

Université Mohamed Khider de Biskra Faculté des sciences exactes et des science de la nature et de la vie Département des sciences de la nature et de la vie. Filière : Science biologique

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :

ALLOUI Hadjer

Le :JEUDI 27 JUIN 2024

Dosage et activité biologique des molécules à partir la plante *Astragalus armatus* de la région de Biskra

Jury:

M. BENBELAID Fathi Université Mohamed Khider Biskra Président

Mme. MOKRANI Djamila Université Mohamed Khider Biskra Rapporteur

Mme. BOUATROUS Yamina Université Mohamed Khider Biskra Examinateur

Année universitaire: 2023/2024

Remerciements

Je teins tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail. En second lieu, je remercie l'ensemble des membres de jury qu'ils ont consacré à la lecture de mon document ainsi que pour leurs remarques judicieuses et leurs critiques constructives. Mes plus profonds et chaleureux remerciements vont au madame MOKRANI Djamila ainsi qu'a monsieur BEN BELAID et sans oublier future Dr. DERBALI Safia et Dr. BAMBRA Moussa.

> Je remercie chaleureusement les membres de notre département pour les merveilleux moments qu'on a passé ensemble.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail:

- ➤ A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir dans ce chemin, Qu'Allah ait pitié de vous papa
 - A ma mère Zineb pour tout son sacrifice, son amour, sa tendresse, son soutien et ses prières tout au long de mon parcours

> A mon frère

- A tous qui sont proches de mon cœur.
- ➤ Une pensée émue pour tous mes professeurs ainsi que pour mes amis que j'ai eu le plaisir de côtoyer lounis; Hana; Roumaissa et a tata Nadjda.
- A ceux qui remplissent mon cœur, sans que ma plume ne puisse les porter dans cette simple dédicace.

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Table des matières	
Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1
Partie bibliographique	
Chapitre 01 Généralité sur les plantes	
1.Aperçu bibliographique sur les Astragales	5
1.1.Fabacées	5
1.2.Description botanique	5
1.3.Classification botanique des Fabaceaes	6
1.3.1.Mimosoidées	6
1.3.2.Caesalpinioidées	6
1.3.3.Papilionacées ou Faboidées	6
1.4.Genre Astragalus	7
1.4.1.Espèce étudiée	7
1.4.2.Astragalus armatus	7
1.4.3.Descriptions botaniques	7
1.4.4.Répartition géographique de l'Astragalus armatus	8
1.4.5.Classification botanique	8
1.4.6.Composés chimiques de <i>l'Astragalus armatus</i>	9

1.4.7. Utilisation d'Astragalus armatus en médecine traditionnelle	9
Chapitre 02 Polyphénols et activité biologique	
1.Généralité	11
2. Polyphénols	11
2.1.Classification des composés phénoliques	11
2.1.1.Acides phénoliques	11
2.1.2.Flavonoïdes	11
2.1.3.Tanins	12
2.1.3.1.Tanins hydrolysables	12
2.1.3.2.Tanins condensés	12
3.Activités biologiques	12
3.1.Activité antioxydante	12
3.1.1.Antioxydante	13
3.1.2.Types des systèmes antioxydants	13
3.2.Activité anti-microbienne	14
3.2.1.Infection bactérienne	14
3.2.2.Description des bactéries étudiées	14
_3.2.2.1.Escherichia coli	14
3.2.2.2.Staphylococcus aureus	14
3.2.2.3. Proteus mirabolis	14
3.2.2.4. Candida levure	15
3.2.3.Principaux Substances antibactériennes	15
3.2.3.1.Antibiotique	15
3.2.3.2.Polyphénols	15
3.2.4. Activité antibactérienne des polyphénols	15

Partie expérimentale

Chapitre 3Matériel et Méthodes

1.Matériel	18
1.1.Matériel biologique	18
1.2.Souches utilisée	18
1.2.Matériel instrumental et réactifs chimiques	18
1.2.1.Instrument et produits chimiques	18
2.Méthodes	19
2.1.Préparation de matériel biologique	19
2.2. Préparation des extraits bruts d'Astragalus armatus	19
2.2.1.Extraction des polyphénols	19
2.2.1.1.Macération à Froid	19
2.2.2.Calcul de rendement d'extraction	22
2.3.Dosage des polyphénols	22
2.4.Activité de piégeage des radicaux libres (DPPH)	23
2.4.1.Évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode DPPH	23
2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro	24
2.5.1.Stérilisation du matériel	24
2.5.2.Préparation des milieu de culture	24
2.5.3.Préparation des extraits	24
2.5.4.Préparation de la suspension bactérienne	25
2.5.5.Ensemencement	26
2.5.6.Préparation des puis et des disques	26
2.5.7.Lecture	26
Chapitre 4 Résultats et discussions	
1.Résultats des tests biologiques	29
1.1.Rendement d'extraction	29
1.2.Dosage des Polyphénols	30
1.3.Activité antioxydante	31

1.4. Activité antibactérienne des extraits	31
Conclusion	••••
Références bibliographieques	•••
Résumé	••••

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification botanique de l'Astragalus armatus.	9
Tableau 2.Système antioxydant.	13
Tableau 3.Liste de souches bactériennes (d'origine clinique) testées.	18
Tableau 4.Quantité de poudre et les volumes apropries pour la préparation des milie	eux de
culture	24
Tableau 5. Evaluation de la susceptibilité microbienne en fonction des diamètres des	halos
d'inhibition(Djenane et al., 2012)	27
Tableau 6. Résultas des zones d'inhibition pour les deux extrait.	32

Liste des figures

Figure 1. Différentes parties de la plante Astragalus armatus.	8
Figure 2. Etape de préparation de la plante.	19
Figure 3. Extraction des polyphénols.	21
Figure 4.Mécanisme réactionelle du2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl(DPPH)	avec un
antioxydant(Liang et Kitts, 2014). R:H: Doneur d'hydrogène antioxydant;R	: Radical
antioxydante	23
Figure 5.Extraits prépareés de l'acétate d'éthyl et N-Butanol	25
Figure 6. Suspentions bactériennes pour chaque souche.	26
Figure 7. Rendement d'extraction des polyphénols	29
Figure 8.Courbe d'éthalonage d'acide gallique	30
Figure 9. Teneur en polyphénols totaux de l'extrait d'acétate d'éthyl et n-butanol	30
Figure 10. Courbe d'inhibition de l'acide ascorbique.	31

Liste des abréviations

APG: Angiosperm Phylogeny Group

BHT: Butylhydroxytoluène

BHA: Butylhydroxyanisole

CAT:Catalase

DMSO: Diméthylsulfoxyde

EAcE: Extrait Acétate d'éthyl

ERO: Espèce Réactive de l'Oxygène

GPx: Glutathion Réductase

G-: Gram négative

G+: Gram positive

Laison C-C: Laison carbone-carbone

MH: Muller-Hinton

SOD: Superoxyde dismutase



Introduction

La découverte des antibiotiques a marqué un tournant décisif dans l'histoire de la médecine moderne. En effet, ces médicaments miracles ont permis de traiter les maladies infectieuses, très courantes à l'époque pré-antibiotique et ainsi de sauver d'innombrables vies et donc s'imposant comme l'une des interventions le plus important et indispensables dans le domaine médical (Davies et Davies, 2010; Munita et Arias, 2017; DOUAFER, 2020).

Malheureusement, au fil de temp et en raison de leur utilisation excessive et inappropriée est accompagnée avec des effets secondaires indésirables ainsi que l'apparition des bactéries résistantes, ou ces derniers développent leurs propres moyens de défense et sont devenues de plus en plus résistantes à leur action, rendant le traitement des infections plus difficile, voire impossible, ce qui engendre un véritable problème pour la santé publique (Bouras, 2019; DOUAFER, 2020).

A l'heure actuelle, leur efficacité est menacée et la problématique de la résistance aux antibiotiques interpelle les communautés scientifiques pour la recherche des nouvelles agents thérapeutiques antibactériennes avec des effet limités pour etre utilisé comme des altérnatives aux molécules synthétique (DOUAFER, 2020). Face à ce fléau, les chercheurs ont été orienté vers le monde végétale et plus précisament les plantes médicinales qui représente une source inépuisable de molécules à activités biologiques et pharmacologiques très variées(Affi Kakou et al., 2021).

Parmi les nombreux composants bioactives présents dans les plantes, les polyphénols suscitent un intérêt croissant dans la recherche en raison de leurs multiples effets biologiques notamment l'activité antibactérienne. Leur mécanisme d'action sur les bactéries repose sur l'inhibition de la formation de biofilm ou également l'inactivation d'enzymes(Nassarawa *et al.*, 2023).

L'Algérie avec sa situation géographique et sa grande variété de climats et sols, elle se caractérise par un patrimoin végétale d'une richesse inestimable (Daira *et al.*, 2016). Dans ce travail nous intéréssons a l'espèse *Astragalus armatus*, l'une des plantes largement utilisées en médecine traditionelle.

Dans ce contex, les objectifs vissés dans ce travail sont : l'extraction des polyphénols ainsi que l'évaluation de leur pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH et l'activité antibactérienne *in vitro* par la méthode des puis et des disque.

Le présent travail a été articulé en deux sections principales : la première partie a été consacrée à une revue de la littérature sur la plante étudiée , les métabolites secondaires et les activités biologiques. Dans la deuxiemme partie, qui représente le coeur du travail comprennat l'extraction un essai sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait des parties aériennes d'Astragalus armatus ; et enfin une conclusion du ce travail.

Partie bibliographique

Chapitre 01 Généralité sur les plantes

Ce chapitre explore de manière approfondie les caractéristiques taxonomiques des plantes appartenant au genre *Astragalus*, en accordant une attention particulière à l'espèce *Astragalus armatus*. Il s'attarde également sur les propriétés thérapeutiques remarquables de cette plante. Dans le deuxième chapitre, nous nous intéresserons aux métabolites secondaires particulierment les polyphénols ainsi d'étudier leurs activités biologiques .

1. Aperçu bibliographique sur les Astragales

1.1.Fabacées

Les Fabacées, autrefois connues sous le nom de légumineuses ou papilionacées, représentent l'une des familles les plus importantes parmi les dicotylédones faisant partie de l'ordre des Fabales. Avec environ 730 genres et près de 19 400 espèces répertoriées (Mehellou, 2023), elles occupent la troisième place en termes de taille parmi les familles de plantes supérieures. Cette famille se distribuent dans le monde entier et se trouvent dans les zones tropicales, subtroicales ou modérées. Elles englobent une diversité de plantes, allant des herbacées aux aquatiques et xérophytes, ainsi que des arbustes, arbres, plantes grimpantes et lianes volubiles. La famille se divise en trois sous-familles distinctes : les Papilionacées, les Mimosacées et les Césalpiniacées (Labed, 2016; Mehellou, 2023). Les légumineuses sont prisées pour leurs niveaux élevés de protéines et de glucides dans l'alimentation humaine, et leur capacité à enrichir les sols en fixant l'azote atmosphérique, ce qui est crucial pour la fertilité des terres agricoles. En plus de leur utilisation alimentaire, elles trouvent des applications diverses dans des domaines tels que l'ornementation, la production de papier, et peuvent également être exploitées pour leurs bienfaits pour la santé dans la fabrication de produits chimiques et pharmaceutiques (BAZIZ, 2015).

1.2.Description botanique

Les fabacées présentent une grande diversité morphologique. Elles se caractérisent par un métabolisme azoté élevé et contiennent des acides aminés non protéogéniques. Souvent, ces plantes forment des nodules racinaires qui abritent des bactéries fixatrices d'azote, telles que *Rhizobium*. Les feuilles sont généralement alternes et peuvent être composées, avec des folioles (Boutaghane, 2013).

Les stipules, présentes sur la plupart des espèces, peuvent être minuscules à foliacées, voire transformées en épines les inflorescences des Fabacées sont généralement indéterminées, bien que parfois réduites à une seule fleur, et elles peuvent être terminales ou axillaires ; les

fleurs sont principalement hermaphrodites et peuvent être actinomorphes ou zygomorphes (Boutaghane, 2013).

Les sépales, généralement au nombre de 5, ils peuvent être disposés de manière valvaire ou imbriquée et se trouve que ce soit libres ou fusionnés. (Boutaghane, 2013).

Les étamines peuvent être nombreuses ou au nombre de 10, parfois protégées à l'intérieur du périanthe ou largement exposées. Les grains de pollen sont généralement tricolporés, tricolpés ou triporés. L'ovaire est généralement supère avec une placentation pariétale. Le fruit typique des Fabacées est une gousse(Boutaghane, 2013).

1.3. Classification botanique des Fabaceaes

La classification phylogénétique APG III (2009) divise ce groupe en 3 sous familles qui sont :

1.3.1.Mimosoidées

Les membres de cette famille présentent généralement une tige ligneuse, bien que parfois herbacée. Leurs feuilles sont généralement bi-tripinnées ou simples. Leurs fleurs sont généralement petites, régulières, et peuvent être hermaphrodites ou polygames. Avec environ 62 genres et quelque 2500 espèces répertoriées, la majorité des membres de cette famille sont des arbres et arbustes adaptés aux climats tropicaux et subtropicaux(Shi *et al.*, 2015; Labed, 2016).

1.3.2. Caesalpinioidées

Elle comprennent des arbres ou des arbustes à feuilles généralement composées, avec des fleurs plus ou moins irrégulières. Cette sous-famille compte environ 150 genres et 2200 espèces, principalement réparties dans les zones tropicales et subtropicales (Labed, 2016).

1.3.3. Papilionacées ou Faboidées

La sous-famille la plus diversifiée compte 429 genres et dépasse les 12 000 espèces, englobant une gamme allant des herbes aux petits arbustes, et elle est presque omniprésente, prospérant dans les zones tempérées et tropicales. Elle comprend de nombreuses espèces de légumineuses bien connues, telles que les haricots, les pois, les lentilles et les arachides. (Boutaghane, 2013; Labed, 2016).

1.4.Le genre Astragalus

Le genre *Astragalu*s est l'un des plus importants genres de la famille des légumineuses. Ce genre est représenté dans le monde par plus de de 2500 espèces à fort taux de diversification, de spéciation et d'endémisme et dont l'origine probable est l'Eurasie, ont été identifiés deux centres de diversification qui sont l'Eurasie et l'Amérique du Nord(Sanderson et Wojciechowski, 1996; Scherson *et al.*, 2008).

1.4.1 Espèce étudiée

La plante étudiée à été choisie en raison de leur utilisation courante en Algérie, notamment dans la région semi-aride de Biskra. Elle possède des vertus thérapeutiques reconnues et sont largement utilisées comme source de fourrage, particulièrement *l'Astragalus armatus*.

1.4.2. Astragalus armatus

Astragalus armatus est un arbuste endémique de l'Afrique du Nord(Algérie, Maroc et en Tunisie). Cette espèce méditerranéenne se pousse principalement dans la zone pré-désertique du Sahara septentrional. Elle est souvent associée à la désertification des zones arides, causée principalement par le surpâturage (Khalfallah *et al.*, 2013).

1.4.3. Description botanique

C'est un arbrisseau très ramifié et extrêmement épineux avec des épines blanchâtres, pouvant atteindre 80 cm de hauteur. Le rachis des feuilles se transforme en épine acérée après la chute des folioles. Les pétioles deviennent durs et aigus, les folioles petites très caduques ; rameaux écailleux et glabres. Les feuilles, au départ regroupées en un bouquet serré, s'éloignent ensuite de la tige (Fig N1). Les rameaux sont écailleux et glabres. Les fleurs, blanches et nombreuses, entourent la tige alors que la floraison a lieu de la fin de l'hiver jusqu'à la fin du printemps(Labed, 2016).



Figure 1.Les différentes parties de la plante Astragalus armatus (Photo original).

1.4.4. Répartition géographique de l'Astragalus armatus

Ce taxon est largement répandu en Afrique du Nord, notamment en Algérie, où il forme des colonies dans la zone pré-désertique du Sahara septentrional. C'est l'une des plantes les plus courantes en Algérie, présente dans toutes les montagnes des régions semi-arides. La croissance des espèces du genre *Astragalus* se déroule de l'automne au printemps(Moussaoui et *al.*, 2011).

1.4.5. Classification botanique

Selon la classification d'APG III (2009) (THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP, 2009) ; la classification est décrite dans le tableau suivant :

Tableau 1. Classification botanique de l'Astragalus armatus. (APG III (2009)

Règne	Plantae	
Sous-règne	Tracheobionta	
Division/Phylum	Magnoliophyta	
Classe	Magnoliopsida	
Ordre	Fabales (Fabacées, Légumineuses)	
Famille	Fabacées (Leguminosae)	
Sous-famille	Faboideae	
Tribu	Galeginae	
Genre	Astragalus L.	
Espèce	Astragalus armatus Willd.	

1.4.6. Composés chimiques de l'Astragalus armatus

L'Astragalus armatus contient divers composés bioactifs, notamment des flavonoïdes, des polysaccharides, des glycosides triterpéniques (comme les astragalosides), des acides aminés et des traces de minéraux. Il contient également de l'astragaline, un flavonoïde qui agit comme un puissant antioxydant(Khalfallah et al., 2013).

1.4.7. Utilisation d'Astragalus armatus en médecine traditionnelle

En Algérie, *l'Astragalus armatus* est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections. Les racines de cette plante sont particulièrement prisées pour leur efficacité dans le traitement de la leishmaniose, , tandis que les graines sont également utilisées pour traiter l'helminthiase(Amiri *et al.*, 2020).

Dans la région de Ghardaia, les habitants utilisent l'écorce et les graines d'*Astragalus armatus* pour soigner diverses affections telles que les blessures, les troubles gastro-intestinaux, les douleurs, la fièvre et la constipation(Labed, 2016).

Dans le sud du Maroc, les parties aériennes fraîches broyées *d'Astragalus armatus* sont employées localement pour traiter les morsures de serpents et de scorpions(Labed, 2016).

L'extrait d'A. armatus présente un potentiel thérapeutique dans la prévention et le traitement des maladies cardiovasculaires associées à l'hyperhomocystéinémie, Algeria et al., 2022).

Chapitre 02 Polyphénols et activité biologique

1.Généralité

Les métabolites secondaires, ou composés naturels, constituent une classe très diversifiée de petites molécules organiques complexes, synthétisées en quantités limitées par divers organismes vivants. Ces composés sont généralement répartis en trois groupes : les polyphénols, dont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanidines, les tannins et les quinones, les terpénoïdes et leurs dérivés et les alcaloïdes(Bourgaud *et al.*, 2001).

2. Polyphénols

Les métabolites secondaires constituent le groupe de composés le plus vaste et le plus étendu du règne végétal, avec plus de 8000 structures identifiées. Leurs structures vont de composés simples avec un seul noyau aromatique à des macromolécules complexes(A. Hussein et A. El-Anssary, 2019). Ces composés sont caractérisés par la présence d'un noyau benzénique avec des groupes hydroxyles libres ou attachés à fonctionnalité ester, éther ou glycosidique(Elie, 2022). Ils sont connus pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques ainsi que pour leur rôle dans les pigments, la saveur et l'arôme des plantes. Leur rôle principal chez les plantes est de protéger contre les agents pathogènes et les herbivores, et de réduire les dommages causés par les rayons ultraviolets (A. Hussein et A. El-Anssary, 2019; Elie, 2022).

2.1. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols, peuvent être classés en plusieurs catégories en fonction de leur structure chimique ou la voix de synthèse.

2.1.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés organiques qui présentent au moins un groupe carboxyle (COOH) et un groupe hydroxyle phénolique (OH) dans leur structure chimique. Ils sont regroupés en deux classes principales : les acides hydroxybenzoïques, dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1), comprenant des composés comme l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique et l'acide gallique ; et les acides hydroxycinnamiques, dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3), incluant des composés tels que l'acide para-coumarique (p-coumarique)(Chira et al., 2008; Elie, 2022).

2.1.2.Flavonoïdes

Une classe majeure de polyphénols, se subdivisent en plusieurs sous-groupes, notamment les flavones, les flavanols, les flavanones, les flavonols, les isoflavones et les anthocyanidines(A. Hussein et A. El-Anssary, 2019). Leur structure fondamentale est

caractérisée par deux cycles phényles, appelés cycles A et B, reliés par une chaîne de trois atomes de carbone (connue sous le nom de structure en C6-C3-C6)(Chira *et al.*, 2008). Ils présentent un large éventail de bénéfices médicinaux, notamment des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antivirales(Ghedira, 2005).

2.1.3. Tanins

Les tanins sont typiquement des polyphénols hautement polymérisés, formés par la condensation de sous-unités de flavonoïdes ou d'acides phénoliques. Leur structure chimique peut être très complexe, allant de simples dimères à de grands polymères. Ces composés sont responsables de la sensation d'astringence (Krief, 2003). Deux catégories distinctes de tanins généralement reconnus : les tanins hydrolysables et les tanins condensés(Sargsyan *et al.*, 2020).

2.1.3.1. Tanins hydrolysables

Ils se composent de polyphénols (acide gallique et/ou acide hexahydroxydiphénique) liés par ester à un motif hexose, et comme leur nom l'indique, ils peuvent être hydrolysés par chauffage avec un acide faible(McMahon *et al.*, 2000).

2.1.3.2. Tanins condensés

Ils sont des polymères de flavan-3-ol (par exemple, la catéchine) ou de flavan-3,4-diol (proanthocyanidines) liés par des liaisons C-C ou C-O-C pour former des composés de poids moléculaire variable(McMahon *et al.*, 2000).

3. Activités biologiques

3.1. Activité antioxydante

Le stress oxydatif est un processus physiologique qui ce défini comme un état de déséquilibre entre excès de radicaux oxydants (libres) et une dégradation insuffisante de ces radicaux par les systèmes antioxydants (Vodošek Hojs *et al.*, 2020). En autre les radicaux se sont des molécules instables et hautement réactives susceptibles de causer des dommages cellulaires et de contribuer au développement de diverses maladies et affections, y compris les maladies cardiovasculaires, le cancer, le vieillissement prématuré et les maladies neurodégénératives(Daenen *et al.*, 2019). L'activité antioxydante, quant à elle, désigne la capacité des antioxydants à neutraliser les radicaux libres, réduisant ainsi les dommages oxydatifs. En rétablissant l'équilibre oxydant-antioxydant, cette activité antioxydante protège les cellules contre le stress oxydatif, favorisant ainsi la santé et le bien-être(Habibou *et al.*, 2019).

3.1.1.Antioxydant

Un antioxydant occupe une fonction vitale dans la préservation de l'organisme contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Il se réfère à toute substance qui, à faible concentration, peut rivaliser avec d'autres substrats oxydables ainsi de retarder ou d'inhiber significativement l'oxydation de ce substrat(Atta *et al.*, 2017).

3.1.2. Types des systèmes antioxydants

Les systèmes antioxydants peuvent être catégorisés comme suit (Tableau2): les antioxydants endogènes (qu'ils soient enzymatiques ou non-enzymatiques) et les antioxydants exogènes, naturels ou synthétiques.

Tableau 2. Système antioxydant

Antioxydante	Mécanisme d'action	Référence
Antioxydants endogènes enzymatiques		(Hameister
		et al., 2020)
Superoxyde dismutase (SOD)	H2O2 +O2	
Glutathion peroxydase (GPx)	$2GSH + H2O2 \rightarrow GSSG + 2H2O$	
Glutathion réductase	GSSG + NADPH + H+ 2 GSH + NADP+	
Catalase (CAT)	2 H2O2 ⇒ 2 H2O + O2	
Antioxydants endogènes non enzymatiques		
Glutathion, NADPH, coenzymes Q,	Neutralisation des radicaux libres(agent	(Neha et
albumine, bilirubine, acide urique	réducteur)	al., 2019)
Lipides		
Hormones : Mélatonine	Captage des radicaux libres, stimulation des	
	enzymes antioxydantes	
Antioxydants exogène		
Vitamin C,E	Piégeage des radicaux libres	(Hameister
		et al., 2020)
Caroténoïdes dont la vitamine A		
Polyphénols dont les flavonoïdes		
Antioxydants synthétiques		
Butylhydroxytoluène(BHT),	Protection contre l'oxydation	(Ghedadba
Butylhydroxyanisole (BHA).		et al., 2015)

3.2. Activité anti-microbienne

L'activité antibactérienne désigne la capacité d'une substance, telle qu'un antibiotique, à inhiber la croissance ou à éliminer les bactéries. Cette activité peut varier en fonction de plusieurs facteurs, notamment la concentration de la substance, le type de bactérie ciblée et la sensibilité de cette dernière à l'antibiotique(Yala *et al.*, 2001). Les plantes offrent une source prometteuse d'inspiration pour de nouveaux médicaments, grâce à leurs métabolites secondaires dotées d'une activité antibactérienne, parmi lesquelles les polyphénols les flavonoïdes et les alcaloïdes(Eshboev *et al.*, 2023).

3.2.1.Infection bactérienne

Lorsqu'une bactérie pathogène, s'introduit dans un organisme hôte, elle déclenche une série d'événements qui peuvent mener à une infection bactérienne. Cette invasion microscopique met à rude épreuve les défenses naturelles du corps, fragilisant l'hôte et permettant aux bactéries de proliférer et d'accroître leur virulence et par concéquence causer des dommages (KHIATI, 1999 ;(Benbrinis, 2012).

3.2.2.Description des bactéries étudiées

3.2.2.1. Escherichia coli

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif qui appartienne de la famille des Enterobacteriaceae (Pichard et Beytout, 2002). C'est l'habitante la plus courante du tractus gastro-intestinal des humains et des animaux (Allocati et al., 2013). Elle se distingue par plusieur caractéristique notamment une forme non sporulée, Aérobie facultative, Mobilité flagellaire avec un dimmension omprise entre 2 et 6 micromètres, elle est responsable Infections urinaires aiguës, Diarrhées d'été (OUCHOUKA, 2016).

3.2.2.Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus sont des coques regroupées en amas de Gram positif, immobiles, anaérobies facultatives, non exigeantes(OUCHOUKA, 2016).

3.2.2.3. Proteus mirabolis

Proteus mirabolis est une bactérie de Gram négative, en forme de bâtonnet de 1 à 2 μm de longueur, asporulée, anaérobie facultatif, mobile, faisant partie de la famille des Enterobacteriaceae. On la trouve couramment dans l'intestin des humains et des animaux, ainsi que dans le sol et l'eau (BOUDJEMAA, 2020).

3.2.2.4. levure C andida

Candida levure est un genre de champignon microscopique qui se trouve dans la bouche, l'intestin et le vagin, et ne causent généralement aucun problème. Cependant, dans certaines cas, Candida peut proliférer et provoquer une infection appelée candidose(Lewis et Williams, 2017).

3.2.3. Principaux Substances antibactériennes

3.2.3.1.Antibiotique

Les antibiotiques sont des composés, soit naturels issus de micro-organismes tels que les champignons microscopiques et les bactéries, soit synthétisés chimiquement. Même à de très faibles concentrations, ils ont la capacité d'entraver la croissance voire d'éliminer les bactéries et d'autres micro-organismes, sans causer de dommages aux cellules eucaryotes de l'hôte(Yala *et al.*, 2001).

3.2.3.2.Polyphénols

Le mécanisme de toxicité des composés phénoliques peut être attribué à plusieurs processus. Il inclut l'inhibition des enzymes, l'inactivation des protéines de transport via la formation de ponts hydrogène avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes (Nassarawa *et al.*, 2023).

3.2.4. Activité antibactérienne des polyphénols

Les polyphénols se sont des composé doté d'une activité antimicrobienne très intéréssante, probablement due à leurs diversités structurales (Benbrinis, 2012). Parmi les polyphénols, les flavane-3-ols, les flavonols et les tannins se distinguent par leur large spectre d'action et leur efficacité contre divers facteurs de virulence microbienne, en effet ils peuvent inhiber la formation de biofilms, réduire l'adhésion des microbes aux cellules hôtes et neutraliser les toxines bactériennes(Daglia, 2012).

La quercétine et la naringénine sont rapportés être des inhibiteurs de plusieur types de souche batérienne parmi eux *Bacillus subtilis, Candida albicans, Escherichia coli, Staphylococcus nervous, Staphylococcus epidermis et Saccharomyces cerevisiae* (Daglia, 2011) cité par(Benbrinis, 2012).

Partie expérimentale

Ce travail a été effectué au niveau du laboratoire de Département des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Mohamed khider biskra et égalemnt au niveau de laboratoire Hakim Saadan de biskra. Il est consacré à l'étude de l'activité antibactérienne des extraitss organiques de *l'Astragalus armatus*.

1.Matériel

1.1. Matériel biologique

Dans le cadre de ce travail, *l'Astragalus armatus* à été récolté en mois du mai dans la région Bordj Nos (Commune El Hadjeb), willaya de biskra. L'identification de cette éspèce végétale a ensuite été éfféctuée par Mme Mokrani Djamila (Département de Sciences de la Nature et de la Vie , Faculté des sciences Exavtes et des Sciences de la Nature et de la Vie , Université Mohamed Khider biskra).

1.2. Souches utilisées

Des souches d'origine clinique ont été séléctioné pour cette travail (deux éspèses de Gram négatif et l'autre Gram positif). Les souches (*Staphylococcus aureus* et *Candida levure*) ont été obtenues à l'état conservées a partir du laboratoire Elhayat, Tandis que les autres souche s(*Escherichia coli* et *Proteus mirabolis*) ont été obtenu a partir de l'Hopital de Hakim Saadan willaya de biskra.

Tableau 3.Liste de souches bactérienne (d'origine clinique).

Espèce	Forme	Gram
Staphylococcus aureus	Cocci	(+)
Escherichia coli	Bacille	(-)
Proteus mirabolis	Bacille	(-)
Candida levure	Blastospores ou Hyphes	

1.2. Matériel instrumental et réactifs chimiques

1.2.1.Instrument et produits chimiques

Les produits employés pour la réalisation de ce travail incluent le méthanol,éthanol, Acétat d'éthyle, N- Butanol, L'eau physiologique stérile, Diméthyle sulfoxyde (DMSO).

En ce qui concerne les milieux de culture nous avons utilisé trois type ; Mueller-Hinton (MH) boullion, Mueller-Hinton agar et Sabouraud.

L'équipement utilisé comprend une balance numérique (SCOUT SE-OHAUS), balance analytique (KERN-ABJ), rotavapeur (HEIDOLPH), Vortex (VELP SCIENTIFICA), plaque chauffante (ISOLABO), agitateur (HANNA), Agitateur magnétique(FALC), plaque chauffante (ISOLAB), Etuve, Broyeur et différents types de verrerie(Boites pétrie, Bicher, Entonnoir, ampoule a décanter, Barreaux magnétique anse de platine, boite de Pétri, tube a essaie....).

2.Méthodes

2.1. Préparation du matériel biologique

Afin de garantir des analyses fiables la préparation rigoureuse du matériel végétale est une étape crucial (Fig 2). Cela implique un lavage minitieux des parties aériennes de *l'Astragalus armatus*, suivie d'un séchage dans l'étuve (2 jours pour notre plante) .Une fois sèché, différentes parties aerienne de la plante ont été broyées en une poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique, puis soumises à l'extraction.



Figure 2. Etape de préparation de la plante.

2.2. Préparation des extraits bruts d'Astragalus armatus

2.2.1. Extraction des polyphénols

2.2.1.1. Macération à Froid

L'extraction a été réalisée par macération à froid. Pour ce faire, 50 g du broyat ont été macérés avec 500 ml dans un solvant hydro-Méthanolique à (80%) pendant 48 heures. Tout au long de la macération, le mélange a été agité en permanence à température ambiante et maintenu

à l'abri de la lumière pour préserver l'intégrité des composés d'intérêt. Une fois la période de macération terminée ,la suspension obtenue a été soumise à une filtration sous vide. Cette opération a permis de séparer le solvant extractif riche en composés extraits, des résidus végétaux solides. Le filtrat obtenu a été ensuite évaporé au moyen d'un évaporateur rotatif afin de concentrer les composés extraits.

A.Extraction Liquide-Liquide avec l'Acétate d'Éthyle

La phase aqueuse isue de la macération est ensuite tranféré dans une ampoule a décanter. Un volume de 250 ml d'acétate d'éthyl a été ajouté à l'ampoule. Le mélange a été agité vigoureusement par retournant plusieurs fois . Le robinet est ouvret brièvement pour relâcher la pression, cela va permettant le transfert des polyphénols dans la phase organique. Après un période de repos 24H, la phase organique supérieure, contenant les polyphénols extraits, a été soigneusement prélevée à l'aide d'une pipette . L'étape d'extraction par solvant a été répétée 2 à 3 fois avec de l'acétate d'éthyle afin de maximiser la récupération des polyphénols (Fig 3). Les phases organiques issues des extractions successives ont été combinées.

B.Extraction Liquide-Liquide avec N- Butanol

La phase aqueuse 2 a été tranférée dans une ampoule a décanter. Ensuit l'ajout d'un volume approprié de méthanol et de butanol (250ml) à la solution aqueuse. Après une agitation douce et un repos de 24H, la phase supérieur contenant les polyphénols extrait a été soigneusement prélevée.

A chaque fois dans la fin de l'extration via l'ampoule les solvanst sont ensuite évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 50°C. Cette opération a permis d'obtenir un extrait concentré de polyphénols, que ce soit l'extrait d'acétat d'éthyl et N-Butanol.

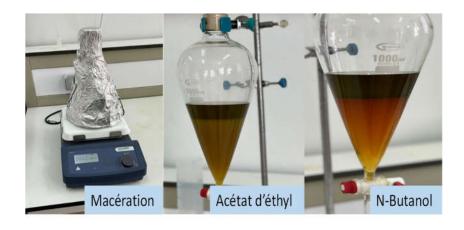
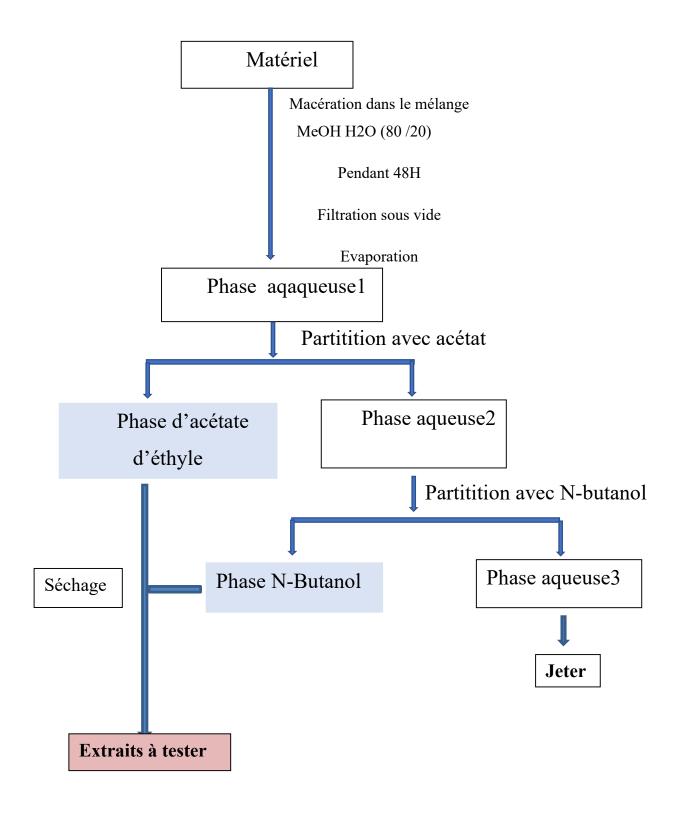


Figure 3. Extraction des polyphénols.



Schema.1. Protocole d'extraction des polyphénols.

2.2.2. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement de concentration des polyphénols a été évalué en utilisant une formule simple basée sur le changement de volume du liquide après évaporation dans un rotavapeur. La formule appliquée est la suivante:

Rendement (%) =
$$(V \text{ final } / V \text{ initial}) \times 100$$

Où:

V_final: Représente le volume final du liquide concentré obtenu après évaporation dans le rotavapeur.

V initial: Correspond au volume initial du liquide avant l'évaporation dans le rotavapeur.

2.3. Dosage des polyphénols

La quantification des composés phénoliques soluble dans les extraits à été effectuée selon la méthode colorimétrique au réactif de Folin-Ciocalteudécrit par (Deghima et *al.*, 2020). Cette méthode basée sur l'oxydation des polyphénols présents dans l'echantillion avec le réactifs Folin-Ciocalteu, qui est un composé de couleur jaune formée d'un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et d'acide phosphomolybdique (H3PM012O40). Cette oxydation forment un complexe bleu composé d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur bleue du complexe formée est également proportionnelle à la concentration des composés phénoliques dans l'échantillon (Boizot et Charpentier, 2006).

Mode opératoire

Pour ce faire, (100 μL) d'extraits dilués dans le méthanol à une concentration de 1 mg/ml à été mélanger avec 500 μl de Folin-Ciocalteu dilués dix fois (1/10) et incubé pendant 4min. 400 μL de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 2 % sont ajoutés et 1 'incubation se poursuit pendant 2h à l'obscurité et à température ambiante. Les mêmes étapes ont été suivies pour construire une gamme d'éthalonage préparée avec l'acide gallique. Les valeurs de l'absorbance du mélange réactionelle ont été mésuré à 760 nm et sont exprimés en milligramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec (mg EAG/mg d'extrait sec).

2.4. Activité de piégeage des radicaux libres (DPPH)

Le (DPPH), qui signifie 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl est un radical libre stable qui possède un électron célibataire non apparié, elle se caractérise par une couleur violete intense en solution(Sharma & Bhat, 2009). Cette substance subit à une réaction de réduction lorsqu'il entre en contacte avec des substanes capable de donner des éléctrons et la réaction ce qui s'assure la formation de composé stable et sont pas plus réactif (Fig 4). Cette réaction de réduction se traduit par un changement de couleur observable à l'œil nu ou mesurable avec un spectrophotomètre, généralement en utilisant une longueur d'onde de 517 nm. Plus la décoloration est rapide et intense, plus le pouvoir antioxydant de la substance testée est élevée (Dieng et al., 2015).

Figure 4.Mécanisme réactionelle du2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl(DPPH) avec un antioxydant(Liang et Kitts, 2014). **R:H**: Doneur d'hydrogène antioxydant; **R**: Radical antioxydante.

2.4.1.Évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode DPPH

L'effet scavenger de l'extrait d'acétate d'éthyl et n-Butanol de *l'Astragalus armatus* visà-vis du radical DPPH est évalué selon la méthode décrite par de Garcia-Herreros et *al.* (2010), décrite par Deghima et *al.*, (2021).

Mode opératoire

Un volume de 500 µl de la solution de DPPH (0,04 mg/ml) préparé préalablement est mélangé avec 500 µl des solutions d'extraits ou un antioxydant standard (Trolox) à différentes concentrations. Après l'incubation pendant 30min à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mésurée à 517 nm. Le pourcentage de l'activité de piégage est calculé selon l'équation suivante :

Ac : absorbance du contrôle.

At: Absorbance du test.

2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro

2.5.1. Stérilisation du matériel

Les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes ont été stérilisés en premier à sec dans un four pasteur, alors que la gélose nutritive a été stérilisée à l'autoclave.

2.5.2. Préparation des milieux de culture

Les milieux des cultures utilisée sont le Muller-Hinton agar et Saboraud agar.

Pour les milieux de culture Muller-Hinton agar et les quantités montionnées dans le tableau 4 ont été dissous dans l'eau distilée avec les volumes apopriée en chauffant doucement jusqu'à dissolution complète. Ensuite ; on verse le milieu encore chaud dans des boîtes de Pétri stériles et laisser refroidir et solidifier.

Pour le milieu de culture Muller-Hinton bouillion a été préparé de la meme méthode mais la durée est moins que les autres, après répartir le milieu dans des tubes à essai stériles. Enfin Stériliser les tubes à essai à l'autoclave pendant 15 minutes à 121°C.

Tableau 4.Quantité de poudre et les volumes apropries pour la préparation des milieux de culture.

Milieu de culture	Quantité	Volume d'eau	Duré d'ébolution
Muller-Hinton agar	38 grammes	1L	1H
Muller-Hinton bouillion	21 grammes	1L	Demi heure
Sabouraud agar	32,525 grammes	500ml	1H

2.5.3. Préparation des extraits

La solubilisation des extrait obtenu est faite dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), pour cela 1650 mg de l'extrait N-Butanol ont été dissous dans 16,5ml de DMSO, tendi que 480mg de l'extrait d'acétate d'éthyl ont été disous dans 4,8ml de DMSO (Fig5). Ensuite, une simple agitation avec le vortex a été effectuée afin de bien solubiliser l'extrait.



Figure 5.Les extraits préparer de l'acétate d'éthyl et N-Butanol.

2.5.4. Préparation de la suspension bactérienne

Afin d'évaluer correctement l'activité antibactérienne ; il est nécessaire d'utiliser des souches bactériennes jeunes et actives en plaine croissance exponentielle. Pour cela les souches sont d'abord ensomencées dans des boites de Pétri contennant le milieu Mueller Hinton, puis incubées pendant 24h à 37C°. Après une bonne colonisation bactérienne, bien isolée sont prélevées a l'aide d'une anse de platine chauffée pour chaque type de bactérie, est ensuite décharger dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 de NaCl. Les tubes contenant les suspensions ainsi préparées (Fig6), sont bien homogéniser à l'aide d'un vortex. Enfin la densité optique est lue à 600nm. L'inoculom obtenu doit avoir une densité optique de 10⁸ UFC/ml. Si necessaire la concentration est peut etre ajustée par l'eau physiologique ou des colonies jeunes.

Chapitre 03 Matériel et méthodes

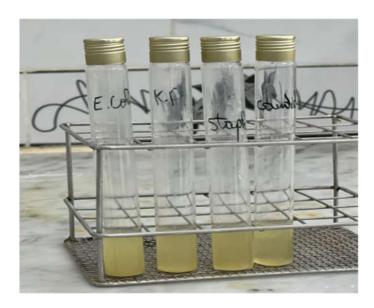


Figure 6. Les suspentions bactériennes pour chaque souche.

2.5.5.Ensemencement

Le milieu Mueller-Hinton agar est coulé préalablement dans des boite de Pétri . Une fois le milieu solidifiée, la suspention bactérienne est imbibée avec un écouvillon stérile en éliminant l'excès de liquide par pression contre la paroi interne du tube. Ensuite les mélanges sont étalés sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas en stries serrées à trois reprises, en tournant la boite 60° à chaque fois. L'objectif est d'obtenir un étalement homogène. L'étalement a été répété trois fois pour chaque types de bactérie , donc trois pour l'extrait AcE et deux pour N-Butanol contre quatre souche.

2.5.6. Préparation des puis et les disques

D'après la méthode décrite par Gulluce *et al.*, 2007 cité par (Bouras, 2019). Dans des conditions aseptiques, trois puis ont été creusés au centre de la gélose dans laquelle sera coulée une quantité de 10µl des extraits (EAcE,N-Butanol). Dans l'autre part des disques stériles préalablement fabriquées de 6mm de diamètre de papier Wattman N=040, ensuite ils ont été coulé avec la meme quantité d'extrait que les puis. Après incubation , des zones d'inhibition dont obtenus pour les extrait qui possède une activité antibactérienne sont mésurées.

2.5.7.Lecture

L'efficacité de l'extrait a testé contre les bactéries cibles et de la lévure a été évalué en fonction des zones d'inhibition et leur sensibilité est classé selon la taille de la zone (Tab 5).

Chapitre 03 Matériel et méthodes

Tableau 5.Evaluation de la susceptibilité microbienne en fonction des diamètres des halos d'inhibition(Djenane *et al.*, 2012).

Sensibilité des souches	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	Diamètre < 8mm
Sensible (+)	Diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible (++)	Diamètre compris entre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible (+++)	Diamètre > 20 mm

Chapitre 4 Résultats et discussions

Chapitre 04 Résultats et discussions

1. Résultats des tests biologiques

1.1.Le rendement d'extraction

Dans le présent travail, l'extraction des polyphénols de la macération froide suivi par extraction liquide liquide nous a permet d'obtenir deux extraits (Eau et n-Butanol) sous forme d'une poudre avec une couleur brune. Le rendement est exprimé en pourcentage de matière végétale sèche, évalue la quantité de substance extraite par rapport à la matière sèche initiale totale utilisée. Les résultats de l'extraction des parties aériennes de la plante ont donné les rendements suivants (Fig 7) :

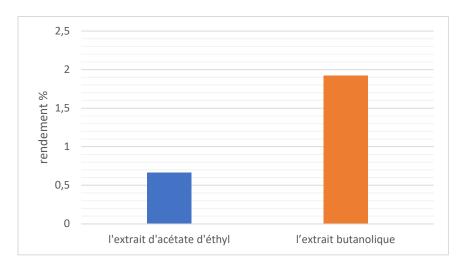


Figure 7. Rendement d'extraction des polyphénols.

Selon les résultats illustrés dans la figure, nous avons remarqué que l'extrait butanolique présente le rendement le plus élevé de l'ordre de 1.92% par rapport à l'extrait d'acétate d'éthyl qui présente un rendement de 0.66%.

Les différences des rendements peuvent être expliquées par l'état physiologique des plantes ; la saison et la période de la récolte, ou par les différences des conditions expérimentales au laboratoire, type d'extraction (décoction, infusion ou par macération...), et le degré de pureté d'alcool utilisé dans la précipitation et le volume utilisé. Ainsi, le pH et la température des milieux d'extraction influent sur le rendement massique d'extraction (Ebringerová et *al.*, 2003) ; ainsi certains auteurs détermine que le temps représente l'un des facteurs affectant le rendement massique de l'extraction (Miao et *al.*, 2011).

Sachant que les polysaccharides sont des métabolites primaires donc ils sont utilisés comme des précurseurs d'autres métabolites secondaires, les composés phénoliques peuvent également être associés à d'autres composants tels que des glucides et des protéines (Santos-Buelga et *al.*, 2012).

De plus, les interactions entre ces paramètres peuvent également influencer le rendement d'extraction (Brebion, 2013).

1.2.Dosage des Polyphénols

La concentration des polyphénols totaux à été déterminé a l'aide de réactif Folin-Ciocalteu en utilisant une courbe d'éthalonage établir avec l'acide gallique comme standard ; présenté dans la figure suivante :

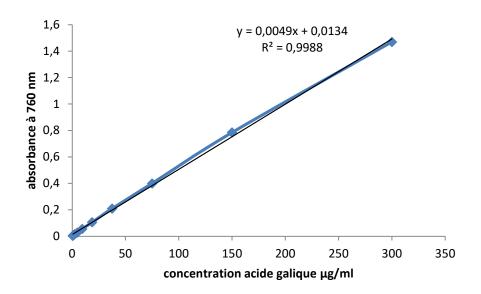


Figure 8. Courbe d'éthalonage d'acide gallique.

La quantité est exprimé en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait). Les valeur obtenues sont récapitulés dans la figure suivante:

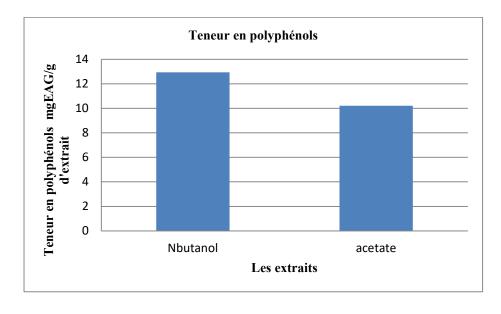


Figure 9. Teneur en polyphénols totaux de l'extrait d'acétate d'éthyl et n-butanol.

Chapitre 04 Résultats et discussions

Les résultats obtenues montre que l'extrait de n-butanole est le plus riche en composés phénoliques (12,94mg EAG/g E) ; suivi par l'extrait d'acétate d'éthyl (10,20mg EAG/g E). Les fluctuations de la teneur en composés phénoliques de la plante peuvent être expliquées par plusieurs facteurs, parmi lesquelles la période de croissance, les conditions météorologiques, le lieu géographique, le stade de maturité des plantes, ainsi que les techniques utilisées lors de l'extraction (Nurzyńska-Wierdak, 2023).

1.3. Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antiradicalaire contre le DPPH• a été réalisée en utilisant L'acide ascorbique comme antioxydant standard. Nos résultats montrent que de la fraction AcE possède une méilleur activité inhibitrice (96%) pour la concentration (46.87 µg/mL) en comparaison avec la fraction butanolique qui possède une activité (54%) pour la concentration (46.87 µg/mL) . l'activité antioxydants de l'acide ascorbique est meilleur par rapport aux extraits avec un taux 100% pour la concentration 5µg/ml. En plus, en comparaison avec les résultat de Labed et al., (2016) ou il a obtenu une activité comprise de (CI50 = 67.90 ± 0.57 µg/mL), et (CI50 = 80.37 ± 0.81 µg/mL) pour la fraction d'acétate d'éthyl et n-butanol respectivement (Fig 10).

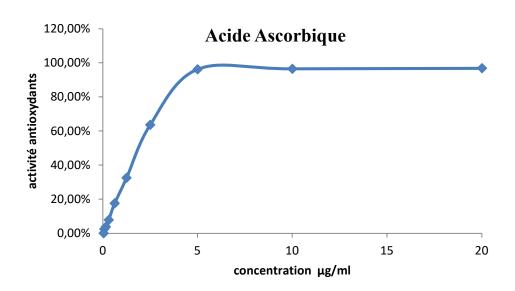


Figure 10. Courbe d'inhibition de l'acide ascorbique.

1.4. Activité antibactérien des extraits

On a étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien des extraits isolés des parties aérienne de l'astragalus armatus. Les résultats des différents tests antibactériens réalisés sont représentés dans le tableau 6 :

Chapitre 04 Résultats et discussions

Tableau 6. Résultas des z	zones d'inhibi	tion pour les o	leux extrait.

	Candida levure		Escherichia coli		Staphylococcus aureus			Proteus mirabolis				
Extrait de AcE (mm)	7	3.5	7	3	2.5	3.5	6.5	6.5	7	5	3	0
Extrait de N-Butanol(mm)	7.5	0	0	0	0	2.5	9.5	6.5	9	6	8	8.5

Les diamètres des zones d'inhibition se diffèrent d'une bactérie à une autre et d'une concentration d'un extrait à autre, l'effet antibactérien est plus ou moins important selon la nature de la souche. D'une manière globale, les extraits semblent être pas tellement efficaces vis-àvis des souches testées.

En ce qui concerne la souche *Staphylococcus aureus* dans les disques sur un milieu gélosés solides MuellerHinton, on note que le diamètre de zone d'inhibition maximal a été 9.5 (cas Extrait de N-Butanol) signifie qu'il ya une sensibilité dans ce cas. Mais Selon (TOTY A A.*et al.*,2013) les extraits dont la zone d'inhibition a un diamètre supérieur ou égal à 10mm, sont sélectionnés pour déterminer la CMI et la CMB par la méthode de contact direct en milieu liquide. Malheureusement En raison du manque de temps et de matériel nous n'avons pas pu achever notre travail.

D'autre part La résistance des souches aux extraits "substances naturelles" peut être due à la différence de structure de paroi cellulaire entre les bactéries G + et G -. En effet, les bactéries G - sont résistantes, dont elles possèdent une membrane externe qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, en la rendant imperméable aux substances de nos extraits. Par contre les bactéries G + sont les plus sensible(Cushnie et Lamb, 2011). Les bactérie *Escherichia coli* et *Proteus mirabolis*, des bactéries G- n'ont marqués aucune sensibilité par rapport aux extraits utilisés, cela confirme cette théorie.

Le choix et le rendement des solvants peuvent être des critères importants. Les extraits qui ont donné des rendements bien évidents. L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie) de différents

composés et conditions (Essawi et Srour, 2000), c'est-à-dire la température élevée et les condition de l'expirence et aussi le diplacement des echantillons peuvent etre la raison de ces résultats.

Conclusion

Conclusion

Aujourd'hui les plantes médicinales sont devenues une source essentielle et thérapeutique pour de nombreuses maladies car elles contiennent différents classes de composés actifs. Dans ce travail, nous avons testé les extrait de la plante *Astragalus Armatus* pour évaluer son efficacité en tant d'activité antibactérienne et antioxydante.

Ainsi; nous avons choisis l'astragalus armatus qui a été sélectionné dans le but de rechercher de nouveaux composés antimicrobiens et antioxydante naturels à intérêt thérapeutique. Le test d'activité antimicrobienne d'extraits des parties aériennes du la plante montre qu'elle possède une faible activité antimicrobienne.

La détermination de la teneur en polyphénol totaux a montré que l'extrait Nbutanol est meilleur par une teneur 12.94mg EAG/mg E, suivie par l'extrait d'acétate d'éthyl avec une teneur 10.20mg EAG/mg .

Les résultats obtenus pour l'activité antioxydante ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyl a la plus grande activité par rapport que l'extrait Nbutanol, bien que l'extrait d'acétate d'éthyl ait une faible quantité de polyphénol, nous concluons que les polyphénols ne sont pas les seules molécules actives de notre plante, il existe d'autres molécules liposolubles très actives.

Les résultats obtenus sont des résultats préliminaires, qui nécessitent de mener de nombreuses études pour :

- 1. Détecter et purifier toutes les molécules responsables de l'activité antioxydante dans cette plante
- 2. Faire des études in vivo pour confirmer l'activité antibactérienne et antioxydante et détecter d'autres activités biologiques de ces molécules
- 3. Faire une étude toxicologique et pharmacologique de molécules purifiées pour déterminer l'intervalle de sécurité pour l'application médicale.
- 4. Tester leur efficacité sur certaines maladies humaines

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- A. Hussein, R., et A. El-Anssary, A. (2019). Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants. In P. F. Builders (Éd.), *Herbal Medicine*. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.76139
- Affi Kakou, B., Benie, A., N'Guessan, A. H., Fernique, K. K., Guessennd, N. K., et Bekro, Y.-A. (2021). Phytochemical analysis, antibacterial activity of hydromethanol extracts from stems of Ximenia americana, Côte d'Ivoire species on methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(9), 3429-3440. https://doi.org/10.4314/ijbcs.v14i9.36
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M., et Di Ilio, C. (2013). Escherichia coli in Europe: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *10*(12), 6235-6254. https://doi.org/10.3390/ijerph10126235
- Amiri, M. S., Joharchi, M. R., Nadaf, M. (2020). Ethnobotanical knowledge of Astragalus spp.: The world's largest genus of vascular plants. 10(2).
- Atta, E. M., Mohamed, N. H., Abdelgawad, A. A. M. (2017). ANTIOXIDANTS: AN OVERVIEW ON THE NATURAL AND SYNTHETIC TYPES. *European Chemical Bulletin*, 6(8), 365. https://doi.org/10.17628/ecb.2017.6.365-375
- BAZIZ, K. (2015). Organisation du génome et étude palynologique de quelques espèces algériennes du genre Astragalus L [Thèse de Doctorat]. UNIVERSITE CONSTANTINE 1.
- Benbrinis, S. (2012). Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de Santolina chamaecyparissus [Thèse de Magistere]. UNIVERSITE FERHAT Abbas-SETIF.
- Boizot, N., Charpentier, J.-P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.

- BOUDJEMAA, H. (2020). Prévalence et caractérisation moléculaire de la résistance aux antibiotiques chez Proteus mirabilis [Thèse de Doctorat]. Hassiba Benbou Ali de Chlef.
- Bouras, M. (2019). Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'Est Algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques. [Thèse de Doctorat]. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA-.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. *Plant Science*, *161*(5), 839-851. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00490-3
- Boutaghane, N. (2013). Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes Genista ulicina Spach (Fabaceae) et Chrysanthemum macrocarpum (Sch. Bip.) Coss. Kralik ex Batt (Asteraceae) [Thèse de Doctorat]. UNIVERSITE CONSTANTINE 1.
- Brebion, J., (2013). Statistical analysis of the influence of extraction parameters on the extraction yields, extract and polysaccharide compositions and prebiotic activities of seaweed extracts from Ascophyllumnodosum. these de doctorate .98-100 p.
- Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., Teissèdre, P.-L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82. https://doi.org/10.1007/s10298-008-0293-3
- Cushnie, T. P. T., Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *38*(2), 99-107. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014
- Daenen, K., Andries, A., Mekahli, D., Van Schepdael, A., Jouret, F.,Bammens, B. (2019).

 Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology*, *34*(6), 975-991. https://doi.org/10.1007/s00467-018-4005-4
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174-181. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007

- Daira, N. E.-H., Maazi, M. C., Chefrour, A. (2016). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. De l'Est Algérien. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 276-290. https://doi.org/10.25518/0037-9565.6494
- Davies, J., Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology* and *Molecular Biology Reviews*, 74(3), 417-433. https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10
- Deghima, A., Righi, N., Rosales-Conrado, N., León-González, M. E., Gómez-Mejía, E., Madrid, Y., Baali, F.,Bedjou, F. (2020). Bioactive polyphenols from Ranunculus macrophyllus Desf. Roots: Quantification, identification and antioxidant activity. *South African Journal of Botany*, *132*, 204-214. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.03.036
- Dieng, M., Fall, A., Diatta, K., Diatta, W., Bassene, E. (2015). Dosage des polyphénols et activité anti-oxydante de feuilles et d'inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, Mart. (*Arecaceae*). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(2), 1067. https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i2.41
- Djenane, D., Yangüela, J., Derriche, F., Bouarab, L. (2012). *Utilisation des composés de feuilles*d'olivier comme agents antimicrobiens; application pour la conservation de la viande

 fraîche de dinde.
- DOUAFER, H. (2020). Développement et évaluation d'une forme pharmaceutique antibiotique pour inhalation vis-à-vis des bactéries pulmonaires résistantes de Pseudomonas aeruginosa [Thèse de Doctorat]. Aix Marseille Université.
- Ebringerová, A., Kardošová, A., Hromádková, Z., Hříbalová, V. (2003). Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, 74(1-2), 52-61. https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00295-2
- Elie, F. (2022). Les phénols et les polyphénols.

- Eshboev, F., Karakozova, M., Abdurakhmanov, J., Bobakulov, K., Dolimov, K., Abdurashidov, A., Baymirzaev, A., Makhnyov, A., Terenteva, E., Sasmakov, S., Piyakina, G., Egamberdieva, D., Nazarov, P. A., Azimova, S. (2023). Antimicrobial and Cytotoxic Activities of the Secondary Metabolites of Endophytic Fungi Isolated from the Medicinal Plant Hyssopus officinalis. *Antibiotics*, 12(7), 1201. https://doi.org/10.3390/antibiotics12071201
- Essawi, T., Srour, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(3), 343-349. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00187-7
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselsela, H., & Oueld-Mokhtar, S. M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, *13*(2), 118-129. https://doi.org/10.1007/s10298-015-0944-4
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie*, 3(4), 162-169. https://doi.org/10.1007/s10298-005-0096-8
- Habibou, H. H., Idrissa, M., Khalid, I., Benjamin, O., & Rabani, A. (2019). Activité
 Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Differents Organes de Detarium
 microcarpum Guill. Perr. European Scientific Journal ESJ, 15(12).
 https://doi.org/10.19044/esj.2019.v15n12p159
- Hameister, R., Kaur, C., Dheen, S. T., Lohmann, C. H.,Singh, G. (2020). Reactive oxygen/nitrogen species (ROS/RNS) and oxidative stress in arthroplasty. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 108(5), 2073-2087. https://doi.org/10.1002/jbm.b.34546

- Khalfallah, A., Karioti, A., Berrehal, D., Lucci, M., Bilia, A. R., Kabouche, Z. (2013). A New Flavonol Triglycoside and Other Flavonol Glycosides from *Astragalus armatus* Willd. (Fabaceae). *Rec. Nat. Prod.*
- Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées [Thèse de Doctorat].
- Labed, A. (2016). Investigation phytochimique et biologique de l'espèce Astragalus armatus ssp. Numidicus(Coss. Et Dur.) Maire. Et Synthèse catalytique de nouveaux dérivés julolidines [Thèse de Doctorat]. UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI-CONSTANTINE.
- Labed, A., Ferhat, M., Labed-Zouad, I., Kaplaner, E., Zerizer, S., Voutquenne-Nazabadioko, L., Alabdul Magid, A., Semra, Z., Kabouche, A., Kabouche, Z., Öztürk, M. (2016). Compounds from the pods of *Astragalus armatus* with antioxidant, anticholinesterase, antibacterial and phagocytic activities. *Pharmaceutical Biology*, *54*(12), 3026-3032. https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1200632
- Lewis, M. A. O., Williams, D. W. (2017). Diagnosis and management of oral candidosis. *British Dental Journal*, 223(9), 675-681. https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.886
- Liang, N., & Kitts, D. (2014). Antioxidant Property of Coffee Components: Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action. *Molecules*, 19(11), 19180-19208. https://doi.org/10.3390/molecules191119180
- McMahon, L. R., McAllister, T. A., Berg, B. P., Majak, W., Acharya, S. N., Popp, J. D., Coulman, B. E., Wang, Y., Cheng, K.-J. (2000). A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science*, 80(3), 469-485. https://doi.org/10.4141/P99-050

- Mehellou, Z. (2023). Caractérisation et activités biologiques des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinale récoltées dans la région d'El Oued (Sahara Septentrional Est Algérien) [Thèse de Doctorat]. UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA.
- Miao, Y.-Z., Lin, Q., Cao, Y., He, G.-H., Qiao, D.-R., Cao, Y. (2011). Extraction of water-soluble polysaccharides (WSPS) from Chinese truffle and its application in frozen yogurt. *Carbohydrate Polymers*, 86(2), 566-573. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.04.071
- Moussaoui, Y., Ferhi, F., Elaloui, E., Ben Salem, R., Belgacem, M. N. (2011). Utilisation of *Astragalus armatus* roots in papermaking. *BioResources*, 6(4), 4969-4978. https://doi.org/10.15376/biores.6.4.4969-4978
- Munita, J. M., Arias, C. A. (2017). Mechanisms of Antibiotic Resistance.
- Nassarawa, S. S., Nayik, G. A., Gupta, S. D., Areche, F. O., Jagdale, Y. D., Ansari, M. J., Hemeg, H. A., AL-Farga, A., Alotaibi, S. S. (2023). Chemical aspects of polyphenol-protein interactions and their antibacterial activity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(28), 9482-9505. https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2067830
- Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants:

 A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 178, 687-704. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.010
- Nurzyńska-Wierdak, R. (2023). Phenolic Compounds from New Natural Sources—Plant Genotype and Ontogenetic Variation. *Molecules*, 28(4), 1731. https://doi.org/10.3390/molecules28041731
- OUCHOUKA, E. B. (2016). xEtraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes [Thèse de Doctorat]. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR –ANNABA.

- Pichard, É., Beytout, J. (Éds.). (2002). *MalinTrop Afrique*: *Manuel de maladies infectieuses*pour l'Afrique. Libbey Eurotext.
- Sanderson, M. J., Wojciechowski, M. F. (1996). Diversification rates in a temperate legume clade: Are there "so many species" of *Astragalus* (Fabaceae)? *American Journal of Botany*, 83(11), 1488-1502. https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1996.tb13942.x
- Santos-Buelga, C., Gonzalez-Manzano, S., Dueñas, M., Gonzalez-Paramas, A. M. (2012). Extraction and Isolation of Phenolic Compounds. In S. D. Sarker & L. Nahar (Éds.),
 Natural Products Isolation (Vol. 864, p. 427-464). Humana Press.
 https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1_17
- Sargsyan, L., Vill, V., Hippe, T. (2020). Investigations of vegetable tannins as hair dyes and their interactions with pre-bleached hair fibres. *International Journal of Cosmetic Science*, 42(4), 320-327. https://doi.org/10.1111/ics.12624
- Scherson, R. A., Vidal, R., Sanderson, M. J. (2008). Phylogeny, biogeography, and rates of diversification of New World *Astragalus* (Leguminosae) with an emphasis on South American radiations. *American Journal of Botany*, 95(8), 1030-1039. https://doi.org/10.3732/ajb.0800017
- Sharma, O. P., Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202-1205. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008
- Shi, C. Q., Liu, M., Zhang, X. X., Cheng, X. Y., Wang, C. (2015). DEVELOPMENTAL AND MORPHOLOGICAL STUDIES OF THE SUSPENSOR AND COLEORHIZAE IN SOME TAXA OF THE SUBFAMILY MIMOSOIDEAE (FABACEAE).
- THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 105-121. https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x

- Baghriche, I., Zerizer, S., Kabouche, Z., & Khalfallah, A. (2022). THE PROTECTIVE

 EFFECT OF Astragalus Armatus ON CARDIOVASCULAR DISEASES INDUCED

 BY HYPERHOMOCYSTEINEMIA IN MICE. International journal of ecosystems and ecology science (IJEES), 12(4), 195-204. https://doi.org/10.31407/ijees12.424
- Vodošek Hojs, N., Bevc, S., Ekart, R., Hojs, R. (2020). Oxidative Stress Markers in Chronic Kidney Disease with Emphasis on Diabetic Nephropathy. *Antioxidants*, *9*(10), 925. https://doi.org/10.3390/antiox9100925
- Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., Korich, M. N. O. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques.



ملخص

هدف هذا البحث هو دراسة فعالية مضادات البكتيريا للمستخلصات الغنية بالبوليفينول المستخرجة من نبات مسببة للأمراض وهو نبات طبي يستخدم على نطاق واسع في الطب الشعبي الجزائري. تم إجراء اختبار النشاط المضاد للميكروبات على سلالات مسببة للأمراض Staphylococcus aureus و Staphylococcus aureus باستخدام طريقة السريرية ، بما في ذلك Staphylococcus aureus و Staphylococcus aureus و Staphylococcus aureus باستخدام طريقة البئر لتحديد حساسية السلالات للمستخلصات المراد اختبار ها (N-Butanol Ace). أظهرت النتائج أن Poteus mirabolis في محتوى البوليفينول بقيمة (12.94 ملغ / EAG غ EAG) و (10.20 ملغ / EAGE فضل من-n. في الخصاص المستخلصين اللذين تم اختبار هما لهما نشاط مضاد المكتيريا ضد Escherichia coli وسط-Escherichia coli معلى وسط-Staphylococcus aureus في الأقراص على وسط-Mueller في الأقراص على وسط-Proteus mirabolis الماسلية في هذه الحالة.

الكلمات المفتاحية: النشاط البيولوجي، Astragalus armatus، البوليفينول، مستخلص النول البوتاني، مستخلص الأسيتات الإيثيلي.

Résumé

Ce travail a eu pour objectif d'examiner l'éfficacité antibactérienne des extraits riche en polyphénols extrait a partir de *l'Astragalus armatus*, une plante médicinale largement utilisée dans la pharmacopée traditionnelle Algérienne. L'activité antimicrobien a été réalisée sur des souches cliniques pathogènes nottament *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabolis* et *Candida levure* en utilisant la méthode des puis afin de déterminé la sensibilité des souches aux extraits a tester (AcE,N-Butanol). Les résultats ont montré que le N-Butanol est le plus riche en polyphénols que EAcE avec (12,94mg EAG/g E) et (10,20mg EAG/g E) respectivement. Pour l'activité antioxdant EAcE c'est le mieux. Pour l'activité antimicrobienne ; nos résultat montre que les deux extraits à tester est dépervus d'une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Proteus mirabolis* et *Candida levure*, par contre pour la souche *Staphylococcus aureus* dans les disques sur un milieu gélosés solides *Mueller-Hinton*, on note que le diamètre de zone d'inhibition maximal a été 9.5 (cas Extrait de N-Butanol) signifie qu'il ya une sensibilité dans ce cas.

Mots clés : Activité biologique, Astragalus armatus, Polyphénols, Extrait N-Butanol, Extrait Acétate d'éthyl.

Abstract

This study aimed to investigate the antibacterial efficacy of polyphenol-rich extracts derived from *Astragalus armatus*, a medicinal plant widely used in traditional Algerian medicine. The antimicrobial activity was evaluated against clinically important pathogenic strains, including *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabolis*, and *Candida albicans*, using the well diffusion method to determine the susceptibility of the strains to the test extracts (AcE, N-Butanol). The results have shown that N-Butanol is the richest in polyphenol content than EAcE with (12.94 mg EAG/g E) and (10.20 mg EAG/g E) respectively. For antioxidant activity, EAcE is better than n-Butanol. For the antibacterial activity ower result show that both extracts tested have antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Candida yeast*. On the other hand, for the *Staphylococcus aureus* strain on solid *Mueller-Hinton* agar discs, it is noted that the maximum diameter of the inhibition zone was 9.5 (N-Butanol), which means that there is sensitivity in this case.

Key words: Biological activity, Astragalus armatus, Polyphenols, N-Butanol Extract, Ethyl Acetate Extract.