III.1.1. Stress oxydant.....12

III.1.2. Les radicaux libres.....13

| | |
|---|----|
| III.1.3. Implications pathologiques du stress oxydatif..... | 14 |
| III.1.4. Mécanisme de défense contre le stress oxydant..... | 14 |
| III.1.4.1. Systèmes antioxydants enzymatiques..... | 15 |
| III.1.4.2. Systèmes antioxydants non-enzymatiques..... | 15 |
| III.1.4.2.1. Antioxydants naturels..... | 15 |
| III.1.4.2.2. Antioxydants synthétiques..... | 16 |
| III.2. Activité antibactérienne..... | 17 |
| III.2.1.La résistance bactérienne aux antibiotiques..... | 17 |
| III.2.1.1.Résistance naturelle ou résistance intrinsèque..... | 17 |
| III.2.1.2.Résistance acquis..... | 17 |
| III.2.1.3.La Multi résistance..... | 17 |

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

| | |
|---|----|
| I.1.Matériel..... | 18 |
| I.1.Matériel végétal..... | 18 |
| I.2.Réactifs chimiques et instrumentation..... | 18 |
| I.3.Méthodes..... | 19 |
| I.3.1.Extraction des métabolites secondaires..... | 19 |
| I.3.2.Dosage des polyphénols totaux..... | 24 |
| I.3.3.dosage des flavonoïdes totaux..... | 25 |
| I.3.4.Evaluation de l'activité antioxydants..... | 26 |
| I.3.5.Activité Antimicrobienne..... | 29 |
| I.3.5.1.Activité Antibactérienne..... | 29 |
| I.3.5.2.Activité Antifongique..... | 31 |

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|---|----|
| I.Rendement d'extraction..... | 34 |
| II.Dosage des composés phénoliques..... | 35 |
| II.1. Teneur en polyphénols totaux..... | 35 |
| II.2.Teneur en flavonoïdes totaux..... | 37 |
| III. Evaluation des activités biologiques..... | 39 |
| III.1. Evaluation du potentiel antioxydant..... | 39 |
| III.2.Activité antimicrobienne..... | 44 |

CONCLUSION GENERALE 53

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Résumés

Liste des abréviations

| | |
|---|--|
| (%) : Pourcentage | mL : Millilitre |
| ABTS ^{•+} : acide 2,2'-azinobis (3éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) | mg : Milligramme |
| AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium | mg/mL : Milligramme / Millilitre |
| BHA : butylhydroxyanisole | Mg GAE/g MS : Milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche |
| BHT : butylhydroxytoluène | min : Minute |
| C° : Degré celsius | mm : Millimètre |
| Cl : Chlore | mM : Micromol |
| Cm : Centimètre | Na₂CO₃ : Carbonate de sodium |
| Cu⁺² : Cuivre | nm : Nanomètre |
| DMSO : diméthyle sulfoxyde | O^{2•-} : Anion superoxyde |
| DPPH : 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl | O₂• : Radical superoxyde |
| e⁻ : Electron | O₂• : Oxygène singulet |
| E.E : Ecballium elaterium | OH• : Radical hydroxyle |
| Eq : Extrait aqueux. | OH : Hydroxyl |
| ERO : Espèces réactivées de l'oxygène | ONOO⁻ : Ion peroxydite |
| ERN : Espèces réactivées de l'azote | PDA : Potato Dextrose Agar |
| Fe⁺² : Fer ferreux | ROO• : Radical peroxyde |
| Fe⁺³ : Fer ferrique | SM : Solution mère |
| FLOH : Radicaux flavoxydes | SOD : Superoxyde dismutase |
| GPxs : Glutathions peroxydase | TCA : acide trichloroacétique |
| H : atome d'hydrogène | Trolox : Acide 6-hydroxy-2, 5, 7,8 tétraméthylchroman-2-carboxylique |
| h : Heure | TEAC : Trolox Equivalent Antioxydant Capacity |
| H₂O : Eau | µg/ml : Microgramme/Millilitre |
| H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène | µl : Microlitre |
| IC₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50% | |
| m : Masse | |
| MeOH : Méthanol | |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: <i>Ecballium elaterium</i> | 5 |
| Figure 2 : Squelette de base des flavonoïdes..... | 9 |
| Figure 3: Structures des squelettes de base des flavonoïdes..... | 10 |
| Figure 4: Structure des tanins..... | 11 |
| Figure 5: Schéma de la balance entre les espèces réactives oxygénées et les antioxydants...13 | |
| Figure 6 : Localisation satellite de la zone de récolte de la plante du genre <i>Ecballium</i> | 18 |
| Figure 7 : lieu de récolte de la plante du genre <i>Ecballium</i> | 18 |
| Figure 8: Les parties aériennes d' <i>Ecballium elaterium</i> | 19 |
| Figure 9 : Extraction des métabolites secondaire par des solvants de polarité croissant..... | 21 |
| Figure 10: Etapes de macération et de filtration des parties aériennes de la plante..... | 22 |
| Figure 11 : Procédé de concentration de l'extrait (rotavapeur)..... | 22 |
| Figure 12 : Extraction des métabolites secondaire par des solvants de polarité croissante..... | 23 |
| Figure 13: Protocole de dosage des composés phénoliques | 24 |
| Figure 14: Protocole de dosage des flavonoïdes totaux | 25 |
| Figure 15 : Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH | 27 |
| Figure 16: Protocole d'étude de l'activité antioxydant par l'ABTS+ | 28 |
| Figure 17: Présentation de la méthode de diffusion sur disque..... | 30 |
| Figure 18: Les étapes de dilution de l'extrait..... | 32 |
| Figure 19: Rendement d'extraction (%) des composés phénoliques des différentes parties (racine, tige, feuille et fruit) d' <i>Ecballium elaterium</i> | 34 |
| Figure 20: Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits d' <i>Ecballium elaterium</i> | 36 |
| Figure 21: Teneurs en polyphénols totaux d' <i>Ecballium elaterium</i> | 36 |
| Figure 22: Teneur en flavonoïdes des extraits des quatre parties d' <i>Ecballium elaterium</i> | 38 |
| Figure 23: Teneur en flavonoïdes totaux d' <i>Ecballium elaterium</i> | 38 |
| Figure 24: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH par les extraits des quatre parties d' <i>Ecballium elaterium</i> à différentes concentrations..... | 40 |
| Figure 25: : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les deux fractions acétat d'éthyle et <i>n</i> -butanol pour la parties feuille d' <i>Ecballium elaterium</i> | 41 |

| | |
|--|----|
| Figure 26: Pourcentages d'inhibition du radical ABTS par les extraits d' <i>Ecballium elaterium</i> à différentes concentrations..... | 43 |
| Figure 27: Taux d'inhibition de l'extrait sur les souches bactériennes..... | 45 |
| Figure 28: Activité antibactérienne de l'extrait d'EE sur les souches Bactériennes sensibles..... | 46 |
| Figure 29 : Le développement de la croissance mycélienne sous l'effet d'extrait d'E.E en fonction du temps d'incubation..... | 50 |
| Figure 30: La croissance mycélienne des quatre souches fongiques sous l'effet des concentrations de l'extrait d' <i>Ecballium elaterium</i> | 51 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1: Classification taxonomique d' <i>Ecballium elaterium</i> | 6 |
| Tableau 2 : Les principales classes des composées phénoliques avec leur structure de base... | 8 |
| Tableau 3 : Les principales espèces réactivées de l'oxygène (ERO)..... | 14 |
| Tableau 4 : Réactifs chimique..... | 19 |
| Tableau 5 : Liste de souches bactériennes testées..... | 29 |
| Tableau 6 : Valeurs des IC ₅₀ des différents extraits d' <i>Ecballium elaterium</i> et du BHA lors de la réduction du radical DPPH..... | 40 |
| Tableau 7: Valeurs des IC ₅₀ trouvées pour les fractions acétate d'éthyle et n-butanol des deux parties, feuille et tige, d' <i>Ecballium elaterium</i> | 42 |
| Tableau 8: Valeurs des IC ₅₀ des différents extraits d' <i>Ecballium</i> et du Trolox lors de la réduction du radical ABTS..... | 44 |
| Tableau 9: Diamètres en (mm) des zones d'inhibition de l'extrait d'E.E sur les Souches bactériennes..... | 45 |
| Tableau 10: Activité Antibactérienne des extraits des graines et écorces de fruits d' <i>E.elaterium</i> | 47 |
| Tableau 11: Les diamètres de croissance mycélienne (mm) de <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Fusarium solanivar</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Solani</i> | 49 |

Introduction générale

L'Homme n'a cessé depuis la nuit des temps d'utiliser les plantes médicinales pour traiter différentes pathologies. Sans doute aussi ancienne que la conscience humaine, les vertus des ressources naturelles, à des fins thérapeutiques, sont illustrées par cette citation d'Hippocrate, « la nature est le médecin des malades » (Aquaron, 2005).

En effet, aujourd'hui, les plantes sont utilisées dans différents domaines tel que l'industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique, et phytothérapie. Cette dernière, s'appuie sur la diversité des métabolites secondaires des végétaux dotés de propriétés bioactives importantes. Néanmoins, seule une petite partie du règne végétal a été étudiée sur les plans phytochimique et pharmacologique (Hostettmann et *al.*, 1998).

L'Algérie est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne, Saharienne et une flore Paléo Tropicale, estimée à plus de trois milles (3000) espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques (Ozenda., 1977 ; Gausсен et Leroy., 1982) ; ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Mais plusieurs sont encore méconnues et exploitées de façon artisanale (Gelfand et *al.*, 1985).

Les cucurbitacées sont l'une des familles de plantes les plus importantes qui fournissent aux humains des produits comestibles et des fibres utiles. Ils sont aussi une source bien connue de métabolites secondaires (Miro ,1995).

Ecballium elaterium est une plante appartenant à la famille des cucurbitacées trouvées dans le bassin méditerranéen. D'un point de vue phytochimique, elle est caractérisé par la présence de substances phénoliques, qui sont douées d'activités antioxydantes, antibactériennes et anti- inflammatoires (Abbassi et *al.*, 2014).

Le but du présent travail est d'extraire les métabolites secondaires et de réaliser une étude comparative des travaux antérieures d'*Ecballium elaterium*.

Notre travail sera présenté comme suit :

- **Le premier chapitre:** concerne la recherche bibliographique, réunit en trois parties distinctes
 - ❖ **La 1^{er} partie**, consacré aux aspects botaniques, inclus une présentation de la famille Cucurbitacée, les composés chimique du genre *Ecballium*, puis leurs propriétés biologiques ainsi que ses usages en médecine traditionnelles.
 - ❖ **Le 2^{ème}partie**, présentera les composés phénoliques, leur définition, leur classification, leur intérêt thérapeutique.
 - ❖ **Le 3^{ème}partie**, s'intéresse au stress oxydant, les différents systèmes antioxydant et à d'autres activités biologiques.
- **Le deuxième chapitre :** Le deuxième chapitre du manuscrit évoque la méthode d'extraction que nous avons utilisée ainsi que des techniques de travaux antérieures.
- **Enfin**, une étude comparative des résultats de deux travaux antérieurs sera présentée dans le dernier chapitre.



*Recherche
bibliographique*



I.PHYTOTHERAPIE ET ETUDE BOTANIQUE

I.1. Plante médicinale

Les plantes médicinales sont des végétaux supérieurs qui possèdent des vertus curative grâce aux principes actifs qui sont situés dans différentes parties comme les racines, feuilles, grains rhizome et écorce(Chevallier.,2001).

Durant des siècles les humains ont utilisés les plantes à fin de guérir certaines maladies, en effet, il existe plus de 500000 espèces de plante dont 80000 sont des plantes médicinales(Quyoun.,2003).

L'utilisation inconsidérée des plantes médicinales peut provoquer des intoxications graves qui peuvent s'avérer mortelle (Fouché et *al.*, 2000).

I.2.Phytothérapie

La phytothérapie vient du grec "phuton" et signifie les plantes et "thérapeia" signifie le traitement, ce qui veut dire " traiter avec les plantes" (Baba Aissa., 2000).

Pendant des siècles la phytothérapie a constitué la principale source pour guérir certaines maladies par industrie pharmaceutique grâce à l'identification des principes actifs et l'absence des effets secondaires.

I.2.1.Types de phytothérapies

Il existe plusieurs types de phytothérapies :

- **L'aromathérapie**

Se fonde sur l'utilisation des essences de plantes ou des huiles essentielles des substances aromatiques secrétés par les plantes , ils sont souvent utilisés par voie cutanée.

- **La gemmothérapie**

Elle utilise les extraits alcooliques et glycérolés des tissus jeunes comme bourgeons.

- **L'homéothérapie**

A recours aux plantes d'une façon majoritaire et minoritaire dans les sources animales et minérales.

- **La phytothérapie pharmaceutique**

Elle repose sur des produits végétaux obtenus après extraction et par dilution.

- **L'herboristerie**

C'est la phytothérapie la plus ancienne, elle utilise la plante séchée ou fraîche.

I.2.2. Phytothérapie en Algérie

En Algérie, l'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques est une tradition. Les premiers écrits sur les plantes médicinales ont été faits aux IX^{ème} siècles par Isha BenAmran et Abdallah-Ben-Lounés (Benhouhou., 2015).

Ces dernières années, le nombre d'herboriste est de plus en plus croissant dans nos marchés et dont les connaissances scientifiques sur la phytothérapie demeurent limitées. En effet, 1926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales ont été enregistrés en 2009 selon le Centre national du registre de commerce.(Benhouhou., 2015).

I.3. La famille Cucurbitaceae

I.3.1. Généralité

Les cucurbitacées sont des plantes herbacées ou sous-ligneuses et grimpantes largement distribuées dans les régions tropicales et subtropicales, quelques espèces se rencontrent dans les régions tempérées. Cette famille est constituée de 118 genres et de 825 espèces.(Judd,2002).

Ces espèces sont généralement des dicotylédones grimpantes à croissance rapide (Quézel et Santa 1963).

Ces végétaux constituent une famille très importante grâce à leurs fruits et graines comestibles, appartenant à des genres comme *Cucurbita*(le potiron, la courge et la courgette), *Cucumis* (le melon, le concombre, le cornichon) et *Citrullus* (la pastèque).

Les fruits séchés de *Lagenaria* (la Calebasse) sont utilisés comme des poteries et les fruits secs de luffa constituent l'éponge végétale. Certaines comme *Momordica*, ont des propriétés médicinales (Judd, 2002).

I.3.2. Présentation du genre *Ecballium*

Ce sont des plantes monoïques ou dioïques, annuelles à vivaces. Ce genre n'a pas beaucoup de valeur horticole. C'est un genre d'une seule espèce, *Ecballium elaterium*, avec une sous-espèce monoïque et une sous-espèce dioïque. On les trouve dans les régions Méditerranéennes de l'Afrique du Nord et en Asie du Sud-ouest (Kubitzki, 2011).

I.4. Description botanique d'*Ecballium elaterium*

Ecballium elaterium (Figure1) est une plante médicinale sauvage limitée au bassin méditerranéen et cultivée en Europe centrale et en Angleterre (Ben-Yakir et al.,1996; Attard et Scicluna-Spiteri, 2001; Toker et al., 2003).



Figure1: *Ecballium elaterium*(Hammiche, 2003).

Ecballium elaterium également connue sous le nom de concombre d'âne. (Attard et Scicluna-Spiteri,2001). est une plante vivace, hérissée de poils raides, à tiges épaisses, couchées, sans vrilles, de 30 à 100 cm de longueur, portant des feuilles épaisses, triangulaires en cœur, sinueuses-dentées, épineuses et blanchâtres en dessous .Les fleurs jaunâtres, sont veinées de vert, et ont une longueur de 16 à 20 mm, la période de leur floraison s'étale d'avril à décembre avec un pic entre mai et août. Le fruit est ovoïde, charnu, hérissé, verdâtre, approximativement de 4 cm de longueur (Adwan et al., 2011).

I.5. Classification botanique

La systématique de cette espèce est présentée dans le tableau 1.

Tableau1: Classification taxonomique d'*Ecballium elaterium*(Lindley, 1836 ; Quézel et Santa, 1963)

| Rang taxonomique | Nomenclature |
|------------------|----------------------------|
| Règne | Plantae |
| Embranchement | Tracheophyta |
| Division | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Ordre | Cucurbitales |
| Famille | Cucurbitaceae |
| Genre | <i>Ecballium</i> |
| Espèce | <i>Ecballium elaterium</i> |

I.6. Usage traditionnelle d'*Ecballium elaterium*

La plante est connue comme herbe officinale d'une longue tradition et d'une grande variété d'utilisations en bassin méditerranéen. Elle est employée souvent dans l'hydropisie (œdème), particulièrement l'œdème pulmonaire et aussi en tant que révulsif dans les affections cérébrales, et partout où lorsque un effet hydragogue est indiqué (Agil et al., 1999).

En médecine populaire géorgienne, *Ecballium* est utilisée comme remède de la fièvre paludéenne. En homéopathie, elle est utilisée contre la diarrhée ou le cholera infantiles (Fahn et Shimony, 2001).

Les effets bénéfiques du jus frais ont été rapportés comme analgésique, antipyrétique et anti-inflammatoire). Le jus brut frais est employé fréquemment dans le traitement de la sinusite et de l'ictère par des aspirations nasales (Kloutsos et al., 2001).

I.7. Composition phytochimique d'*Ecballium elaterium*

Les plantes de la famille des cucurbitacées, sont connues par leurs production des triterpénoïdes de type cucurbitane. Le concombre d'âne a été la première famille dans laquelle une cucurbitacine fut isolée, un composé appelé (α -elaterine), identifié plus tard comme étant la cucurbitacine E. (Attard et Cuschieri, 2004). Les cucurbitacines sont des triterpénoïdes principalement tétracyclique, très oxygénés au goût amer, ces substances dérivent du squelette cucurbitane (Miro, 1995).

Les cucurbitacine E, B, D et I peuvent être retrouvés dans tous les organes végétaux de la plante tels que : racines, tiges, feuilles, fruits et fleurs. Deux cucurbitacine glycosidiques ont été isolée et caractérisée à partir du jus de fruit de la plante, il s'agit des cucurbitacines B et D avec le glucose comme partie glycosidique (Krätzner *et al.*, 2005).

En plus des triterpénoïdes, *Ecballium elaterium* produit un certain nombre de métabolites secondaires, représentés par les caroténoïdes (carotène) et des composés phénoliques à des concentrations moindres (Attard et Cuschieri, 2004).

II. METABOLITES SECONDAIRES

II.1. Généralités sur les métabolites secondaires

Ce sont toute molécule organique complexe présente chez les végétaux, qui est indirectement essentielle à leur vie et leur interaction avec l'environnement. (Poutrain, 2008). Les métabolites secondaires sont synthétisés par les plantes autotrophes à partir des métabolites primaires. (Boudjouref, 2011), on les trouve dans toutes les parties des plantes supérieures par faible concentrations différentes (Merghem., 2009).

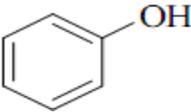
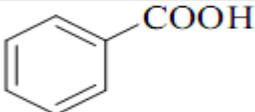
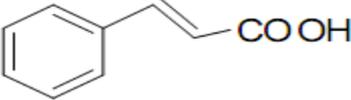
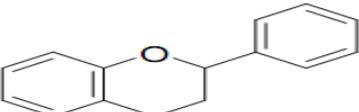
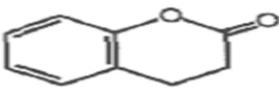
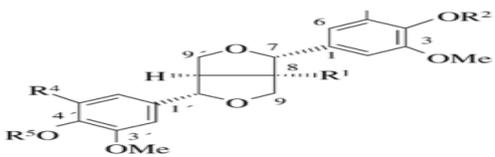
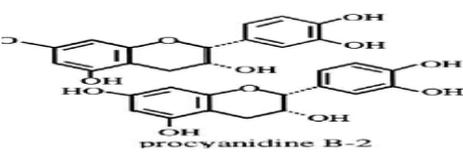
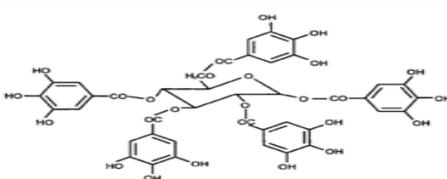
II.1.1. Les composés phénoliques

Sont considérés comme des composés quasi-universels des végétaux. Structuellement, ils se répartissent en plusieurs classes, allant de composés présentant un simple noyau phénolique à des composés polymériques complexes comme les tanins. Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. On les trouve d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes (Collin et Crouzet, 2011).

II.1.2. Classification des polyphénols

Les différentes classes des polyphénols sont regroupées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Les principales classes des composées phénoliques avec leur structure de base (Bravo, 1998 ; Freitas, 1995).

| Squelette carbonée | Classe | Structure de base |
|--------------------|--------------------------|---|
| C6 | Phénol simple |  |
| C6-C1 | Acide hydroxy-benzoïque |  |
| C6-C3 | Acide hydroxy-cinnamique |  |
| C6-C3-C6 | Flavonoïdes |  |
| C6-C3 | Coumarines |  |
| (C6-C2)2 | Lignanes |  |
| C15 | Tanins hydrolysables |  |
| C15 | Tanins condensés |  |

II.1.2.1. Les acides phénoliques

Se sont des dérivées de deux sous-groupes: les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide chlorogénique, et les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique (tableau 2). Ils sont retrouvés dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (Shahidi *et al.*, 1992).

II.1.2.2. Les flavonoïdes

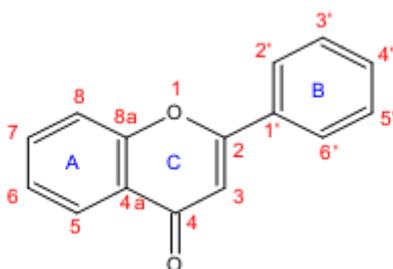


Figure2 : Squelette de base des flavonoïdes (Belyagoubi Née Benhammou, 2011)

Les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux, elles sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. (Mukohata *et al.*, 1978; Egert et Rimbach 2011). Elles se trouvent dans les légumes, les fruits, les graines, les boissons et le thé....etc.(Tsimogionnins et oreopoulou, 2006).

Les flavonoïdes participent dans la photosynthèse..dans la régulation de gènes et dans la croissance cellulaire (Mukohata *et al.*, 1978 ;Havsteen, 2002).

À l'heure actuelle, plus de 4000 composés flavoniques sont connus (Edenharder et Grunhage, 2003), avec une structure de base à 15 atomes de carbone sous la forme C6-C3-C6 .(Yao *et al.*, 2004).arrangés en 3 cycles à l'exception des chalcones (ouverture du cycle B):2 cycles benzoïques A et B et un hétérocycle C .(Shankari *et al.*, 2014). En se basant sur leurs structures, les flavonoïdes se divisent en plusieurs classes:anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes, isoflavanes ; flavanoles ; isoflavanoles ; flavanones ; isoflavanones ; auronnes (Caniet *al.*, 2007)(Figure 3).

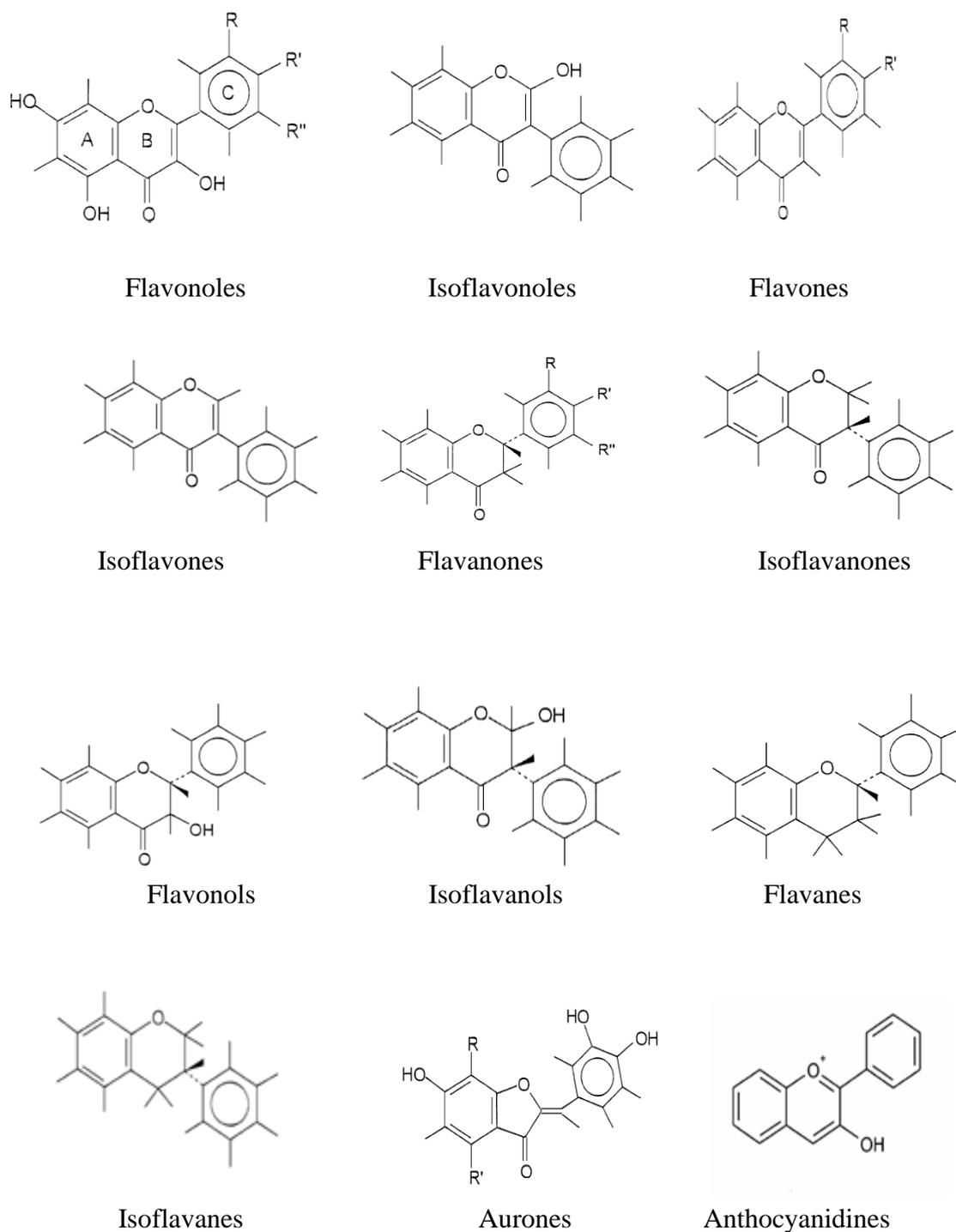


Figure 3: Structures des squelettes de base des flavonoïdes (Havsteen, 2002)

II.1.2.3. Tannins

Ce sont des métabolites phénoliques avec un poids moléculaire supérieur à 500 Daltons, caractérisés par leur capacité de précipiter la gélatine et d'autres protéines. (Bennick,

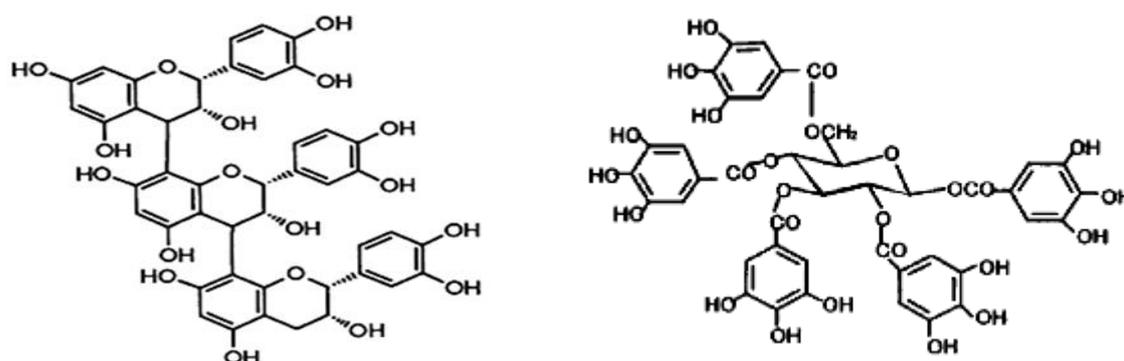
2002). Selon leur structure biochimique, il est usuel de distinguer deux classes : les tannins hydrolysables et tannins condensés.

a. Les tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des esters de glucose, c'est à dire un noyau central de glucose sur lequel se fixe, au moyen d'une liaison ester, des acides (acide gallique pour le groupe des gallotanins, et acide ellagique pour le groupe des ellagitanins). Leur hydrolyse, par des acides, des bases ou certaines enzymes, libère le glucose ainsi que les acides gallique ou phénolique liés (Chung *et al.*, 1998).

b. Les tannins condensés

De structure plus complexe, les tannins condensés (proanthocyanidines) sont de loin les tanins les plus largement rencontrés dans les plantes vasculaires, des dicotylédones aux plantes plus primitives, fougères et gymnospermes. Les proanthocyanidines sont des polymères de flavan-3-oles (Catéchine) et de flavan-3,4-dioles (leucoanthocyanidines), ou un mélange des deux (Chung *et al.*, 1998).



Tanin condensé (Yokozawa *et al.*, 1998)

Tanin hydrolysable (gallique) (Okuda., 2005)

Figure 4: Structure des tanins (Yokozawa., 1998; Okuda., 2005)

II.2. Les propriétés biologiques des polyphénols

Les études montrent que les polyphénols et notamment les flavonoïdes présentent divers propriétés physiologiques tels que les activités anti-allergiques, anti-thermogéniques, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antivirales, antibactériennes, anti-carcinogènes,

antithrombiques, hépatoprotectives, cardioprotectives et vasodilatoires(Middleton *et al.*,2000 ;Ksouri *et al.*,2007).

Les polyphénols intéressent particulièrement deux domaines: la phytothérapie et l'hygiène alimentaire .(Leong et Shui, 2002). Les industriels commercialisent des suppléments alimentaires enrichis en polyphénols pour assurer une meilleure conservation des denrées alimentaires et aussi pour empêcher la peroxydation lipidique et la formation des LDL oxydés grâce à leurs propriétés antioxydantes (Hannebelle *et al.*, 2004 ; Oskatabe *et al.*, 2001 ; Schroeter *et al.*, 2002 ; Valko *et al.*, 2006 ; Wu *et al.*, 2009 ; Yoshihara *et al.*, 2010).

Dans le domaine des cosmétiques, les polyphénols sont utilisés pour lutter contre la formation des radicaux libres néfastes pour la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, chaque classe est utilisée pour leurs propres bénéfices spécifiques (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres)(Hannebelle *et al.*, 2004).

Les flavonoïdes jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la lipoxigénase, la phospholipase et la cyclooxygénase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (Quercétine), des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et viraux (anti-HIV) (Anderson *et al.*, 1996 ; Cowan,1999 ; Yao *et al.*, 2004). Les tanins sont des substances vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques (Hennebelle *et al.*,2004).

Les acides phénoliques tel l'acide caféique est très efficace contre les virus,bactéries et champignons .(Cowan, 1999).Alors que, l'acide gallique a le pouvoir de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon.(Kawada *et al.*, 2001; Rangkadilok *et al.*, 2007).Il peut aussi prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire (Lee *et al.*, 2005).

III.LES ACTIVITES BIOLOGIQUES

III.1. Stress Oxydant

Le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production des radicaux libres en faveur de ces dernières (figure 5), ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles. Cette situation peut

être due à une diminution de la défense antioxydante ou à une augmentation de la production des radicaux libres (Favier.,2003).

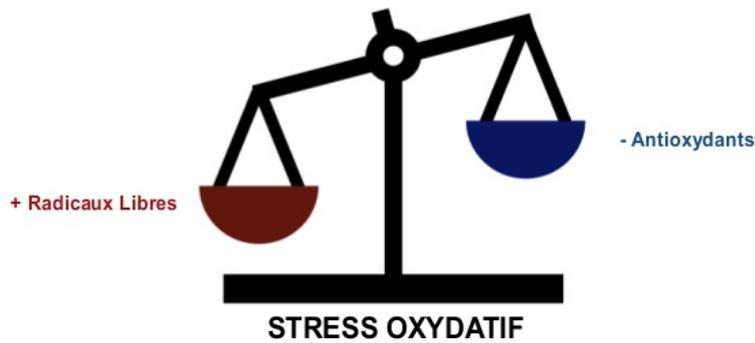


Figure 5: Schéma de la balance entre les espèces réactives oxygénées et les antioxydants.

III.1.2. Les radicaux libre

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Extrêmement instable. (Asmus et Bonifacic, 2000). Il apparaît soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) durant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction redox. En raison de leur haute réactivité, ce composé peut réagir avec des molécules plus stables pour appairer son électron en cédant un (réducteur) ou en donnant un électron (oxydant), ces derniers peuvent être classés selon la position de l'électron célibataire en espèces réactivées de l'oxygène (ERO) ou de l'azote (ERN). (Vamecq et *al.*, 2004). L'appellation ERO inclut les radicaux radicalaires comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle ($\bullet OH$) et non radicalaires telles que l'oxygène singulet (O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), se forment par la réaction de ces radicaux radicalaires sur les composés biochimiques de la cellule (Halliwell et Gutteridge., 1989).

Tableau3: Les principales espèces réactivées de l'oxygène (ERO)

| Espèces réactives | Réaction de formation | principales réactions | Références |
|--|--|--|---|
| Radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ | Formé par la réduction mono électrique de l'oxygène : addition d'un électron $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$ | Catalyseur de la réaction de Haber-Weib par recyclage de Fe^{2+} et Cu^+ ; formation du H_2O_2 et $ONOO^-$. | (Stief., 2003) |
| Peroxyde d'hydrogène H_2O_2 | Formé à partir de l'anion superoxyde, réaction catalysé par la superoxy de dismutase $O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} \xrightarrow{SOD, 2H^+} H_2O_2 + O_2$ | Formation du radical hydroxyle ; inactivation d'enzymes ; oxydation de biomolécules | (Karp.,2010) |
| Oxygène singulet $\bullet O_2$ | Formé par des réactions chimiques privilégiées, comme par exemple : $H_2O_2 + ClO^- \rightarrow H_2O + Cl^- + O_2$ | Réaction avec les doubles liaisons, formation de peroxydes, décomposition des aminoacides et nucléotides | (Kruidenier et Verspaget., 2002) |
| Radical hydroxyle $\bullet OH$ | formé par la réaction de <i>Fenton</i> à partir d' H_2O_2 en présence de métaux de transition $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow \bullet OH + Fe^{3+}$ | Abstraction de l'hydrogène production de radicaux libres et peroxydes lipidiques, oxydation des thiols | (Hennebelle., 2006) (Delattre <i>et al.</i> ,2005) |

III.1.3.Implication pathologiques du stress oxydatif

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant : la maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, vieillissement accéléré ou associé à des complications de l'évolution tels que le diabète, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose, l'asthme l'arthrite, la cataractogénèse et l'hépatite. (Packer et Weber,2001). Néanmoins, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux (Favier.,2003).

III.1.4. Mécanismes de défense contre le stress oxydatif

L'antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, elle est présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable. (Cano *et al.*, 2007). Les antioxydants sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres pour former d'autres radicaux plus stables.(Cano *et al.*, 2007)et protègent certaines vitamines. (Moure et

al.,2001),les antioxydants existent aussi comme additifs alimentaires qui augmentent la durée de vie de ces produits en les protégeant contre la détérioration (Durand et *al.* 2013).

III.1.4.1.Système antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques (le superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase, système thiorédoxine) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les espèces oxygénées réactives (Garait., 2006).

Le superoxyde dismutase (SOD) est une enzyme de nature métalloprotéines qui intervient dans l'explosion oxydative et piéger les radicaux libres, cette enzyme est chargée de réduire l'anion superoxyde. Son centre actif est un atome de manganèse ou une association de cuivre et de zinc en fonction du lieu où œuvrent ces enzymes (Cardey., 2007).

Le superoxyde dismutase inactive l'ion superoxyde (O_2^-) (point de départ de la chaîne de production des radicaux libres) en le transformant en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Celle-ci est ensuite rapidement catabolisée par la catalase et les peroxydases en dioxygène (O_2) et en molécules d'eau (H_2O) (Menvielle-Bourg., 2005).

Les glutathions peroxydase (GPxs) réduisent les peroxydes lipidiques formés par l'oxydation des acides gras insaturée. (Delattre et *al.*,2005).Système thiorédoxine dégrade des peroxydes lipidiques et le peroxyde d'hydrogène. Elle permet la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Hattori et *al.*,2003).

III.1.4.2. Système antioxydants non enzymatiques

III.1.4.2.1. Les antioxydants naturels

Ils incluent des espèces différentes (composés phénoliques, vitamines...etc.) qui sont d'origine végétale pour la plupart (Berger., 2005).

•**Acide ascorbique** (Vitamine C) est connu pour son rôle protecteur contre l'oxydation membranaire. Les propriétés antioxydantes de la vitamine C sont liées à sa capacité à donner des électrons (Pincemail et *al.*,1998).

•**Tocophérols** (Vitamine E) un antioxydant liposoluble joue également une action protectrice des structures membranaires et des lipoprotéines. Les propriétés antioxydantes de

la vitamine E sont liées à sa capacité à donner des protons (Rose et Bode., 1993).

• **Les caroténoïdes** sont des pigments orangés ou jaunes de nature liposolubles, ils appartiennent à la famille chimique des terpénoïdes. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de neutraliser les radicaux ROO•, HO•, O₂•- (Valko et *al.*, 2006).

• **Les composés phénoliques** : essentiellement

-**Les flavonoïdes** sont capables de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles moins réactifs, cette capacité peut être expliquée par leur propriété de donation d'un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle selon la réaction représentée ci-dessous (Amić et *al.*, 2003).



Leur capacité antioxydante réside aussi dans leur faculté à terminer les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (Leopoldini et *al.*, 2011 ; Schroeter et *al.*, 2002).

III.1.4.2.2. Les antioxydants synthétiques

Antioxydants synthétiques le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) sont les plus utilisés dans l'industrie agroalimentaire, ces deux additifs sont insolubles dans l'eau mais présentent une bonne solubilité dans les milieux lipidiques. (Manel, 2013). Sont fréquemment utilisés en tant qu'additifs pour prévenir le rancissement oxydatif des aliments, des produits pharmaceutiques et commerciaux. (Heloizy et *al.*, 2010). Les tests de cancérogénicité ont montrés que l'ajout de l'antioxydant BHA au régime alimentaire des rats induit une incidence élevée de papillome et de carcinome épidermoïde de l'estomac chez les deux sexes. Alors que le BHT provoque le cancer de la thyroïde (Lisu et *al.* 2003).

III.2. Activité antibactérienne

III.2.1. La résistance bactérienne aux antibiotiques

Une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylo-génétiquement liées (Boerlin et White, 2006).

L'étude de la résistance bactérienne a permis de faire de grandes découvertes concernant l'organisation de l'information génétique des bactéries, le contrôle de son expression. Pour le thérapeute, elle est aujourd'hui indispensable à connaître pour une meilleure utilisation des antibiotiques (Patzner et al., 2008).

La résistance aux antibiotiques est un phénomène universel, qui semble plus aigu dans certains pays en voie de développement du fait de la monotonie des antibiotiques utilisables. Dans les pays industrialisés, le même phénomène peut être décrit du fait de la pression sélective dans un hôpital donné, ceci a été bien démontré avec l'usage intensif en monothérapie (Bryskier, 1999).

III.2.1.1. Résistance naturelle ou résistance intrinsèque

La résistance intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne et partagée par toutes les souches de cette espèce. Elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce (Faure, 2009).

III.2.1.2. Résistance acquise

Elle est présente seulement chez certaines souches de l'espèce. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou d'une acquisition du matériel génétique étranger (Faure, 2009).

III.2.1.3. La Multi résistance

Il s'agit d'une terminologie très couramment utilisée même si elle ne répond pas à une définition univoque. Il est d'usage de parler de multi résistance pour « une bactérie qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique » ou pour « une bactérie résistante à au moins trois familles d'antibiotiques ». Ce terme s'emploie généralement pour une bactérie qui pose en général un problème de ressource thérapeutique (Fajardo et al, 2009).



Matériel et Méthodes



La partie matériel et méthodes évoque la méthode d'extraction que nous avons réalisé au niveau du laboratoire de biochimie appliquée, université des Frères Mentouri constantine 1. Ainsi que des techniques des travaux antérieures que nous voulions réaliser avant l'apparition de la pandémie covid 19 .

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal

Les parties aériennes de l'espèce *Ecballium elaterium* ont été récolté de la zone Hamma bouziane (Wilaya de Constantine) en pleine période de floraison (février 2020). Dans notre étude, nous avons sélectionné les parties tiges, feuilles et fleurs pour une extraction ultérieure.



Figure 6 : Localisation satellite de la zone de récolte de la plante du genre *Ecballium*.



Figure 7: lieu de récolte de la plante du genre *Ecballium*.

I.2. Réactifs chimiques et instrumentations

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits (Tableau 4) :

Tableau 4 : Réactifs chimique

| Produits | formule brute |
|--|---------------------------------|
| Dichlorométhane | CH ₂ Cl ₂ |
| Ethanol | C ₂ H ₆ O |
| Méthanol | CH ₃ OH |
| FCR (Folin-Ciocalteu réactif) | / |
| Carbonate de sodium | Na ₂ CO ₃ |
| 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) | / |
| diméthyle sulfoxyde (DMSO) | / |
| acide 2,2'-azinobis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS·+) | / |

I.3. Méthodes

I.3.1.Extraction des métabolites secondaires

Broyage

Les organes de la plante sélectionnée, ont été broyés, à l'aide d'un broyeur électrique, afin d'obtenir une poudre qui a servi pour la préparation des extraits. Après broyage, la poudre a été conservée dans des flacons, elle a été stockée soigneusement dans un endroit sec jusqu'à leur analyse.



A : les feuilles et les tiges



B : les fleurs

Figure 8: Les parties aériennes d'*Ecballium elaterium*

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules chimiques contenant dans la partie aérienne de la plante *Ecballium elaterium*, en utilisant des solvants sélectifs qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

Principe

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple, qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant sans ou avec agitation pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules. (Lagnika., 2005 ; Djabou., 2006).

Le protocole extractif a été effectué selon la méthode suivante:

Protocol

Trois solvants sont utilisés pour l'extraction des métabolites secondaires :

Dichlorométhane, méthanol, éthanol /eau (50%, 50%)

Tiges et feuilles

Une quantité de 258 g du matériel végétal broyé (tige et feuilles) est macérée dans 1000mL de dichlorométhane, pendant 24 h à température ambiante. Le mélange est récupéré après filtration sur papier filtre Whatman n°3 dans un erlenmeyer. La macération est renouvelée deux fois sur le résidu récupéré pendant deux jours successifs avec renouvellement du solvant de même mesure chaque 24h, pour permettre la solubilisation et l'extraction des métabolites secondaires. Les trois macéras filtrés sont réunis pour donner l'extrait dichlorométhane brut.

Le même procédé a été réalisé avec les deux autres solvants (MeOH et éthanol/eau) selon le schéma suivant :

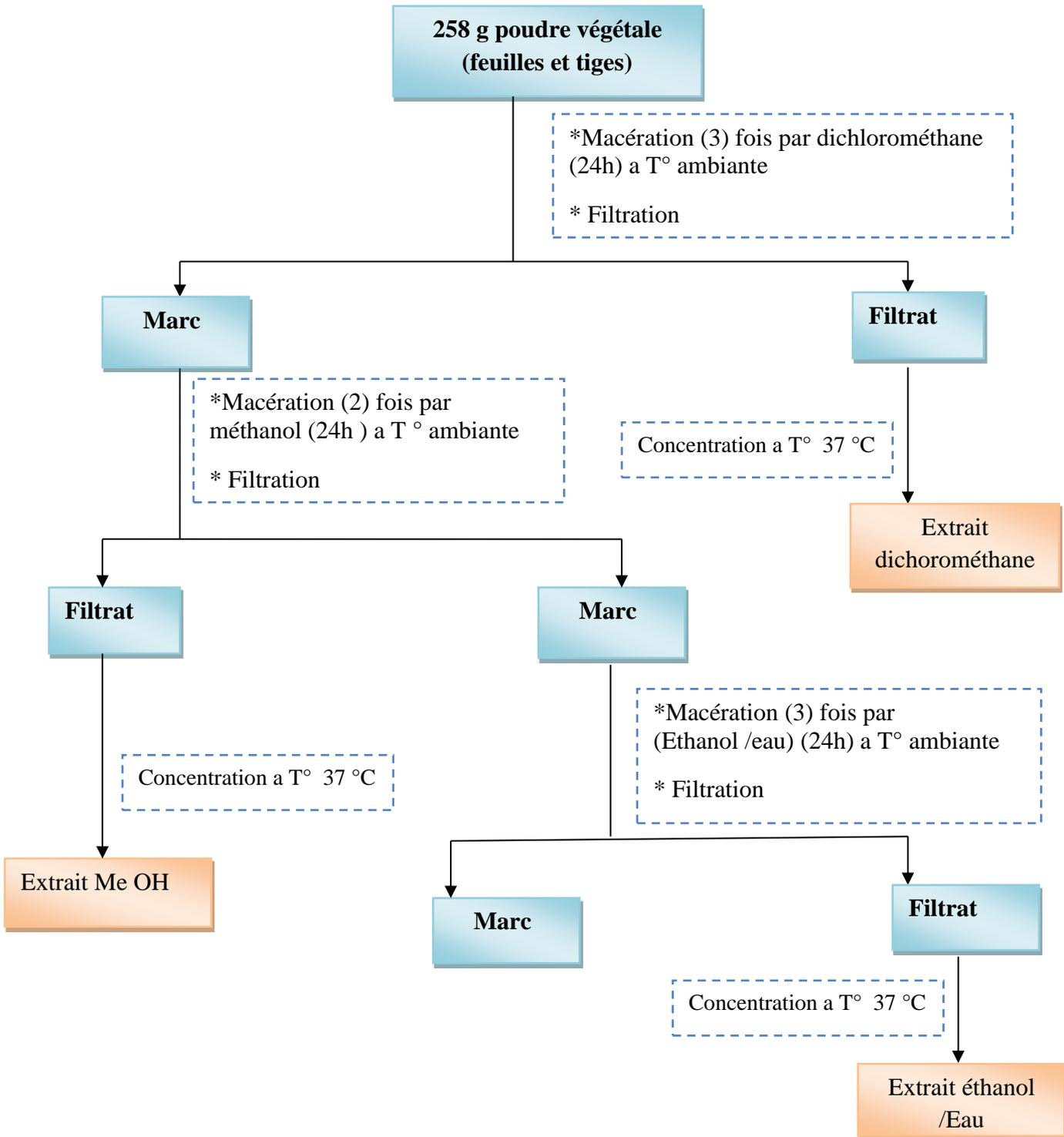


Figure 9 : Extraction des métabolites secondaire par des solvants de polarité croissante

✚ Fleurs

29 g des fleurs ont été séchées et broyées puis soumises à une extraction par macérations successives dans le dichlorométhane (3x150 mL). La macération a eu lieu à

température ambiante et à l'abri de la lumière. L'ensemble des 3 macérations a été filtré puis concentré à sec par un évaporateur rotatif donnant un extrait dichlorométhane. Le marc issu de la filtration a subi une deuxième macération (3x24h) dans le méthanol (3x150 mL) donnant après évaporation à sec un extrait méthanolique. Enfin une dernière extraction réalisée selon le même protocole par le mélange de solvant éthanol/eau (1:1) a permis d'obtenir un extrait hydro-alcoolique.

Il est à souligner qu'à cause de la pandémie COVID 19 et des restrictions sanitaires, nous n'avons pas pu peser la masse des extraits obtenus.

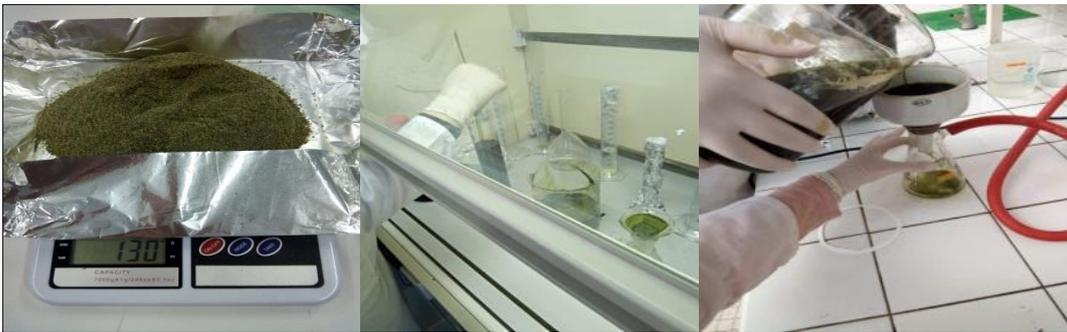


Figure 10: Etapes de macération et de filtration des parties aériennes de la plante

L'extrait brut obtenu est évaporé à sec (concentré) sous pression réduite à 37°C par un évaporateur rotatif (évaporateur rotatif).



Figure11: Procédé de concentration de l'extrait (évaporateur rotatif).

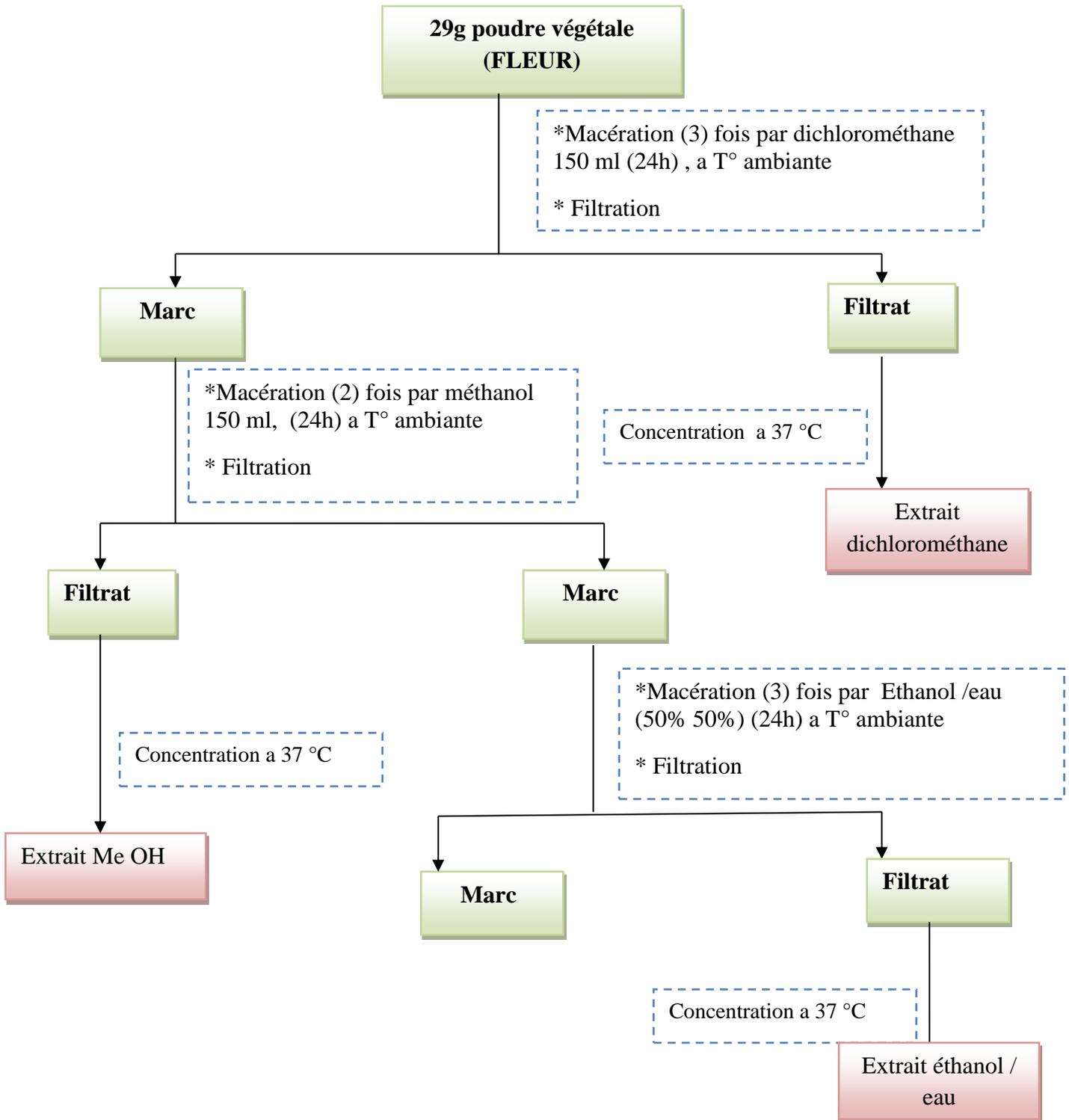


Figure 12 : Extraction des métabolites secondaire par des solvants de polarité croissante

I.3.2. Dosage des polyphénols totaux

✚ Principe

Le principe de cette méthode repose sur l'interaction des composés phénoliques avec le réactif Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Ce dernier est réduit, lors de l'oxydation des phénols entraînant la formation d'un complexe de couleur bleue. dont l'absorption est mesurable à 765 nanomètres, L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Bonnaillie et *al*, 2012)

✚ Mode opératoire

Le protocole utilisé pour le dosage des composés phénoliques totaux est schématisé dans la figure 13.

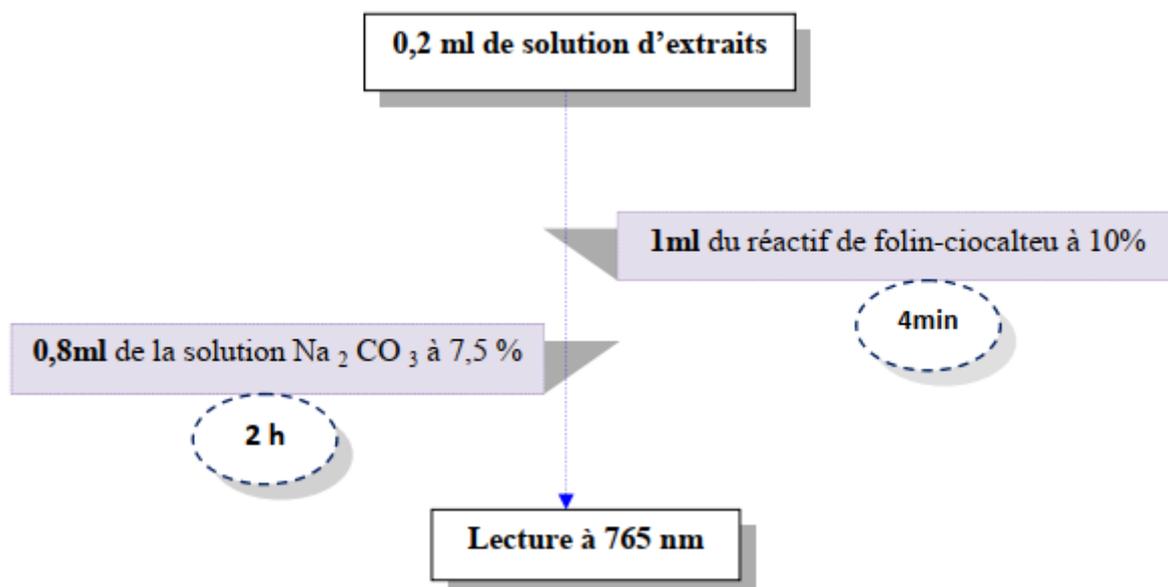


Figure 13 : Protocole de dosage des composés phénoliques (Wong et *al*,2006).

- Le blanc: contient 200 μ L d'éthanol, 1mL de folin et 800 μ L Na_2CO_3 .
- l'absorbance a été lue à 765nm.

✚ Expression des résultats

Les quantités des polyphénols totaux sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) à partir d'une courbe

d'étalonnage réalisé dans les mêmes conditions avec des concentrations précises d'acide gallique (20 -120 µg/mL), comme standard .

I.3.3. dosage des flavonoïdes totaux

✚ Principe

Les flavonoïdes de nos extraits sont déterminés par spectrophotométrie selon le protocole de Djeridane et *al.*, (2006). Le dosage des flavonoïdes repose sur leur aptitude à chélater les métaux (fer et aluminium), Cette propriété est propre aux groupements hydroxyles des phénols flavonoïdes capables de donner un complexe jaunâtre en présence d'aluminium, utilisé dans notre protocole sous forme de chlorure d'aluminium. (Ren et *al.*,2003). Le principe est basé sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium dont le maximum d'absorption est de 430 nm.

Mode opératoire

Le protocole de dosage des flavonoïdes est schématisé dans la figure 14.

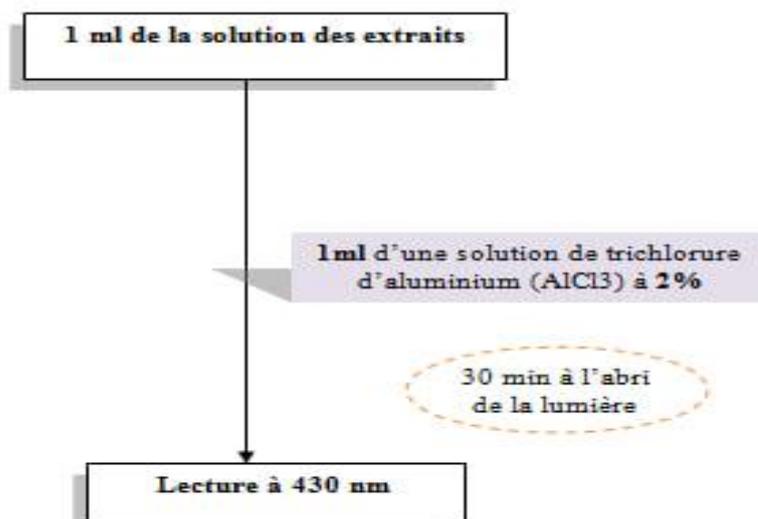


Figure 14 : Protocole de dosage des flavonoïdes totaux (Lamaison et al. 1990)

- Le blanc est préparé sans extrait.
- l'absorbance a été lue à 430nm.

Expression des résultats

La quantité de flavonoïdes totaux, exprimée en mg équivalents de Quercétine par gramme d'extrait, a été estimée à partir d'une droite d'étalonnage tracée en utilisant la quercétine comme standard.

I.3.4. Evaluation de l'activité antioxydantes

Afin d'évaluer l'activité antioxydantes, nous voulions utiliser l'acide ascorbique et la BHA comme des antioxydants de référence, pour apporter un point de comparaison avec les différents extraits.

Effet « scavenging » du radical DPPH

a) Principe

Le DPPH est un radical libre organique stable, généralement utilisé pour évaluer les propriétés anti-radicalaires de toute substance *in-vitro*. (Bozin et *al.*,2008).En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 diphenyl-1- picrylhydrazyl) de couleur violette (forme oxydé) se réduit en 2,2 Diphenyl-1- picryl hydrazine de couleur jaune (Porpovic *etal.*,2009).

L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre à 517 nanomètres, est inversement proportionnelle à l'activité anti-radicalaire des composés dont on souhaite déterminer l'activité (Kouamé et *al.*, 2009).

b) Mode opératoire

Nous voulions utiliser la méthode décrite par Blois, (1958) in Wu et Ng, (2008) pour évaluer l'activité anti-radicalaire des extraits d'*Ecballium elaterium*. Toutes les étapes sont schématisées dans la figure 15.

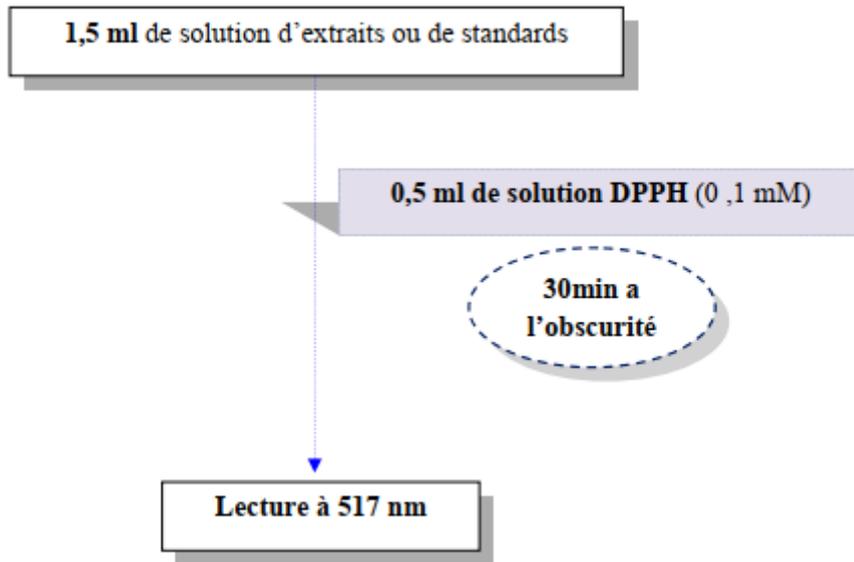


Figure 15 : Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH (Wu et Ng, 2008)

- L'hydroxyanisole butylé (BHA) a été utilisé comme standard.
- L'absorbance a été mesurée à 517nm contre un blanc préparé dans l'éthanol sans l'échantillon

c) Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH (%) est calculé selon la formule suivante :

$$PI (\%) = [Abs T - (Abs E - Abs B) / Abs T] \times 100$$

Où :

PI(%): pourcentage d'inhibition du radical DPPH;

Abs T : Absorbance du témoin (éthanol + DPPH) ;

AE : Absorbance d'échantillon (Extrait + DPPH) ;

AB : Absorbance de blanc et d'échantillon (Extrait + éthanol).

L'étude de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits nous a permis de déterminer les concentrations qui inhibe 50% (IC₅₀) du radical DPPH. Plus la valeur de l'IC₅₀ est faible plus l'activité d'extrait est élevée.

✚ **Activité « scavenging » du radical ABTS⁺**

a) Principe

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical ABTS + de coloration bleu verte en le transformant en ABTS -H+ incolore. La disparition de la coloration bleu verte peut être suivie par la mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 734 nm. (Re et *al.*,1999). La diminution de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre.

b) Mode opératoire

Le protocole préconisé par Re et *al.* (1999) est représenté dans la Figure 16.

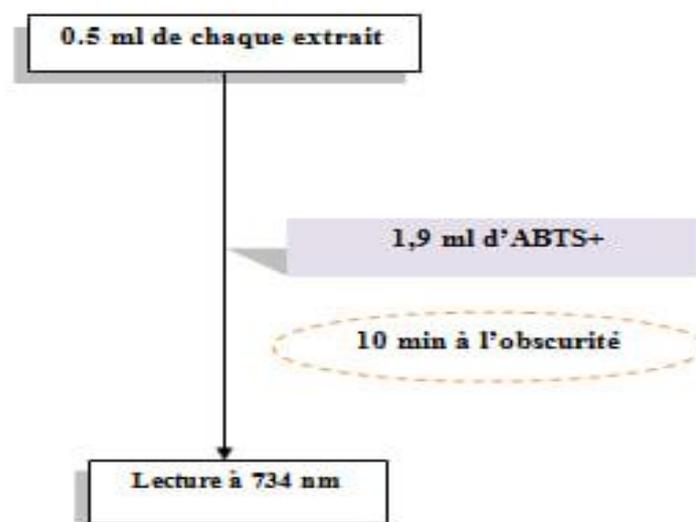


Figure 16 : Protocole d'étude de l'activité antioxydant par l'ABTS+ (Re et *al.*, 1999)

- La solution d'ABTS a été préparée par le mélange d'une solution d'ABTS (7 mM) préparé dans de l'eau distillée avec une solution de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) à une concentration de 2,5 mM. Le mélange a été laissé incubé pendant 16h à l'abri de la lumière pour la formation du radical ABTS +. La solution d'ABTS ainsi obtenu a été diluée avec de l'eau distillée jusqu'à obtention d'une absorbance d'environ 0.7 à 734 nm.
- Le Trolox a été utilisé comme standard

c) Expression des résultats

Le pourcentage d’inhibition du radical cation ABTS+(%) est calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'inhibition du radical cation ABTS}^+ = \frac{(\text{Abs t} - \text{Abs e})}{(\text{Abs t})} * 100$$

PI(%) : pourcentage d’inhibition.

Abs t: absorbance de la solution de radical ABTS sans extrait.

Abs e: absorbance de la solution du radical ABTS en présence de l’extrait

- La diminution de l’absorbance causée par l’antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre.

I.3.5. Activité Antimicrobienne

I.3.5.1. Activité Antibactérienne

✚ Les souches bactériennes testées

Dans notre étude, nous avons sélectionné trois souches bactériennes dont un Gram positif et deux Gram négatif (tableau 5).

Tableau 5 : Liste de souches bactériennes testées.

| Nom de la souche | Gram | Respiration | Famille |
|-------------------------------|------|----------------------------|---------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | + | Aéro -anaérobie facultatif | <i>Staphylococcaceae</i> |
| <i>Escherichia coli</i> | - | Aérobie | <i>Enterobacteriaceae</i> |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - | Aérobie | <i>Pseudomonadaceae</i> |

✚ Tests de l’activité antibactérienne

L’évaluation de l’activité antibactérienne de l’extrait brute est réalisée selon la méthode de diffusion sur disques Ces derniers sont imbibés de 10µL de l’extrait.

✚ Evaluation de l’activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Cette méthode permet d’évaluer l’activité antibactérienne d’un extrait, bien qu’elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape

préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. La technique utilisée est une modification de la méthode de Sokmen (2004). Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé d'extrait, sur un tapis bactérien au tout début de sa croissance et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de l'extrait est ainsi déterminé (figure 17).

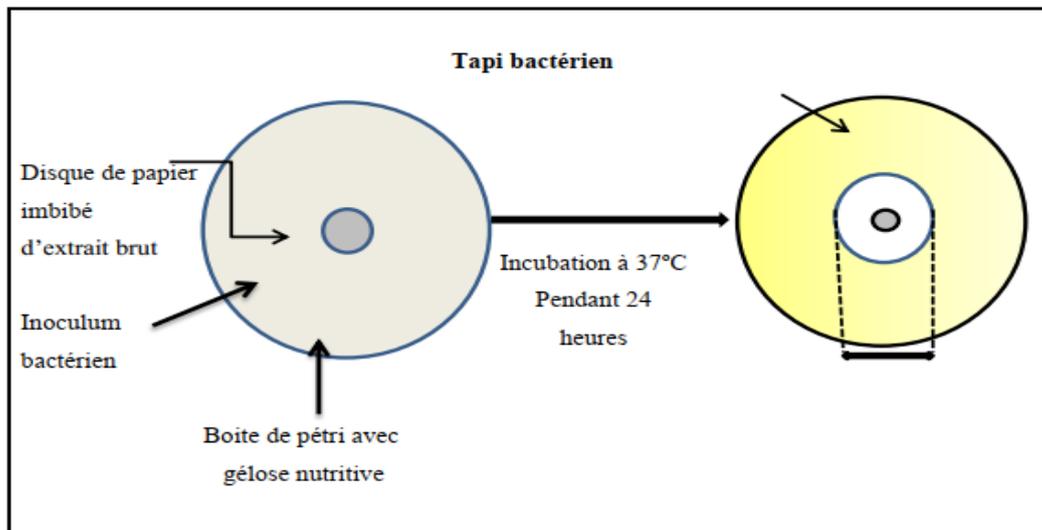


Figure 17: Présentation de la méthode de diffusion sur disque.

✚ Préparation des dilutions d'extrait d'*Ecballium elaterium*

Les extraits d'*Ecballium elaterium*, ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO). Ce choix a été fait, parce que, le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, notamment, (Zaika, 1988) qui a prouvé que le DMSO n'a aucun pouvoir antibactérien puissant. Pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi, sachant que la concentration de la solution mère de l'extrait est $C1 = 12,5 \text{ mg/mL}$, comme suit :

$C2 = 6,25 \text{ mg/mL}$

$C3 = 3,125 \text{ mg/mL}$

$C4 = 1,562 \text{ mg/mL}$

✚ Préparation de l'inoculum

Afin d'optimiser la croissance bactérienne, les souches ont été ensemencées dans des milieux de croissance pendant 24 h, puis prélevées à l'aide d'une anse.

Décharger l'anse dans 10 mL d'eau distillée stérile, la suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 10Mc Farland.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il trop fort.

Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur des boîtes de pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois.

L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de pétri avec la même souche. Les disques imprégnés d'extrait sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques (témoin positif) dans ce cas utilisé l'amoxicilline appropriés prêts à l'emploi, ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés et les disques Wattman imprégnés de DMSO (témoin négatif).

Finalement, les boîtes de pétri sont incubées dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques.

I.3.5.2. Activité Antifongique

Pré culture des souches fongiques

200 mL du milieu de culture PDA est coulé dans des boîtes de pétri pour la multiplication des souches fongiques testés, des disques mycéliens sont prélevés par pipettes pasteur stériles à partir des boîtes déjà cultivés, les boîtes sont incubés à l'étuve à 27° C pendant 4 jours.

✚ Préparation de Tween 80

Dans un tube à essai stérile mélanger 1mL de Tween avec 20mL d'eau distillé stérile puis agiter.

✚ Préparation de la solution mère de l'extrait

- Dissoudre 200mg des trois extraits dans 1mL de DMSO.
- Faire une agitation continue jusqu'à dissolution complète.

✚ Dilution de l'extrait aqueux

Dans ce travail, la dilution au demi-est utilisée sur 5 tubes hémolysé stérile contenant 0.5mL DMSO, les tubes sont ensuite agités pour homogénéiser le mélange, les étapes sont schématisées dans la figure 18.

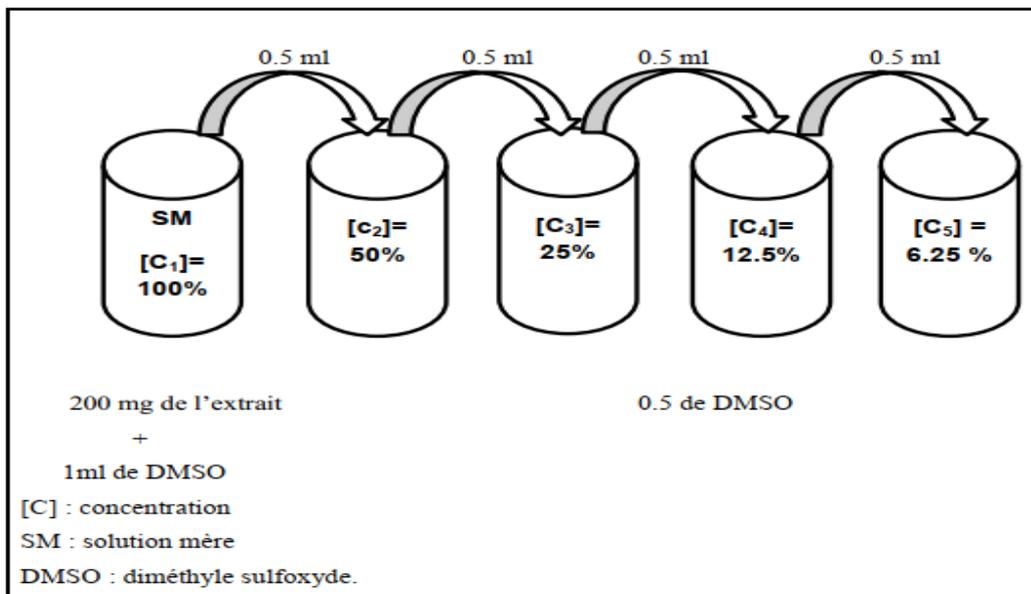


Figure 18: Les étapes de dilution de l'extrait

✚ Préparation de mélange (PDA+ extrait)

0.5 mL de la solution mère (SM) a été mélangé avec 1.5 mL de Tween et 48ml de PDA stérile. L'opération est répétée pour toutes les solutions (C2, C3, C4 ; C5). Le mélange est par la suite agité quelques minutes pour l'homogénéiser. Dans la paillasse désinfectée, les mélanges sont coulés dans les boîtes de pétrie (Diamètre de 80mm), qui sont opérationnel après le refroidissement et la solidification.

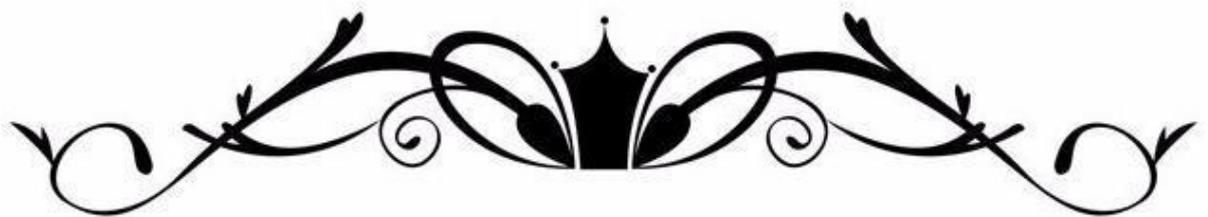
Evaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct

Pour la réalisation de l'activité antifongique, nous avons opté pour la méthode de contact direct. Le but de ce test, consiste à déterminer la sensibilité des souches fongiques : *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*, *solani* et *Fusarium solanivar*.

À l'aide d'une pipette pasteur de 6mm de diamètre, un disque mycélien est prélevé de la souche à partir d'une boîte cultivé, le disque est inoculés au centre de la boîte de pétri renfermant le mélange «PDA + Eq» (1disque/boîte), la même opération est répétée pour les autres souches fongiques. Les boîtes sont incubées à l'étuve à 27°C pendant 7 jours. Le témoin est réalisé dans les mêmes conditions opératoires mais sans extrait et les mesures sont enregistrées après 24h d'incubation.



Résultats et Discussion



Dans notre étude, nous avons réalisé une extraction solide-liquide de la plante *Ecballium elaterium* en utilisant des solvants à polarité croissante notamment : dichlorométhane, méthanol et éthanol/eau. Toutefois, les mesures sanitaires prises lors de l'apparition de la pandémie COVID 19, ne nous ont pas permis d'évaluer le rendement d'extraction des trois extraits obtenus et nous ont incité à réaliser une étude comparative sur certains résultats réalisés antérieurement sur cette espèce.

I.Rendement d'extraction

Première étude

Les résultats obtenus par Bouzid et Berrehrah, (2018) ont montré que les rendements d'extractions étaient importants puisqu'ils dépassent les 20% dans les quatre parties. Le rendement le plus élevé a été enregistré dans les feuilles dont le taux d'extraction est de 31.28% par rapport à la matière sèche.

Les trois autres parties : tige, racine et fruit ont donné des taux d'extraction très proches de l'ordre de 24.12, 24.08 et 22.99%, respectivement (Figure 19).

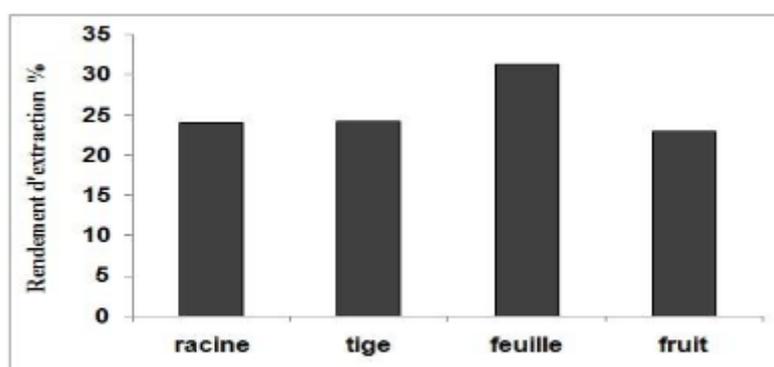


Figure 19: Rendement d'extraction (%) des composés phénoliques des différentes parties (racine, tige, feuille et fruit) d'*Ecballium elaterium* (Bouzid et Berrehrah, 2018).

Deuxième étude

Les résultats obtenus par El-haci et Atikbekkara, (2016) ont montré que la plante étudiée présente des rendements en extrait sec plus ou moins élevés avec une légère prédominance du rendement obtenu dans la partie feuille par rapport à la partie tige (19.5% et 17,8%, respectivement).

En comparant les résultats du rendement d'extraction des métabolites secondaire des différentes parties (feuilles, tiges) obtenu par Bouzid et Berrehrah, (2018) a ceux obtenu par El-haci et Atikbekkara,(2016), on constate que ce dernier a donné un taux d'extraction de (19.5% et 17,8%) pour les feuilles et tiges respectivement, ce qui est inférieur a celui obtenu par Bouzid et Berrehrah, (2018).

On suppose que cette différence peut s'expliquer par plusieurs raisons tels que :

- ✓ la différence entre les zones de récolte de la plante.
- ✓ les conditions d'extractions en question, semblent être également un facteur influençant le taux d'extraction des composés phénoliques, en effet dans l'étude de El-haci et Atikbekkara,(2016) la macération dure trois heures contrairement à Bouzid et Berrehrah, (2018) qui ont réalisé une macération pendant 72heures avec renouvellement de solvant, mais aussi le solvant utilisé dans le protocole d'extraction des métabolites secondaire. En effet, les auteurs de la deuxième étude ont utilisé le mélange éthanol : eau (70 :30)(v :v), l'éthanol est considéré comme le solvant le plus approprié pour extraire une quantité maximale de composés phénoliques et possède une faible toxicité en comparaison à celle du méthanol utilisé dans le protocole suivi par la deuxième étude.

Nous concluons que la valeur du rendement dépend de plusieurs facteurs tels que : structure et pH du sol, salinité du lieu de récolte, température, air, altitude...etc. Comme elle peut être liée aux conditions expérimentales (Penchev et *al.*, 2010).

II. Dosage des composés phénoliques

II.1. Teneur en polyphénols totaux

Première étude

Les résultats obtenus par Bouzid et Berrehrah, (2018) ont montré que l'extrait obtenu à partir du fruit a donné le taux le plus élevé en composés phénolique qui est de l'ordre de 116.05 ± 1.82 mg EAG/g d'extrait sec, par rapport aux autres parties de la plante. Les extraits des racines et feuilles ont donné des taux très proches qui ne présente pas une différence significative et qui sont de l'ordre de $38,38 \pm 3,09$ et $37,03 \pm 2,92$ mgEAG/g d'extrait sec. Enfin, l'extrait des tiges a donné le taux le plus bas en termes de composé phénolique avec $26,12 \pm 1,85$ mg EAG/g d'extrait sec (Figure 20).

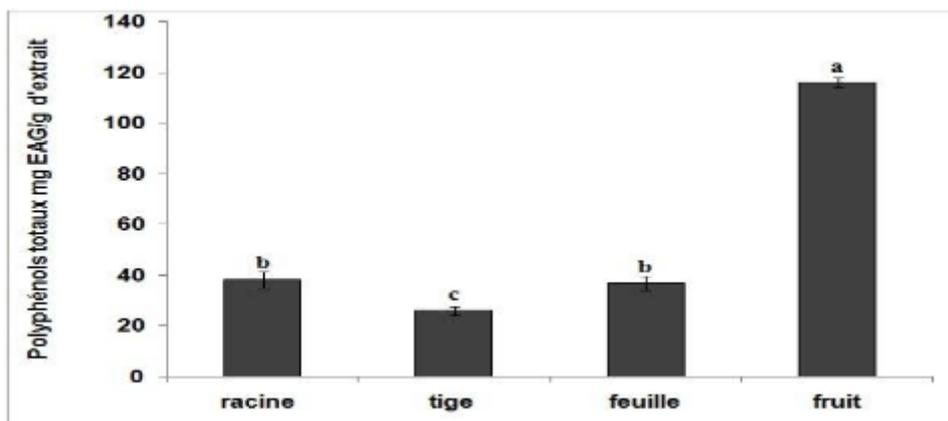


Figure 20: Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits d'*Ecballium elaterium*(Bouزيد et Berrehrah, 2018)

Deuxième étude

Les résultats obtenus par El-haci et Atikbekkara, (2016) ont montré des teneurs variées en polyphénols, à savoir $48,22 \pm 7.5$ mg GAE/g et $10,71 \pm 1.35$ mg GAE/g, pour les feuilles et les tiges, respectivement (Figure 21).

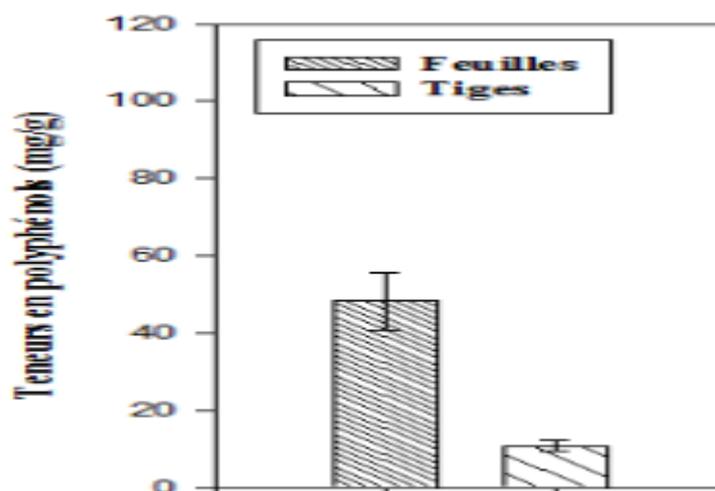


Figure 21: Teneurs en polyphénols totaux d'*Ecballium elaterium*(El-haci et Atik bekkara2016).

En comparant les résultats du dosage des polyphénols totaux des différents extraits d'*Ecballium elaterium* obtenu par Bouزيد et Berrehrah, (2018)et ceux obtenu par El-haci et Atikbekkara,(2016),nous avons constaté que l'extrait brut méthanolique des feuilles de la deuxième étude a donné le taux le plus élevé en polyphénols qui est de l'ordre de $48,22 \pm 7,5$

mg GAE/g d'extrait sec, par rapport à l'extrait brut hydro alcoolique(éthanol/eau) (70 :30)des feuilles de Bouzid et Berrehrah, (2018).Avec $37,03 \pm 2,92$ mgEAG/g.

Tandis que, l'extrait méthanolique des tiges de la deuxième étude a donné un taux en composés phénoliques plus bas que celui enregistré par l'extrait hydro-alcoolique de la première étude avec des valeurs de l'ordre de $10,71 \pm 1.35$ mg GA /g et 26.12 ± 1.85 mg EAG/g respectivement.

On suppose que cette variation est probablement due à plusieurs facteurs, tels que :

- ✓ la méthode d'extraction,
- ✓ le type de solvant d'extraction utilisé (éthanol à 70%, méthanol à 70%)
- ✓ la différence de la zone de récolte de la plante,
- ✓ les conditions climatiques.

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant la croissance de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (Fadili et *al.* 2017).La teneur phénolique d'une plante dépend aussi d'un certain nombre de facteurs tels que ; le moment de la récolte, le solvant d'extraction, les conditions de stockage (Fadili et *al.*, 2015).

II.2.Teneur en flavonoïdes totaux

Première étude

Les résultats obtenus par Bouzid et Berrehrah, (2018) ont montré que la teneur en flavonoïdes la plus élevée a été obtenu avec l'extrait des fruits (211.34 ± 3.8 mg EQ/ g d'extrait), suivi de celle de l'extrait de la tige ($96,68 \pm 1.12$ mg EQ/g d'extrait sec),et de celle de l'extrait des feuilles ($69,34 \pm 4.63$ EQ/g d'extrait sec). Enfin, la teneur la plus faible en flavonoïdes a été enregistrée avec l'extrait des racines avec un taux de $15,63 \pm 0,82$ mg d'extrait sec (Figure 22).

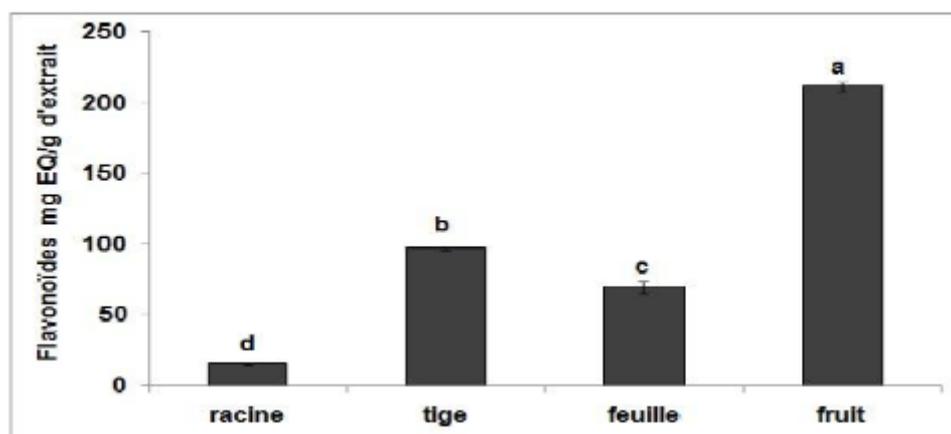


Figure 22: Teneur en flavonoïdes des extraits des quatre parties d'*Ecballium elaterium*(Bouزيد et Berrehrah, 2018)

Deuxième étude

Les résultats obtenus par El-haci et Atikbekkara, (2016) ont montré des teneurs variées en flavonoïdes, à savoir $45,43 \pm 6,38$ mg CEQ/g et $5,45 \pm 1,29$ mg CEQ/g, pour les feuilles et les tiges, respectivement (Figure 23).

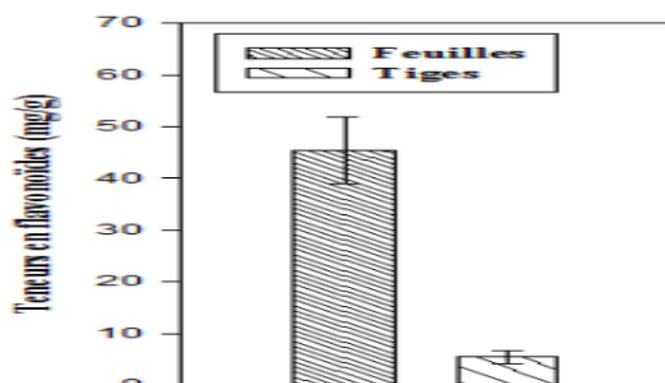


Figure23:Teneur en flavonoïdes totaux d'*Ecballium elaterium*(El-haci et Atikbekkara, 2016)

En comparant les résultats du dosage des flavonoïdes totaux des différents extraits d'*Ecballium elaterium* obtenu par les deux études citées ci-dessus, nous avons constaté que les extraits hydroalcoolique (éthanol /eau) (70 :30)de Bouزيد et Berrehrah, (2018) ont donné des teneur en flavonoïdes totaux les plus élevées avec ($96,68 \pm 1.12$ mg EQ/g d'extract sec), et de ($69,34 \pm 4.63$ EQ/g d'extract sec) pour les tiges et les feuilles respectivement par

rapport a ceux obtenu parles extraits méthanolique de tiges et de feuilles de El-haci et Atikbekkara,(2016) .

Il ressort de ces résultats que les extraits d'*Ecballium elaterium* de la première étude récolté dans la localité de d'Elkseur (Bejaia) est plus riche en flavonoïdes que celle récolté à Tlemcen par la deuxième étude .

Cette différence peut s'expliquer par plusieurs raisonsnotamment :

- ✓ le lieu de récolte,
- ✓ l'altitude...etc.

III. Evaluation des activités biologiques

III.1. Evaluation du potentiel antioxydant

Activité scavenger du radical DPPH

Première étude

Les résultats de Bouzid et Berrehrah, (2018) ont montré que tous les extraits d'*Ecballium elaterium* présentent une très faible activité inhibitrice vis-à-vis du radical DPPH par rapport au témoin BHA.La racine et les feuilles ont présenté l'activité la plus élevée. En effet,a une concentration de 0,05(mg/mL), les pourcentages d'inhibition du radical DPPH étaient de l'ordre de $57,61 \pm 0,69\%$ et $55,63 \pm 0,98\%$ respectivement pour les extraits de la racine et des feuilles. Toujours pour la même concentration, l'extrait des fruits a donné un pourcentage d'inhibition de $43,71 \pm 1,73$. Enfin, l'extrait de la tige a donné le plus faible pourcentage $18,25 \pm 3,01\%$. Cependant, ce pourcentage augmente pour atteindre $98.98 \pm 3.52\%$, mais à une concentration beaucoup plus élevée qui est de 1 (mg/mL) (Figure 24).

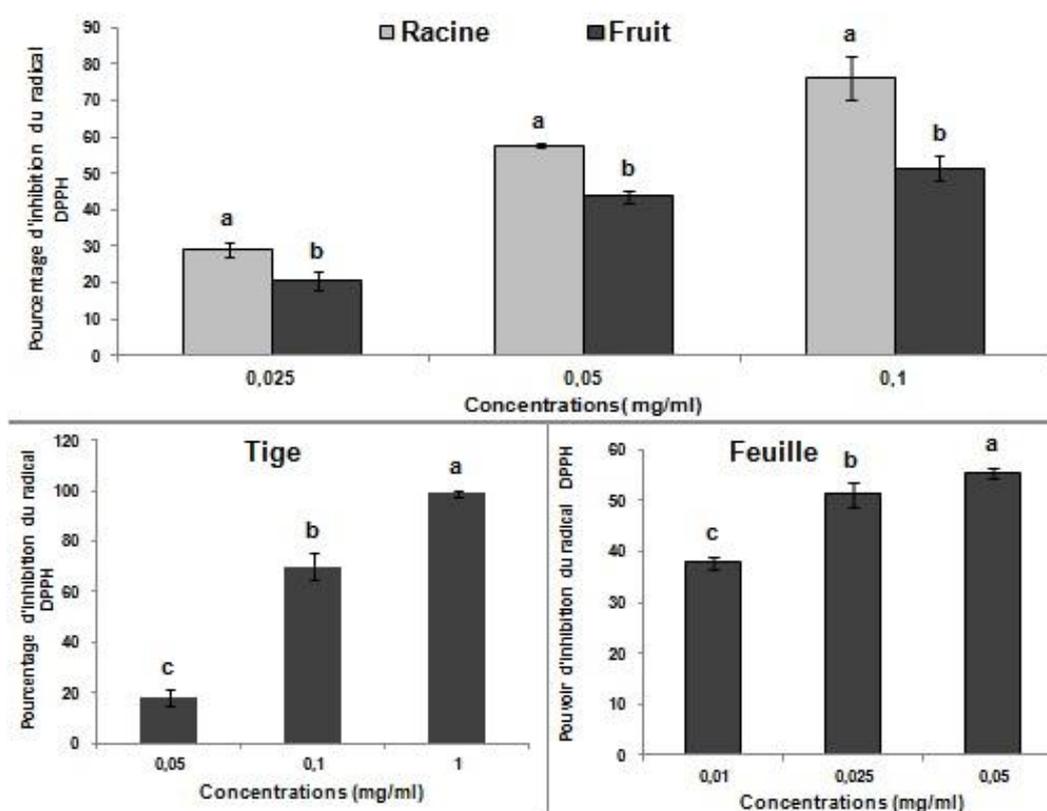


Figure 24: Pourcentages d’inhibition du radical DPPH par les extraits des quatre parties d’*Ecballium elaterium* à différentes concentrations (Bouزيد et Berrehrah, 2018).

La capacité antioxydante des différents extraits d’*Ecballium elaterium* ainsi que du standard (BHA) est exprimée en IC₅₀ (Tableau 6) qui est la concentration qui réduit 50% du radical DPPH. Plus l’IC₅₀ est faible plus l’activité antioxydante est puissante.

Le standard BHA a donné la meilleure capacité réductrice avec un IC₅₀ de l’ordre de 0,011 ± 0,0001 (mg/mL). Concernant les extraits des quatre parties d’*Ecballium elaterium*, c’est l’extrait de la feuille qui a donné l’IC₅₀ le plus bas avec 0,016 ± 0,006 (mg/mL). Les extraits de la racine, du fruit et de la tige ont exhibé des IC₅₀ respectivement de l’ordre de 0,041 ± 0,002 (mg/mL), 0,041 ± 0,011 (mg/mL) et 0,068 ± 0,004 (mg/mL). Ces résultats exprimés en IC₅₀ confirment ceux cités précédemment concernant les pourcentages d’inhibition du radical DPPH par les quatre extraits.

Tableau 6 : Valeurs des IC₅₀ des différents extraits d’*Ecballium elaterium* et du BHA lors de la réduction du radical DPPH (Bouزيد et Berrehrah, 2018).

| Extrait | Racine | Tige | Feuilles | Fruit | BHA |
|--------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
| IC ₅₀ (mg/mL) | 0,041 ± 0,002 | 0,068 ± 0,004 | 0,016 ± 0,006 | 0,041 ± 0,011 | 0,011 ± 0,0001 |

Deuxième étude

Un autre résultat obtenu par El-haci et Atikbekkara, (2016) montre que :

- ✓ La phase acétate d'éthyle de la partie feuille (Figure 25) à une activité élevée de piégeage du radical DPPH \cdot , ceci est démontré par l'allure du graphe qui trace une courbe exponentielle avec la présence d'une phase stationnaire, qui définit la réduction presque complète du DPPH \cdot en sa forme non radicalaire. En ce qui concerne la partie tige, cette fraction n'a pas présenté une grande activité inhibitrice vis-à-vis du radical DPPH \cdot .
- ✓ La phase butanolique de la partie feuille (Figure 25) a une activité élevée de piégeage du radical libre DPPH \cdot , du fait qu'elle a tracé une courbe exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui définit la réduction presque totale du DPPH \cdot . Par ailleurs, la partie tige a présenté une faible activité vis-à-vis du radical DPPH \cdot .

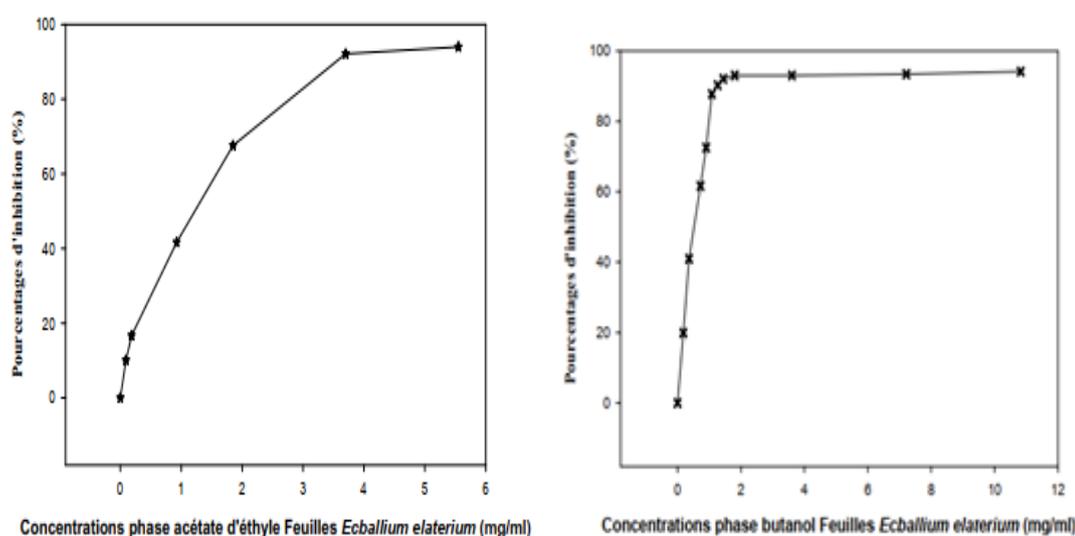


Figure 25: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les deux fractions acétat d'éthyle et *n*-butanol pour la partie feuille d'*Ecballium elaterium* (El-haci et Atik bekkara,2016)

Les valeurs des IC₅₀ sont données dans le tableau 7.L'acide ascorbique présente une activité anti radicalaire la plus élevée avec une valeur de 2,97 µg/mL, donc les deux fractions organiques ont présenté une activité anti radicalaire moyenne avec une activité assez élevée de la fraction butanolique.

Tableau 7: Valeurs des IC₅₀ trouvées pour les fractions acétate d'éthyle et n-butanol des deux parties, feuille et tige, d'*Ecballium elaterium* (El-haci et Atikbekkara, 2016)

| | | Phase acétate d'éthyle | Phase butanolique |
|------------------|----------|--|-------------------|
| | | IC ₅₀ exprimées en µg/ml [Concentrations finales] | |
| <i>Ecballium</i> | feuilles | 39,60 | 14,54 |
| <i>elaterium</i> | Tige | N.D | N.D |
| Acide ascorbique | | 2.97 | |

En comparant les résultats de la capacité des extraits d'E.Ea neutralisé le radical DPPH obtenu par El-haci et Atikbekkara, (2016) (Tunisie) et ceux obtenus par (Bouزيد et Berrehrah, 2018). D'Elkseur (Bejaia) nous pouvons constater que tous les extraits des feuilles d'EE Présentent une activité antioxydante contre le radical libre DPPH[•] avec des variations dans le pourcentage d'inhibition du radical DPPH et les valeurs d'IC₅₀.

On suppose que, la présence d'une activité antioxydante dans tous les extraits des feuilles d'E.E dépend :

- ✓ d'une manière directe des concentrations utilisées qui mettent en relation la présence des composés phénoliques qui peuvent réduire le radical DPPH

L'absence de l'activité antioxydante contre le radical libre DPPH dans les extraits de la tige peut s'expliquer par :

- ✓ la spécificité des solvants d'extraction
- ✓ la période et le lieu de récolte
- ✓ la maturation de la plante

✚ **Activité scavenger du radical ABTS**

Selon les résultats de (Bouزيد et Berrehrah, 2018). L'activité anti-radicalaire des extraits d'*Ecballium* a été aussi évaluée par le test de l'ABTS. Comme le montre la figure 26, les résultats indiquent que tous les extraits des différentes parties d'*Ecballium elaterium* ont montré une capacité antioxydante élevée.

L'activité scavenger du Trolox vis-à-vis du radical ABTS a été aussi testée.

A partir des résultats obtenus, il a été constaté que la capacité des extraits à piéger le radical ABTS augmente avec l'augmentation de la concentration. A la concentration de 5mg/mL, l'effet scavenger contre le radical ABTS le plus puissant a été observé avec l'extrait du fruit

avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de $97,59 \pm 0,10\%$. Les extraits de la tige et des feuilles ont donné des pourcentages d'inhibition proche qui sont respectivement de l'ordre de $92,60 \pm 0,18\%$ et $87,36 \pm 0,48\%$. L'activité inhibitrice la moins élevée a été enregistrée avec l'extrait de la racine. Ces résultats demeurent moins élevés par rapport au standard utilisé. En effet, pour une concentration de $60 \text{ (}\mu\text{g/mL)}$ de trolox, le taux d'inhibition était de $59,20\%$.

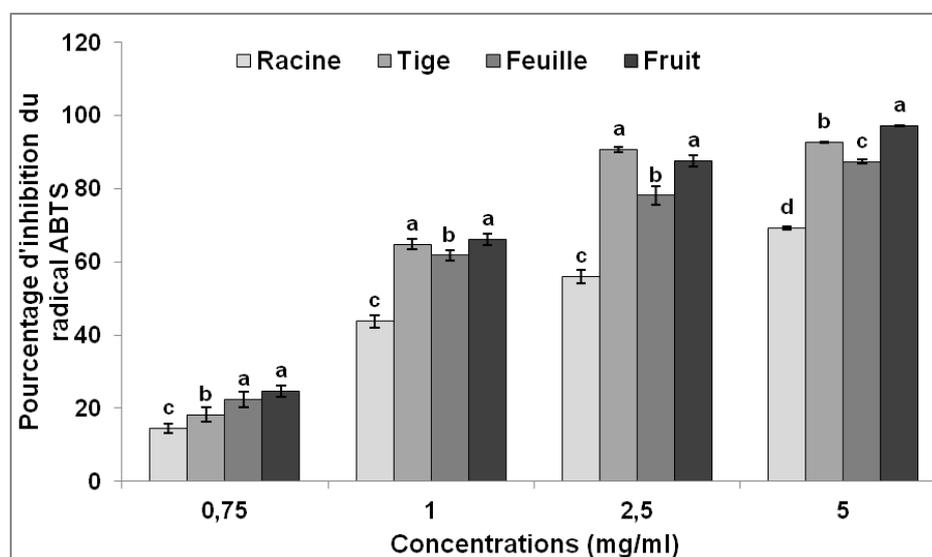


Figure 26: Pourcentages d'inhibition du radical ABTS par les extraits d'*Ecballium elaterium* à différentes concentrations (Bouزيد et Berrehrah, 2018).

Ces résultats sont aussi confirmés par le calcul des concentrations des extraits inhibitrices à 50% du radical ABTS, puisque c'est l'extrait du fruit qui a donné l' IC_{50} le plus faible qui est de $0,832 \pm 0,003 \text{ (mg/ml)}$ (Tableau 8). Il est suivi respectivement par les extraits des feuilles et de la tige. Enfin, comme constaté dans les pourcentages d'inhibition, l'extrait de la racine a donné l' IC_{50} le plus élevé.

Le trolox utilisé comme antioxydant standard présente une activité inhibitrice largement supérieure à celle de l'extrait (Tableau 8). L' IC_{50} est de l'ordre de $0,029 \pm 0,0006$. Ce résultat signifie que l'efficacité du phénol synthétique (Trolox) à piéger les radicaux libres comme le radical ABTS est meilleure que celle des polyphénols présents dans les extraits des différentes parties d'*Ecballium elaterium*.

Tableau 8: Valeurs des IC₅₀ des différents extraits d'*Ecballium* et du Trolox lors de la réduction du radical ABTS (Bouزيد et Berrehrah, 2018).

| Extraits | Racine | Tige | Feuille | Fruit | Trolox |
|--------------------------|--------------|--------------|-------------|-------------|---------------|
| IC ₅₀ (mg/mL) | 1,109 ±0,015 | 0,882 ±0,007 | 0,882±0,013 | 0,832±0,003 | 0,029± 0,0006 |

Par comparaison aux résultats des dosages des différentes classes de polyphénols, on peut supposer qu'il existe des composés autres que les polyphénols qui interviennent dans le piégeage du radical ABTS⁺.

Ce résultat pourrait être également dû à la nature des composés phénoliques, différente dans les quatre extraits testés, et à la teneur en ces composés, tenus pour responsable de l'activité antioxydantes (Dawidowicz et *al*, 2006).

III.2. Activité antimicrobienne

Activité antibactérienne

Première étude

L'équipe de Guenancha et *al*, (2016) ont montré que l'action de l'extrait s'exerce sur quatre souches bactériennes, incluant les bactéries Gram positive et les bactéries Gram négative. Ce test permet d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait à partir de diamètre d'inhibition (tableau 9).

Tableau 9: Diamètres en (mm) des zones d'inhibition de l'extrait d'E.E sur les Souches bactériennes (Guenancha et al, 2016).

| Souches Bactérienne | Zone d'inhibition en mm | | | | | |
|------------------------------|-------------------------|-------------|-------------|------------|------|--------------|
| | C1 =200mg/mL | C2=150mg/mL | C3=100mg/mL | C4=50mg/mL | DMSO | Amoxicilline |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | - | - | - | - | - | 19 |
| <i>Bacillus cereus</i> | 128,8 | 110 | 73,3 | - | - | - |
| <i>Escherichia coli</i> | - | - | - | - | - | - |
| <i>Salmonella</i> | 90 | 86,6 | 80 | 70 | - | - |

Les résultats ci dessus montrent que l'effet de l'extrait d'*Ecballium elaterium* exerce une forte activité sur les bactéries G+ et G- à l'exception d' *E .coli* et de *Staphylococcus aureus*.

La souche la plus sensible avec une zone d'inhibition maximale de 128,8 mm est *Bacillus cereus* suivie par *Salmonella* avec une zone d'inhibition de 90mm et les souches résistantes sont *E. coli* et *Staphylococcus aureus* (Figure 27).

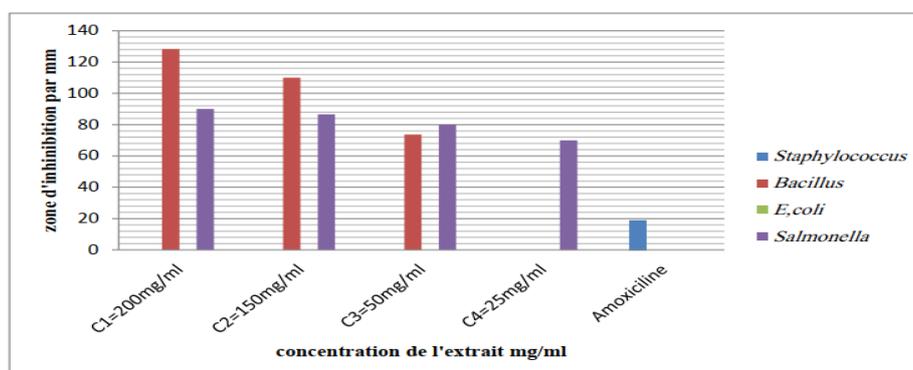


Figure 27: Taux d'inhibition de l'extrait sur les souches bactériennes (Guenancha et al, 2016).

Aucune zone d'inhibition n'a été observée autour des disques chargés par l'extrait dans le cas des bactéries *Staphylococcus aureus* et *E. coli*, ce qui est traduit par une forte résistance à l'extrait, la zone d'inhibition par l'antibiotique été considérable (19 mm), les zones d'inhibition de *Bacillus* et *Salmonella* avec les différentes concentrations d'extrait de E.E sont présentées dans la Figure 28.

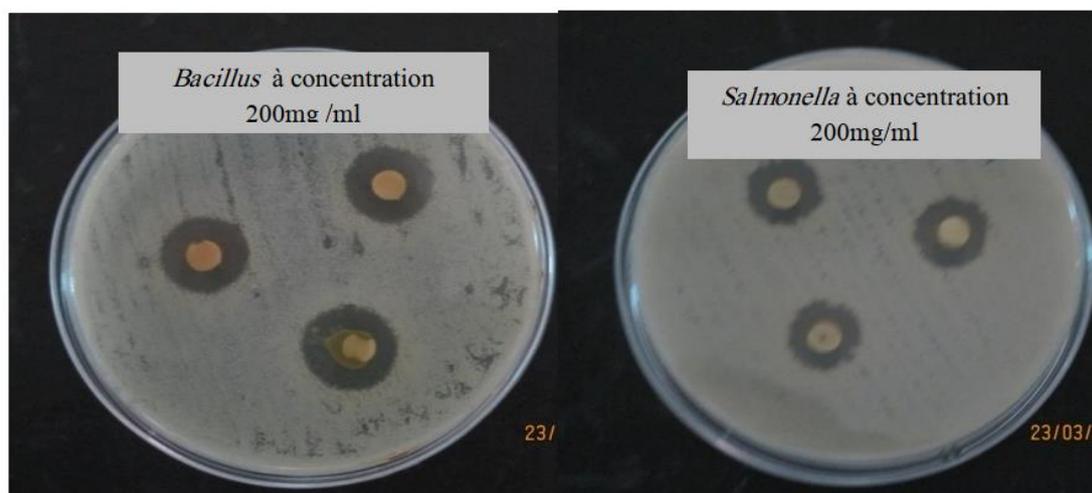


Figure 28: Activité antibactérienne de l'extrait d'EE sur les souches Bactériennes sensibles (Guenancha et al, 2016).

Deuxième étude

Les activités antibactériennes d'une autre étude des extraits des graines et des écorces de fruits ont été effectuées par la méthode de diffusion en puits d'agar. Les résultats dans le tableau 10 montrent les variations de l'activité antibactérienne des extraits de graines et d'écorces de fruits d'*Ecballium elaterium*.(Felhi et *a.l*, 2017).

Dans les graines :

- ✓ les extraits d'éther éthylique et d'acétone étaient plus efficaces contre *Staphylococcus aureus*, avec des zone d'inhibition de 15 ± 1 et 14 ± 1 mm, respectivement, tandis que les autres bactéries ont montré une sensibilité modérée vers les extraits testés avec des zone d'inhibition allant de 8 ± 0 à 12 ± 1 mm.

Quant aux écorces de fruits :

- ✓ l'extrait acétonique a montré une activité antibactérienne puissante contre *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* et *Escherichia coli* avec des zones d'inhibition relativement proches (tableau 10).
- ✓ l'extrait d'éther d'éthyle a montré une activité intéressante contre *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus* avec des zones d'inhibitions de 17 ± 2 et 17 ± 1 mm respectivement.
- ✓ Une moindre activité antibactérienne a été observée dans l'extrait méthanolique contre toutes les souches testées,

En général, les extraits des écorces de fruits d'*Ecballium elaterium* ont une forte activité antibactérienne sur les souches testées par rapport aux extraits des graines.

Tableau 10: Activité Antibactérienne des extraits des graines et écorces de fruits d'*E. elaterium* (Felhi et al, 2017).

| Diamètre de zone d'inhibition (mm) | | | | | | | |
|------------------------------------|----------------|-------------------|------------|-------------------|------------|-------------------|-----------------|
| Microorganismes | Ether d'éthyle | | Acétone | | Méthanol | | Antibiotiques |
| Bactérie | Graines | Ecorces de fruits | Graines | Ecorces de fruits | Graines | Ecorces de fruits | Chloramphenicol |
| Gram-positif | | | | | | | |
| <i>S. aureus</i> | 15 ± 1 | 12 ± 1 | 14 ± 1 | 15 ± 2 | - | - | 16 ± 0 |
| <i>L. monocytogenes</i> | - | 15 ± 1 | 12 ± 1 | 22 ± 2 | 8 ± 1 | - | 12 ± 0 |
| <i>B. cereus</i> | 8 ± 0 | 16 ± 1 | 9 ± 2 | 18 ± 1 | 9 ± 1 | 10 ± 2 | 26 ± 1 |
| <i>B. subtilis</i> | 8 ± 1 | 17 ± 2 | 9 ± 2 | 18 ± 1 | 9 ± 1 | 11 ± 2 | 24 ± 0 |
| <i>M. luteus</i> | 10 ± 1 | 17 ± 1 | 9 ± 1 | 18 ± 1 | 9 ± 2 | 9 ± 0 | 20 ± 2 |
| Gram-négatif | | | | | | | |
| <i>E. coli</i> | 8 ± 1 | 14 ± 1 | 9 ± 1 | 16 ± 1 | 10 ± 1 | 11 ± 2 | 23 ± 0 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 8 ± 0 | - | 8 ± 1 | - | - | - | 22 ± 1 |
| <i>S. enteritidis</i> | - | 11 ± 1 | - | 12 ± 2 | - | - | 16 ± 0 |

Dans cette étude, les souches bactériennes à gram négative étaient plus résistantes aux extraits de plante que les souches bactériennes à gram positive.

En comparant les résultats d'évaluations de l'activité antibactérienne d'*Ecballium elaterium* obtenu dans les deux études, on constate que les extraits méthanolique n'ont montré aucune activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*.

On suppose que la résistance de *Staphylococcus aureus*, vers les extraits méthanolique et hydroalcoolique d'EE peut être due au :

- ✓ biofilm : une large majorité des microorganismes vivent et se développent en forment des agrégats (Comte, 2005)
- ✓ ou bien la spécificité de l'extrait.

On suppose aussi que la résistance de *E.coli*, vers l'extrait hydroalcoolique (méthanol/eau) (50 : 50) des parties aérienne d'E.E de (Guenancha et al, 2016) peut s'expliquer par :

- ✓ les conditions et le protocole expérimental d'extraction suivi par Guenancha et al.,(2016)
- ✓ La grande résistance des bactéries Gram négatif pourrait être accréditée à la complexité de la double membrane y compris l'enveloppe cellulaire, qui est exprimée par la lipoprotéine et lipopolysaccharide, et qui joue le rôle d'une barrière aux substances antibactériennes, en contraste avec la structure à membrane unique des bactéries Gram-positives (zarai et al, 2012; Janakat et al., 2015).

Activité antifongique

Première étude

La cinétique de croissance mycélienne

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Cette dernière s'observe après au minimum 24h de l'application de l'extrait d'*Ecballium elaterium* sur les quatre souches, les diamètres augmentent avec le temps d'incubation.

Les résultats de l'effet d'extrait d'*Ecballium elaterium* sur la cinétique de croissance mycélienne sont présentés dans le tableau 11 (Guenancha et al, 2016).

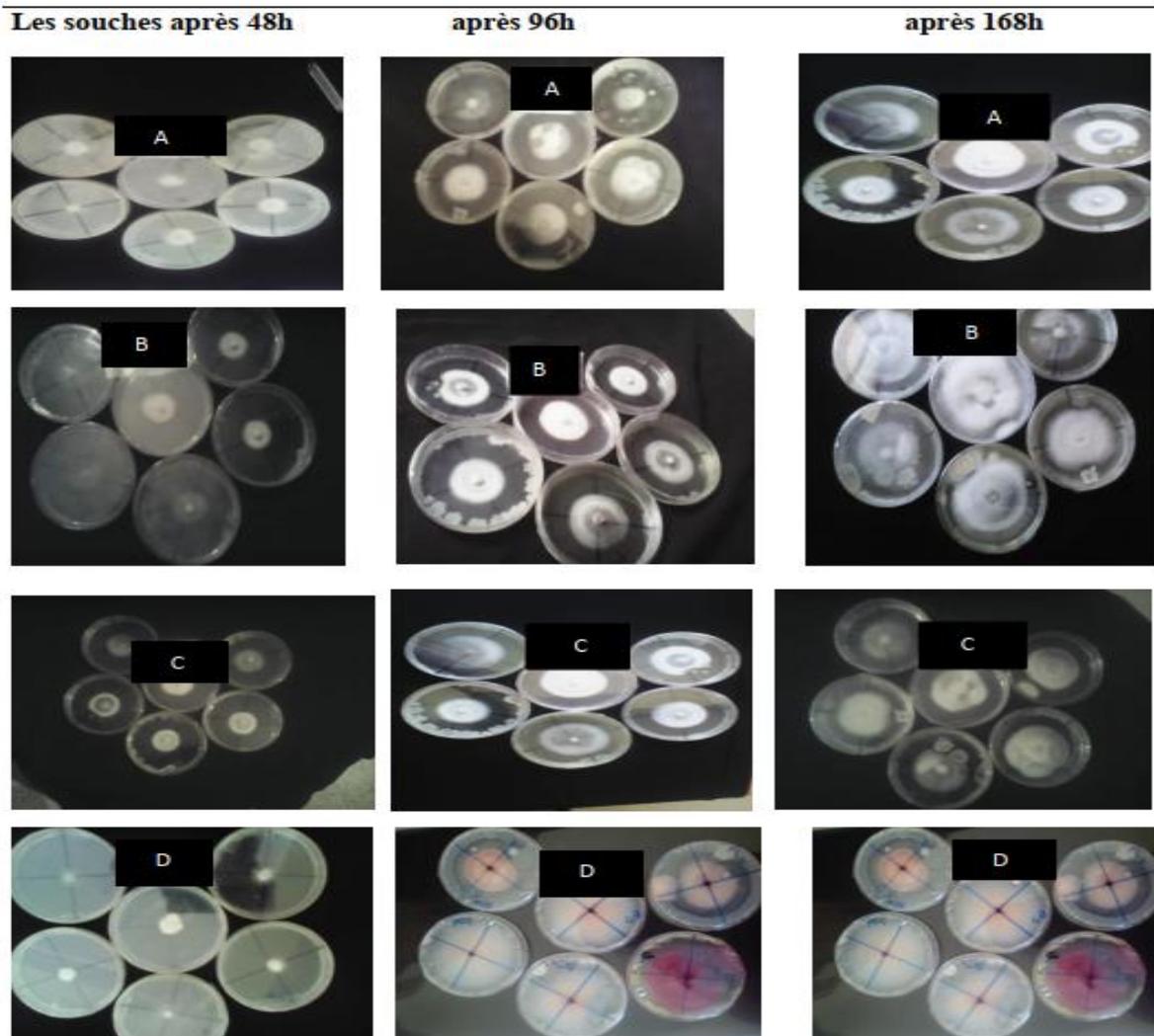
Tableau 11: Les diamètres de croissance mycélienne (mm) de *Phytophthora infestans*, *Fusarium solanivar*, *Fusarium oxysporum*, *Solani*. (Guenancha et al, 2016)

| Concentration d'extrait d'EE(%) | | | | | | | |
|---------------------------------|--------|------|------|------|------|------|------------|
| Les souches | Témoin | 100 | 50 | 25 | 12,5 | 6,25 | Les heures |
| <i>P. Infestans</i> | 30 | 29,5 | 29,7 | 29,9 | 30,9 | 31,5 | 48h |
| <i>F. solanivar</i> | 19,5 | 19,4 | 19,6 | 19,8 | 20 | 20,5 | |
| <i>F. oxysporum</i> | 34,5 | 29,5 | 30 | 35 | 37 | 38 | |
| <i>Solani</i> | 31,5 | 26 | 30 | 32 | 34 | 36 | |
| <i>P. Infestans</i> | 44,5 | 44,4 | 44,6 | 45 | 45,5 | 46 | 72h |
| <i>F. solanivar</i> | 31,5 | 29,5 | 29,8 | 30 | 30,5 | 32 | |
| <i>F. oxysporum</i> | 46,5 | 39,5 | 42 | 43,5 | 45 | 46 | |
| <i>Solani</i> | 39 | 27 | 36 | 37 | 38 | 39 | |
| <i>P. Infestans</i> | 53,5 | 51 | 51,9 | 52,2 | 53 | 53,3 | 96h |
| <i>F. solanivar</i> | 38 | 36 | 36,5 | 36,9 | 37,4 | 37,8 | |
| <i>F. oxysporum</i> | 57,5 | 42 | 44 | 53 | 54 | 56 | |
| <i>Solani</i> | 50 | 30 | 38 | 40 | 42 | 44 | |
| <i>P. Infestans</i> | 61 | 58 | 58,5 | 59 | 60 | 61 | 120h |
| <i>F. solanivar</i> | 45 | 42 | 42,9 | 43 | 44 | 45 | |
| <i>F. oxysporum</i> | 60 | 46 | 48 | 50 | 56 | 58 | |
| <i>Solani</i> | 52,5 | 28 | 44 | 48 | 50 | 52 | |
| <i>P. infestans</i> | 76,5 | 60.5 | 61 | 62 | 65,7 | 70 | 144h |
| <i>F. solanivar</i> | 54,9 | 50 | 51,5 | 52 | 53,5 | 54 | |
| <i>F.oxysporum</i> | 66 | 52 | 56 | 60 | 64 | 65,5 | |
| <i>Solani</i> | 60 | 34 | 45 | 50,5 | 52 | 58 | |

Les résultats démontrent que les diamètres des témoins après 48h sont de 30,19.5, 34.5 et 31.5mm des quatre souches et augment jusqu'à 76.5mm après 144h pour *Phytophthora infestans*. 66, 60, 54,9 pour *Fusarium oxysporum*, *solani* et *Fusariumsolanivar* respectivement.

Le diamètre de croissance mycélienne sous l'effet d'extrait d'EE démarre après 48h et augmente avec le temps pour les quatre souches. En effet,

Le diamètre de *Fusariumsolanivare* est plus faible que celui des autres souches. Après 144 (Figure 29).



A : *Phytophthora infestans* **B** : *Fusarium oxysporum* **C** : *Solani* **D** : *Fusarium solanivar*
Figure 29 : Le développement de la croissance mycélienne sous l'effet d'extrait d'E.E en fonction du temps d'incubation (Guenancha et al, 2016)

- **La croissance mycélienne**

La croissance mycélienne a été évaluée à la fin de l'expérience (6 jours d'incubation) en mesurant la moyenne du diamètre. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins, qui sont effectuées le même jour et dans les mêmes conditions.

L'analyse de variance (tableau 11) montre que l'interaction entre les souches et les concentrations est hautement significative $p=0.0001$ cette sensibilité dépend de la composition chimique des métabolites secondaires à caractère antifongique, qui sont présents et caractérisent l'extrait (Guenancha et al, 2016).

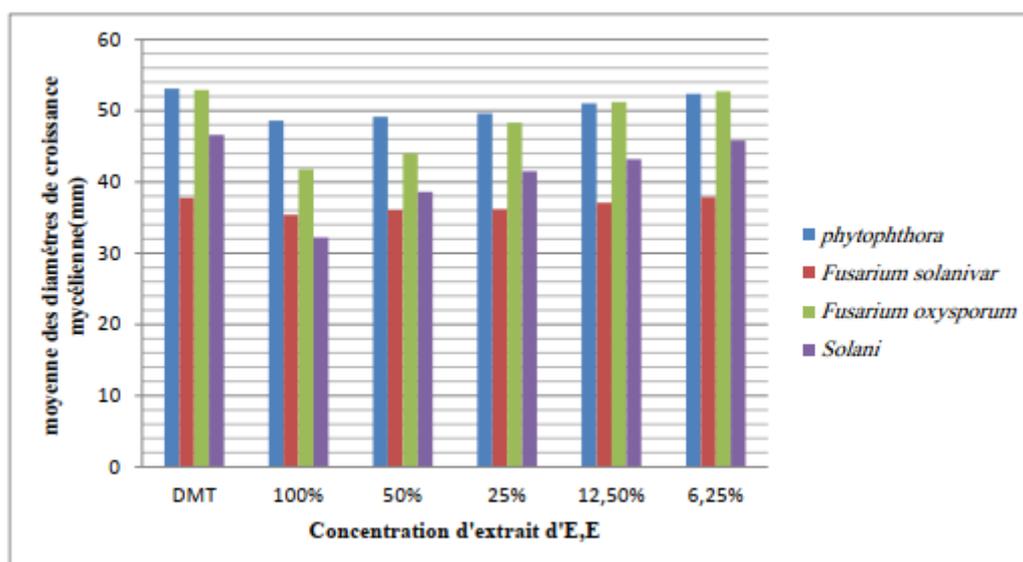


Figure 30: La croissance mycélienne des quatre souches fongiques sous l'effet des concentrations de l'extrait d'*Ecballium elaterium* (Guenancha et al, 2016).

Les résultats de la figure 30 montrent que la croissance mycélienne sous l'effet de l'extrait d'*Ecballium elaterium*, diminue avec l'augmentation de la concentration de l'extrait, pour les quatre souches fongiques, mais la croissance de *Fusarium solanivar* est moindre.

Deuxième étude

Selon Felhi et al., (2017), les activités antifongiques des extraits des graines et des écorces de fruits ont été effectuées par la méthode de diffusion en puits d'agar.

Ils ont montré que les extraits des graines et l'écorces de fruits n'étaient pas actifs contre les souches fongiques.

En comparant les résultats d'évaluations de l'activité antifongique d'*Ecballium elaterium* obtenu par Guenancha et al., (2016) et ceux obtenu par Felhi et al., (2017) on constate que les extraits méthanolique des graines et écorces de fruits d'EE de n'ont montré aucune activité contre *Fusarium oxysporum*.

Tandis que l'extrait hydroalcolique (méthanol/eau) (50 :50) des parties aériennes d'EE de la première étude a montré une activité antifongique contre *Fusarium oxysporum* après 48 h à concertation de 6,25% avec un diamètre de croissance mycélienne de l'ordre de 38mm.

On suppose que l'absence d'activité antifongique dans l'extrait méthanolique des graines et écorces sont probablement due a plusieurs facteur tels que :

- ✓ La méthode d'extraction
- ✓ Technique d'évaluation de l'activité antifongique
- ✓ La présence des composés phénoliques avec des très faibles concentrations dans l'extrait testéetc

On suppose que l'activité antifongique de l'extrait de l'*Ecballium elaterium* de Guenancha et *al.*,(2016) est due à leur composition chimique, telle que les saponines, qui sont une classe spéciale de métabolites secondaires qui ont une caractéristique savonneuse Les flavonoïdes peuvent également être responsables d'inhibition des microorganisme.

Conclusion générale

Le présent travail avait pour but d'étudier les métabolites secondaires d'une espèce très utilisée dans la pharmacopée populaire : *Ecballium elaterium* appartenant à la famille *Cucurbitaceae*.

Dans ce contexte, nous avons réalisé dans un premier temps une extraction de ces métabolites en utilisant des solvants à polarité croissante, puis dans un deuxième temps, nous avons réalisé une comparaison exhaustive entre les résultats de deux études antérieures. Il en ressort :

L'évaluation du contenu en polyphénols et flavonoïdes totaux, en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu et du trichlorure d'aluminium indique que tous les extraits sont riches en ces composés mais avec des valeurs variables en fonction du type de l'extrait.

Le pouvoir antioxydant des extraits de la plante a été évalué *in vitro* par l'application de deux tests : DPPH• et ABTS•+, ces tests montrent que la plante possède un potentiel antioxydant élevé, cette activité est liée en grande partie à la composition des extraits en composés phénoliques, particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes.

L'étude du pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion des disques et la méthode de diffusion en puits d'agar des différents extraits utilisés, cette étude montre qu'*Ecballium elaterium* exerce une activité inhibitrice sur les bactéries Gram positif et Gram négatif mais avec des valeurs variables en fonction du type d'extrait.

L'évaluation du pouvoir antifongique par la méthode de contact direct, permet de mettre en évidence le pouvoir antifongique de l'extrait hydro alcoolique d'*Ecballium elaterium* sur les souches utilisées. Il est à noter que l'activité antifongique augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait d'*Ecballium elaterium*. Cette activité conduit à la régression de croissance mycélienne qui est déterminée par la diminution des diamètres.

Enfin, les résultats obtenus dans ces études montrent que l'*Ecballium elaterium* est riche en composés bioactifs qui peuvent être employés pour différentes applications thérapeutiques, et ces résultats ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active. Ainsi que des essais complémentaires seront nécessaires pour confirmer les activités mise en évidence.



Références

Bibliographiques



-A-

Abbassi,F., Ayar,B., Mhamdi,B., Toumi,L.(2014).Phenolic contents and antimicrobial activity of squirting cucumber (*Ecballium elaterium*) extracts against food-borne pathogens. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 27 :475-479.

Adwan,G., Salameh, Y., Adwan, K. (2011). Effect of ethanolic extract of *Ecballium elaterium* against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*.*Jornal of Asia and the Pacific of tropical biomedecine*, 6:456-460.

Agil, A., Miró, M., Jimenez, J., Aneiros, J., Caracuel, M.D., García-Granados, A., Navarro, M.C. (1999).Isolation of an anti-hepatotoxic principle from the juice of *Ecballium elaterium*.*Planta medica*, 65: 673-675.

Amić,D.,Dusanka,D., Besl,D.,Trinajsti,N. (2003). Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids.*Croatica chemica acta*, 76 (1) :55-61.

Anderson, C.M., Hallberg, A., Hogberg, T. (1996).Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res*, 28: 65-180.

Aquaron, M. (2005). Relation entre l'homme et les plantes médicinales. Les Causeries en Montagne, Sabenca de la Valéia, Barcelonnette, 5.

Asmus,KD., Bonifacic,M. (2012).Free radical oxidation of organic disulfides.*The Journal of Physical Chemistr.*,80 : 2426-2430

Attard, E. G., Scicluna-Spiteri, A. (2001).*Ecballium elaterium*: an in vitro source of Cucurbitacins .*Phytothérapie*, 72 : 46-53.

Attard, E.,Cuschieri, A. (2004). Cytotoxicity of Cucurbitacin E extracted from *Ecballium elaterium* in vitro. *Journal of Natural Remedies*, ,4 :137-144.

-B-

Baba aissa, F. (2000). Les plantes médicinales en Algérie. Bouchéne et AD. Diwan, Alger, 368

Boerlin, P., White, D.G. (2006).Antimicrobial Therapy in Veterinary Medecine.*Blackwell publishing*, 27-43.

Benhouhou, S. (2015).A brief overview on the historical use of medicinal aromatic plants of Algeria consulted. Université Mohamed khider-Biskra Faculté des Sciences de la Nature et de la vie. Exactes et de la vie .Département des sciences Agronomique, Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région médicinales des Aurès, 433.

Bennick, A. (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13:184-196.

Ben-yakir, D., Gal, D., Chen, M., Rosen, D. (1996).Potential of *Aspongopus viduatus* F. Heteroptera Pentatomidae as a Biocontrol Agent for Squirting Cucumber, *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich. *Cucurbitaceae. Contrôle biologique*, 7: 48–52.

Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E., Saykova, I. (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide *Arachis hypogaea* L. *génie industriel*, 7:35-45.

Boudjouref, M. (2011). Etude d'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie, sous la direction de Belhattab Rachid, Université Ferhat Abbes, Algérie, Sétif ,99.

Boerlin, P., White, D., G. (2006).Antimicrobial Resistance and Its Epidemiology. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine* , 21-40.

Bozin, B., Mimica-Duric, N., Samojlik, I., Goran, A., Igc, R. (2008).Phenolics as antioxidants in garlic *Allium sativum* L. *Alliaceae. Food Chemistry*,111: 925-929.

Bouzaïd, H., Berrehrah, S. (2018). Etude phytochimique et activité antioxydante d'une plante locale *Ecballium elaterium*. Mémoire pour obtenir le diplôme de Master Option : Biochimie appliquée, Université A. MIRA – Béjaïa, 19-30.

Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews* 56 :317-333.

Bryskier A. (1999). Antibiotiques Agents Antibactériens et Antifongiques. Paris: *Ellipses*,55.

-C-

Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S., Vasson, M.P., Hasselmann, M., Leverve, X. (2007).Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Paris. 3^{ème} édition, Springer, 1180.

Cardey,B., Enescu,M.(2007).Selenocysteine versus Cysteine Reactivity? A Theoretical Study of Their Oxidation by Hydrogen Peroxide, *The Journal of Physical Chemistry*, 111(4): 673-678.

Chevallier,A.,(2001). Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse, 335.

Chung, K.T., Wong, T.Y., Wei, C.I., Huang, Y.W., Lin, Y. (1998).Tannins and human health: a review. *Food Sci Nutr*, 38:421-64.

Collin, S., Crouzet, J. (2011).Polyphénols et procédés: transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. *Lavoisier*, 337.

Cowan, M.M. (1999).Plant Products as Antimicrobial Agents.*Clinical Microbiology reviews*, 12 (4): 564-582.

-E-

Edenharder, R., Grünhage, D.(2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumenehydroperoxide in Salmonella typhimuriumTA102. *Mutat Res*, 540: 1–18.

Egert,S., Rimbach,G .(2011).Which sources of flavonoids: complex diets or dietary supplements. *Advances in nutrition*, 2: 8-14.

El-haci,I,A.,Atik Bekkara,F.(2016).Estimation du pouvoir antioxydant des différents extraits organiques d'ecballium elaterium (L.). *Substances Naturelles et Innovations Thérapeutiques*, 4-10.

-F-

Fadili,A,; Mehdi,K., Riss,J.S., Mekan,A., Boutayab,K.(2015).Evaluation of groundwater mineralization processes and seawater intrusion extension in the coastal aquifer of Oualidia, Morocco: hydrochemical and geophysical approach.*Arabian Journal of Geosciences*,8: 8567–8582.

Fahn, A.,Shimony, C. (2001). Nectary structure and ultrastructure of unisexual flowers of *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich.(Cucurbitaceae) and their presumptive pollinators. *Annals of Botany*, 87:27-33.

Fajardo,A., Linares, JF., Martínez,JL. (2009).Towards an ecological approach to antibiotics and antibiotic resistance genes.*Clin Microbiol* ,15: 14-16.

Faure,S.(2009). Transfert d'un gène de résistance aux B-lactamines bla.CTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie, unité Pharmacocinétique-Pharmacodynamie, AFSA Ecole Doctorale .*Vie-Agro-Santé*, 75 :103-108.

Favier,L. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.*L'actualité chimique*, 8 :108-115.

Felhi,S.,dadoud,A.,hajladui,H.,mnafigui,K.,gharsallah,N.,kadri,A.(2017).Solvent extraction effects on phytochemical constituents profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of *Ecballium elaterium* seeds and peels fruits.*Food Sci. Technol*, 37(3): 483-492.

Freitas, V.d. (1995). Recherches sur les tanins condensés: application à l'étude des structures et propriétés des procyanidines du raisin et du vin. Thèse de doctorat en Sciences biologiques et médicales, Bordeaux2, 120.

Fouché, J. G., Marquet, A., Hambuckers, A. (2000). Les plantes médicinales de la plante au médicament. Sart-tilman, 247.

-G-

Garait,B.(2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin. Biologie cellulaire. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 20-23

Gaussen, H., Leroy, H.F.(1982). Précis de botanique, végétaux supérieurs. Paris New York Barcelone [etc.] Masson , 426.

Gelfand, M., Mavi, S., Drummond, R.B., Ndemera, B. (1985). The Traditional Medical Practitioner in Zimbabwe. Mambo Press, Gweru.,191-192.

Guenancha,Z.,Tababouchat,Z., Taddouche,R. (2016). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait méthanolique de la plante médicinale *Ecballium*

Elaterium.Mémoire pour obtenir le diplôme de Master Option :Biotechnologie et protection des végétaux.Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A. 17-31.

-H-

Haliwell,B.,Gutteridge.(1989).Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *The british journal of experimental pathologie*, 70(6): 737–757.

Havsteen, B.H. (2002).The biochemistry and medical significance of the flavonoids.*Pharmacol. Therapeut*, 96: 67-202.

Hattori,N.,Venkateswaran,K.,La Duc,MT., Kern,R.(2003).ATP as a biomarker of viable microorganisms in clean-room facilities.*Journal of Microbiological Methods*, 52: 367-377.

Hemalatha, S., Wahi, A., Singh, P., Chansouria, J. (2010).Evaluation of anti-hyperglycemic and free radical scavenging activity of *Melothria maderaspatana* Linn.in streptozotocin-induceddiabeticrats.*African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4:817-822.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004).Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.

Heloizy.K., Freitas.G.,O.(2010).Simultaneous determination of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) in food samples using a carbon composite electrode modified with Cu^3PO_4^2 immobilized in polyester resin. *Talanta*, 81(3):47-75.

Hostettmann,K., Poterat,O., Wolfender,J-L. (1998). The potential of higher plants as a source of drugs. *Chimia*, 52 : 10-17

-J-

Janakat,S., Al-Nabulsi,A. A. R., Allehdan,S., Dlaimat,A. N., Holley,R. A. (2015). Antimicrobial activity of *amurca* (olive oil lees) extract against selected foodborne pathogens. *Food Science and Technology*, 35(2): 259-265.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A,Stevens., P. (2002). Botanique systématique: Une perspective phylogénétique: deBoeck.Université, Bruxelles, 466.

-K-

Kloutsos, G., Balatsouras, D.G., Kaberos, A.C., Kandiloros, D., Ferekidis, E., Economou, C. (2001). Upper airway edema resulting from use of Ecballium elaterium. *The Laryngoscope*, 111:1652-1655.

Kirmann, A., Cantacuzene, J., Duhamel, P. (1975). Chimie organique fonctions complexes. Librairie Colin. Paris, 197-199.

Kouamé, J., Gnoula, C., Palé, E., Bassolé, H., Guissou, I.P., Simporé, J. & Nikiéma, J.B. (2009). Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Science et technique, Sciences de la santé*, 32 : 9 - 23

Krätzner, R., Debreczeni, J.É., Pape, T., Schneider, T.R., Wentzel, A., Kolmar, H., Labie, D., and Elion, J. (2005). Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine. *EMC-Hématologie*, 2 :220-239.

Kruidenier, L., Verspaget, H.W. (2002). Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease radicals. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 16(12) :1997-2015.

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdely, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. PhysiolBioch*, 45: 244-249.

Kubitzki, K. (2011). Flowering Plants. Eudicots: *Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae*. *Springer*, 65:276-356.

-L-

Lagnika. (2005) Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat en Sciences pharmaceutiques. Pharmacognosie. Starsburg 1.

Lee, K.W., Hur, H.J., Lee, C.Y. (2005). Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. *Food Chem*, 53:1990-1995.

Lamaison, J., Petitjean-Freytet, C., Carnat, A. (1990). Teneurs en acide rosmarinique, en dérivés hydroxycinnamiques totaux et activité antioxydante chez les apiacées, les

borraginacées et leslaminacées médicinales, Annales pharmaceutiques françaises. *Masson*, 48:103-108

Leong, LP., Shui, G. (2002).An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets.*Food Chem*, 76: 69-75.

Leopoldini,M.,Russo,N.,Toscano,M.,(2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants.*Food chemistry*,125 (2):288–306.

Lindley, J. (1836).A natural system of botany. London: W-Nicol.

Lisu,W. Jui-Hung,Y., Hsiao-Ling,L., Ming-JiuanW. (2003).Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumage and Blossom (*Nelumbo nucifeca* Gertn), *Journal of food and drug analysis*, 11:60-66.

-M-

Menvielle-Bourg,F.J.(2005).Superoxide Dismutase(SOD), a Powerful Antioxidant. *Phytothérapie*, 3 : 1-4.

Merghem, R. (2009). Eléments de biochimie végétale. 1 ère Edition, Algérie, Constantine, Bahaeddine, 172.

Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839.

Miro, M. (1995).Cucurbitacins and their pharmacological effects.*Phytotherapy research* ,9(3) :159-168.

Mokkadem, A. (1999). Cause dégradations des plantes médicinales aromatique d'Algérie. *Vie et Nature*,7 :24-26.

Mukohata, Y., Nakabayashi, S.,Higashida, M. (1978).Quercetin, an energy transfer inhibitor in photophosphorylation.FEBS Lett, 85: 215– 218.

-O-

Okuda, T. (2005).Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants.*Phytochemistry*, 66:2012–2031.

Osakabe, N., Baba, S., Yasuda, A., Iwamoto, T., Kamiyama, M., Takizawa, T., Itakura, H., Kondo, K. (2001). Daily cocoa intake reduces the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation as demonstrated in healthy human volunteers. *Free Radicles*. 34: 93-99.

Ozenda, P. (1977). Flore du Sahara, Ed. CNRS., Paris, France, 250-259.

-P-

Packer, L., Weber, S. U. (2001). Molecular aspects of alpha tocotrienol antioxidant action and cell signaling. *Journal of nutrition*, 131(2): 369-373.

Patzer, J. A., Dzierzanowski, D., Turner, P. (2008). Trends in antimicrobial susceptibility of Gram negative isolates from a pediatric intensive care unit in Warsaw: results from the Mystic program. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62: 369–375.

Peynaud, E., Sudraud, P., Ribereau-Gayon, P. (1972). Sciences et techniques du vin : Analyse et contrôle des Vins, Dunod, Paris, 671.

Popovici, C., Saykova, I., Bartosz, T. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *génie industriel*, 4: 1313 - 8871.

Poutrain, P. (2008). Etude de la régulation hormonale du métabolisme des alcaloïdes indoliques monoterpéniques chez *Catharanthus roseus*. Implication du calcium dans la transduction du signal induit par l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique, Thèse de doctorat, sous la direction de Marc Rideau, Université François – Rabelais. Tours, France, 202.

-Q-

Quézel, p., santa, s. (1963). Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales: centre nationale de la recherche scientifique ,950-954.

Quyoub, A. (2003). Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales. Exemple d'utilisation pratique de cette base. Thèse de Doctorat, Université Ibn Tofail. Fac. Sci. Kénitra, Maroc, 110.

-R-

Radford, E.A. Catullo, G. de Montmollin, B. (2011). Zones importantes pour les plantes en Méditerranée méridionale et orientale. Union internationale pour la conservation de la nature et de ses ressources. *UICN*, 124.

Rangkadilok, N., Sitthimonchai, S., Worasuttayangkurn, L., Mahidol, C., Ruchirawat, M., Satayavivad, J. (2007). Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruits extract. *Food Chem*, 45: 328-336.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggebnte, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C (1999). Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Science Inc*, 26:1231-1237.

Ren, W., Qiao, Z., Wang, H (2003). Flavonoids: Promising anticancer agents. *Medicinal research reviews*, 23:519-534.

Rose, R.C., Bode, A.M. (1993). Biology of free radical scavengers: an evaluation of ascorbate. *Journal of FASEB*, 7: 1135-1142.

-S-

Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P., Williams, R. J., Cadenas, E., Rice-Evans, C. (2002). MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiol Aging* .23: 861-880.

Shahidi, F., Janitha, P., Wanasundara, P. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical reviews in food science & nutrition*, 32:67-103.

Shankari, S.L., Babu, N.A., Rani; V., Priyadharsini; C. (2014) Flavonoids: clinical effects and applications in dentistry: a review. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 6: 26-29.

Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H.A. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activity of the essential oils and methanolic extracts of endemic thymus spathulifolius. *Food control*, 15:627-634.

Stief, T. (2003). The physiology and pharmacology of signal oxygen. *Medical Hypotheses*, 60:567-572.

-T-

Toker, G., Memisoglu, M., Toker, M.C., Yesilada, E. (2003). Callus formation and cucurbitacin B accumulation in *Ecballium elaterium* callus cultures. *Phytothérapie*, 74:618–623.

Tsimogiannins, D.I., Oreopoulou, V.(2006). The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat.Food SciEmerg Tech*, 7: 140-146.

-V-

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *ChemBiol Interact.* 160: 1-40.

Vamecq, J., Vallée, L., Storme, L., Gelé, P., Bordet, R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du Pharmacologue*, 18(1) : 16-22.

-W-

Walker ., Fournier.E. (2012) . *botrytis pseudocinerea*, une nouvelle espèce distincte de *b. cinerea* responsable de la pourriture grise de la vigne », *afpp- 10e conférence internationale sur les maladies des plantes*, 101 :1433-1445.

Wong, C.C., Li, H.B., Cheng, K.W., Chen, F. (2006).A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*, 97: 705-711.

Wu, C. H., Lin, J. A., Hsieh, W. C., Yen, G. C. (2009). Low-density-lipoprotein (LDL)-bound flavonoids increase the resistance of LDL to oxidation and glycation under pathophysiological concentrations of glucose in vitro. *Food Chem* .57:5058-5064.

Wu, S.J., Ng, L.T. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *LWT*, 41 : 323–330.

-Y-

Yokozawa, Y., Chen, C.P., Dong, E., Tanaka, T., Nonaka G.I., Nishioka, I. (1998). Study on the Inhibitory Effect of Tannins and Flavonoids against the 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical. *Biochemical Pharmacology*, 56: 213–222.

Yao, N., Eisfelder, B., Marvin, J., Greenberg, J.T. (2004). The mitochondrion An organelle commonly involved in programmed cell death in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal*, 40: 596–610.

Yoshihara, D., Fujiwara, N., Suzuki, K. (2010). Antioxidants: benefits and risks for longterm health. *Maturitas*, 67: 103-107.

-Z-

Zaika, I. (1988). Spices and herb: their antimicrobial activity and its determination 1. *Journal of Food Safety*, 9: 97-118.

Zarai, Z., Benchobba, I., Mansour, R.B., Békir, A., Gharsallah, N., Kadri, A. (2012). Essential oil of the leaves of *Ricinus communis* L.: *In vitro* cytotoxicity and antimicrobial properties. *Lipids in Health and Disease*, 11(1): 102.

Résumé

Ecballium elaterium est une plante de la famille des cucurbitacées qui est largement utilisée dans la médecine traditionnelle.

Le présent travail porte sur une étude de la teneur des différents antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes) et les activités antioxydant, antibactérienne, antifongique des différentes parties (tiges, feuilles et fleur) d'E.E. Dans cette recherche, trois solvants de polarité croissante (dichlorométhane, méthanol, éthanol/eau) ont été utilisé pour l'extraction des composés phénoliques, D'après les travaux effectués sur cette plante et qu'on a comparé dans notre étude le meilleur rendement a été obtenu avec la feuille de la première étude. L'analyse phytochimique réalisé par les deux études a montré que les parties aériennes d'E.E sont riche en composés phénoliques. L'évaluation, *in vitro* de l'activité antioxydante des différents extraits bruts d'E.E des deux études a été réalisée par l'application de plusieurs tests à savoir : le piégeage du radicale 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH.) et ABTS+. Ces extraits ont présenté des activités anti radicalaires et antioxydantes intéressante, l'activité antibactérienne des extraits d'E.E des deux études a été effectué par la méthode de diffusion sur disque et la méthode de diffusion en puits d'agar sur plusieurs souches bactériennes à Gram positive et Gram négative, les résultats obtenu par les deux études montrent que les extraits d'E.E n'ont aucun effet sur le développement de *Staphylococcus aureus*, Par contre ils inhibent *Bacillus cereus*, et *E.Coli* ,l'activité antifongique montre que les extraits d'E.E ont un effet sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* a des concentrations élevés.

Mots clés : *Ecballium elaterium*, Polyphénols, Flavonoïdes, Activité antioxydante, Antibactérienne, Antifongique.

Astract

Ecballium elaterium known as wild cucumber is a plant of the Cucurbitaceae family widely used in traditional medicine.

The present work concerns a study of the content of different antioxidants (total polyphenols, flavonoids) and antioxidant, antibacterial, antifungal activities of different parts (stems, leaves and flower). In this research, three solvents of increasing polarity (dichloromethane, methanol, ethanol/water) were used for the extraction of phenolic compounds, according to the work done on this plant and that we compared in our study the best yield was obtained with the leaf of the first study. The phytochemical analysis carried out by both studies showed that the aerial parts of E.E are rich in phenolic compounds. The *invitro* evaluation of the antioxidant activity of the various crude E.E extracts from the two studies was carried out by the application of several testse namely: trapping of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH.) and ABTS+. These extracts presented interesting anti-radical and antioxidant activities, antibacterial activity of E.E extracts from both studies was performed by disc diffusion method and agar well diffusion method on several bacterial strains Gram positive and Gram negative, the results of both studies show that E.E extracts have no effect on the development of *Staphylococcus aureus*, On the other hand they inhibit *Bacillus cereus*,and *E.Coli*,antifungal activity shows that E.E extracts have an effect on the mycelial growth of *Fusarium oxysporum* has high concentrations.

Key words:*Ecballium elaterium*, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant ,antibacterial ,antifungal activity.

ملخص

القثاء البري المعروف باسم الخيار البري هو نبات من عائلة القرعيات التي تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي يتعلق هذا العمل بدراسة لمحتوى مضادات الاكسدة المختلفة (البوليفينول الكلي ، الفلافونويد) و أيضا الانشطة المضادة للاكسدة ، المضادة للبكتيريا و المضادة للفطريات ، لمختلف الأجزاء (سيقان وأوراق و أزهار) في هذا البحث، تم استخدام ثلاث مذيبات متزايدة القطبية (ثنائي كلورو ميثان والميثانول والإيثانول/الماء) لاستخراج المركبات الفينولية عن طريق الإرهاق . استناداً على الابحاث التي تم انجازها من طرف الباحثين حديثا حول نبات القثاء البري قمنا باجراء مقارنة كلية بين دراستين مختلفين ، نجد أنه تم الحصول على أفضل عائد مع الأوراق ، وقد أظهر التحليل الكيميائي النباتي و الذي أجرته كلتا الدراستين أن الأجزاء الهوائية للقثاء البري غنية بالمركبات الفينولية. تم تنفيذ التقييم في المختبر لنشاط مضادات الاكسدة من المستخلصات الخامة المختلفة عن طريق اختبارات معينة :حصرا الجذور الحرة فاضهرت هذه الاختبارات نتائج غاية في الاهمية , تم اجراء اختبار النشاط المضاد للبكتيريا لكلتا الدراستين بواسطة تقنيتين مختلفتين : تقنية توزيع القرص و تقنية التوزيع على أبار الاغار على سلالات بكتيرية موجبة الغرام و سالبة الغرام , أظهرت النتائج المتحصل عليها من طرف كلتا الدراستين أن مستخلصات الخامة لنبات القثاء البري ليس لها قدرة على تثبيط نشاط بكتيريا المسماة ب المكورات العنقودية الذهبية ، و العكس صحيح بالنسبة للبكتيريا المسماة ب العَصَوِيَّةُ الشَّمْعِيَّةُ و العصيات القولونية ، النتائج المتحصل عليها بعد بعد اختبار النشاط المضاد للفطريات أظهرت النتائج ان المستخلصات الخامة لنبات القثاء البري لها مفعول ضد التكاثر الميسيلي ل فطريات المغزَّ لأويَّةُ الحادَّةُ الأبوأغ.

الكلمات المفتاحية : القثاء البري ، المركبات الفينولية ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للاكسدة ، النشاط المضاد للبكتيريا ،النشاطالمضاد للفطريات

Année universitaire :

2019/2020

Présenté par :

BOUFERIOUA YOUSRA & TERROUCHE BOUTHEINA

**Etude comparative des activités biologiques d'une plante médicinale :
*Ecballium elaterium***

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du Diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé

Ecballium elaterium est une plante de la famille des cucurbitacées qui est largement utilisée dans la médecine traditionnelle.

Le présent travail porte sur une étude de la teneur des différents antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes) et les activités antioxydant, antibactérienne, antifongique des différentes parties (tiges, feuilles et fleur) d'E.E. Dans cette recherche, trois solvants de polarité croissante (dichlorométhane, méthanol, éthanol/eau) ont été utilisés pour l'extraction des composés phénoliques, D'après les travaux effectués sur cette plante et qu'on a comparé dans notre étude le meilleur rendement a été obtenu avec la feuille de la première étude. L'analyse phytochimique réalisée par les deux études a montré que les parties aériennes d'E.E sont riches en composés phénoliques. L'évaluation, *in vitro* de l'activité antioxydante des différents extraits bruts d'E.E des deux études a été réalisée par l'application de plusieurs tests à savoir : le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH.) et ABTS+. Ces extraits ont présenté des activités antiradicalaires et antioxydantes intéressantes, l'activité antibactérienne des extraits d'E.E des deux études a été effectuée par la méthode de diffusion sur disque et la méthode de diffusion en puits d'agar sur plusieurs souches bactériennes à Gram positive et Gram négative, les résultats obtenus par les deux études montrent que les extraits d'E.E n'ont aucun effet sur le développement de *Staphylococcus aureus*, Par contre ils inhibent *Bacillus cereus*, et *E.Coli* , l'activité antifongique montre que les extraits d'E.E ont un effet sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* à des concentrations élevées.

Mots clés : *Ecballium elaterium*, Polyphénols, Flavonoïdes, Activité antioxydante, Antibactérienne, Antifongique.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biochimie Appliquée

Jury d'évaluation

Présidente **Mme MOSBAH.A.** **M.C.A Université des Frères Mentouri Constantine 1**

Encadreur **Mme DEMMAK.R.G** **M.C.B Université Salah Bounider Constantine 3**

Examineur **Mme TENIOU.S.** **M.A.A Université des Frères Mentouri Constantine 1**

Date de soutenance : 04/10/2020