



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Thaouab HERZALLAH

Le : mardi 9 juillet 2019

Thème

Evaluation de l'activité biologique del'extrait de *corchorus olitorius L.*

Jury :

Mme. Bahia BACHA	MAA	Université de Biskra	Président
Mlle. Djamila MOKRANI	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
M. Asma BOUCIF	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciements

*Avant toute chose, on remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné
la force et la patience.*

*On tient à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements
à ma promotrice de ce travail, Mdm **Mokrani Djamil**a pour son
assistance et ses conseils pour assurer le succès de travail.*

Un grand merci pour les membres du jury.

Je remercie également ma famille et tous mes amis

*Enfin je remercie gracieusement toute personne qui a contribué de près
ou de loin à la réalisation de ce travail*

Dédicace

*J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes chers parents,
qui m'avez dirigé et suivi pondent toute mes années d'étude et
surtout mes parent pour*

*Leurs sacrifices de tous les instants, sa patience sans limite et l'éducation
qu'elle ma donnée, je lui dit merci mille fois.*

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

Ma famille

*Je vous remercie pour votre soutien moral, vous patience et vos dévouement
à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.*

*Et enfin je dédie ce
travaille à Tous mes amis sans exception.*

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Sommaire	I
Liste des tableaux	II
Liste des figures	III
Liste des Abréviations	IV
Introduction générale	1
Chapitre 1: Généralités sur la plante	
I.1.	3
I.2.	3
I.3.	3
I.4.	4
1.5.	4
1.6	5
1.7	6
Chapitre 2	
2.1.	7
2.1.1.	7
2.1.2.	7
2.1.2.1.	7
	7
2.1.2.2.	7
2.2.	8
2.3.	8
2.3.1.	8
2.3.2.	9
2.3.3.	9

2.4.	Les flavonoïdes	10
2.4.1.	Intérêt des flavonoïdes	10
2.5.	Tannins	11
2.6.	Les terpènes	11
Chapitre 3		
3.1.	Matériels	13
3.1.1.	Matériels non Biologiques	13
3.1.2.	Matériels Biologiques	13
3.1.2.1.	Matériel végétal	13
3.2.	Méthodes	14
3.2.1.	Extraction des polyphénols	14
3.2.1.1.	Extrait méthanolique	14
3.2.1.2.	Extrait aqueux	15
3.2.2.	Détermination du rendement	16
3.2.3.	Dosage de quelque composant de <i>Corchorusolitorius</i> L	17
3.2.3.1.	Dosage des polyphénols totaux (PPT)	17
3.2.3.2.	Dosage des flavooïdes	18
3.2.3.3.	Dosage des tannins condensés	18
3.2.3.4.	Dosage des Triterpènes	19
3.2.4.	Etude de l'activité antibactérienne	19
3.2.4.1.	Souches bactériennes testées	19
3.2.4.2.	Repiquage des souches bactériennes	20
3.2.4.3.	Inoculum bactérienne	20
3.2.4.4.	Préparation des séries de dilutions	21
3.2.4.5.	Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)	21
3.2.4.6.	Lecture de résultat	22
3.2.5.	Etude de l'activité anfongique	22
3.2.5.1.	Préparation des milieux de cultures	22
3.2.5.1.1.	Milieux PDA (Potato Dextrose Agar)	22
3.2.5.2.	Préparation des disques	23
3.2.5.3.	Préparation des extraits	23

3.2.5.4.	Repiquage des souches	23
3.2.5.5	Application des disques	24
3.2.5.6.	Préparation des boîtes	24
3.2.6.	Dénaturation de protéine BSA	24
3.2.6.1.	Activité anti-arthritique in vitro	24
3.2.6.2.	Méthode de dénaturation des protéines de sérum bovin	24
Chapitre4		
4.1.	4.1. Calcul du rendement	26
4.1.1.	La macération	26
4.1.2.	La décoction	26
4.2.	Quantification des polyphénols totaux (PPT)	27
4.3.	Dosage des flavonoïdes totaux	28
4.4.	Dosage des Tanins condensés	30
4.5.	Dosage des triterpènes	31
4.6.	Evaluation de l'activité antibactérienne	33
4.7.	Evaluations de l'activité antifongique des extraits	36
4.8.	Dénaturation de protéine BSA	38
Conclusion Générale		39
Références		40
Anexe		
Résumés		

Liste des tableaux

Tableau.1	Propriétés des feuilles d'el Mouloukhia <i>Corchorus olitorius</i> Linn.	4
Tableau. 2	Taxonomie de <i>Corchorus olitorius</i> Linn.	4
Tableau. 3	composition de la corète potagère pour 100g de partie comestible.	5
Tableau. 4	Liste des souches bactériennes testées.	20
Tableau. 5	Les diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (en mm) par la méthode de disques.	34

Liste des figures		3
Figure.1	Feuilles de corète potagère (<i>Corchorus olerius</i>).	10
Figure. 2	Acides phénoliques (hydroxybenzioc et acide cinamique)	10
Figure. 3	Les bandes caractéristiques d'un squelette flavonique	14
Figure. 4	Mode d'opération d'extraction méthanolique (photos originale).	14
Figure. 5	Mode d'opération d'extraction aqueux (photo originale).	15
Figure. 6	Protocole de l'extraction des polyphénols de l'extrait méthanolique par macération.	16
Figure. 7	Protocole de l'extraction des polyphénols de l'extrait aqueux par décoction.	17
Figure. 8	Ensemencement des bactéries (Photo originale).	21
Figure. 9	Une série de dilution de l'extrait et méthanolique aqueux et méthanolique	21
Figure.10	Préparation des disques avec différente concentration (aromatogramme) (Photo originale).	22
Figure.11	Repiquage des champignons. (Photo originale).	23
Figure.12	Histogramme représente le rendement d'extraction du <i>C. olerius</i> .	26
Figure.13	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	27
Figure.14	Histogramme représente la quantité des polyphénols ($\mu\text{g EAG/g MS}$) dans l'extrait aqueux et méthanolique de <i>C. olerius</i> .	28
Figure.15	Droite d'étalonnage du quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	29
Figure.16	Les teneurs des flavonoïdes totaux en $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait sec.	29
Figure.17	Droite d'étalonnage du catéchine pour le dosage des tanins	30
Figure.18	Histogramme représente la quantité des tanins ($\mu\text{g EAG/mg MS}$) dans l'extrait aqueux et méthanolique de <i>C. olerius</i> .	31
Figure.19	Droite d'étalonnage de l'acide Ursolique pour le dosage des Triterpènes.	32
Figure.20	Les teneurs des Triterpènes en $\mu\text{g EAU/mg}$ d'extrait sec.	32
Figure.21	Résultat de l'effet de l'extrait aqueux et méthanolique sur les souches fongique (photo original).	33
Figure.22	Pourcentage de protection de la BSA vis-à-vis d'une dénaturation thermique.	

Liste des abréviations

OMS	Organisation mondiale de la santé
Na₂CO₃	Carbonate du sodium
DMSO	Diméthyle sulfoxyde.
Ext	Extrait
ATCC	American type culture collection
<i>E.coli</i>	Escherichia coli
MH	Muller Hinton
MS	Matière sèche
UV	Ultrat violet
PDA	Potato dextrose agar la gélose.
BSA	Albumine de sérum bovin

Introduction

Générale

Introduction Générale

Depuis l'antiquité, les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale ont toujours été une source importante d'agents thérapeutiques. Actuellement, environ 25-30% de tous les médicaments disponibles pour le traitement des maladies sont dérivés des produits naturels (des plantes, des animaux, des bactéries et des champignons), ou sont des dérivés de produits naturels.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 65- 80% de la population mondiale dans les pays en sous développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire (Nsemi, 2010).

Parmi les milliers de plantes médicinales recensées à ce jour, ceux de la famille des Tiliaceae avec d'environ 40-100 espèces. Il renferme une quarantaine d'espèces dont l'espèce *corchorus olitorius* trouvée dans les pays d'Afrique et Asie et utilisé comme légume mucilagineux (Kiebre *et al.*, 2016).

Cette plante possède également différentes applications dans la médecine traditionnelle Africaine, les graines de cette espèce, en usage externe, sont efficaces contre la gangrène, la phtiriase, la gale et elles sont également antiseptiques.

La plupart des bioactifs les composants phytochimiques de *C. olitorus* offrent une diversité d'avantages pour la santé humaine.

On retrouve des antioxydants dans toutes les plantes, ils sont qualifiés de métabolites secondaires. Ces composés présentent plusieurs propriétés pharmacologiques, parmi lesquelles, nous citerons les propriétés antibactériennes, anti-inflammatoires, vasodilatatrices, anti-cancérigènes, anti-thrombiques, anti-athérogéniques, anti-pyrétiques, analgésiques, etc. (Pastor *et al.*, 2009).

Le travail que nous avons traité dans ce mémoire est axée vers l'extraction des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, tanins, tritérpène), et l'évaluation de l'effet antibactérien sur quelques souches bactériennes (*Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) et l'activité antifongique sur quelque souches fongiques (*Aspergillus niger*, *Penecillium*, *Alternaria Alternata*) des extraits méthanoliques et aqueux.

Notre travail sera donc réparti en deux parties divisées en quatre chapitres :

La première partie : Etude bibliographique contient deux chapitres :

Chapitre 1. Nous rapporterons des généralités sur la plante *Corchorus olitorius* L. l'origine, utilisation, taxonomie, description, les compositions chimiques de la plante et sur les vertus médicinales.

Chapitre 2. Montre un aperçu réduit sur les métabolites secondaires.

- **La deuxième partie :** Etude expérimentale; qui comprend :

Chapitres 3. Décrivant le matériel et les méthodes ainsi que les protocoles expérimentaux utilisés pour :

- La préparation de l'extrait phénolique de la plante.
- L'évaluation de l'activité antibactérienne.
- L'évaluation de l'activité antifongique.
- Dénaturation de la protéine BSA.

Chapitre 4. Nous présentons les différents résultats obtenus avec la discussion.

En fin une conclusion générale.

Première partie
Partie bibliographique

Chapitre 01
Généralité Sur
La Plante

1.1. Noms vernaculaires

Corchorus olitorius est connu à la fois comme plante médicinale et comme fibre de la famille des Tiliaceae. Appelé communément jute, on l'appelle molehiya dans le nord de Chypre, en Turquie et aux Philippines, moroheiya au Japon, la mauve du juif dans L'hébreu et le gombo au Nigeria et dans d'autres pays d'Afrique de l'Ouest (Özdenefe *et al.*, 2018).

1.2. Origine

Corchorus olitorius L. (molokhiya ou feuille de corète) est un légume originaire d'Égypte qui est très populaire dans la région méditerranéenne et au Moyen-Orient. Il est très nutritif et très sain et contient du calcium, du carotène, des minéraux et des vitamines A, B1 et B2.

1.3. Utilisation

Les jeunes feuilles et les pousses vertes de ce légume à croissance rapide sont choisies pour la cuisine (figure 01); (tableau 01). Elles ajoutent du goût et une texture visqueuse aux soupes et aux ragoûts. Ses graines sont utilisées comme arôme, et on prépare des infusions à partir de ses feuilles séchées. On a pu identifier cinq composés phénoliques, de l'acide caféoylquinique et des dérivés de quercitine dans des feuilles de *Corchorus olitorius* L. Ces composés polyphénoliques sont actuellement étudiés pour leur contribution à la réduction de l'obésité induite par certains régimes alimentaires.

Corchorus olitorius (Communément appelé corète potagère); pourrait être une "arme puissante" contre les carences nutritionnelles surtout dans les pays en développement, et (Kiebre *et al.*, 2016).



Figure 1. Feuilles de corète potagère (*Corchorus olitorius*(Soro,2012)).

Tableau 1. Propriétés des feuilles d'el Mouloukhia *Corchorus olitorius* Linn
(Bonnet, 2015).

Nom latin	<i>Corchorus olitorius</i> L.
Partie végétale utilisée	Feuilles
Couleur	Verte
Goût	Proche du goût des épinards
Odeur	Typique au henné

1.4. Taxonomie

La classification de la plante *corchorus olitorius* est présentée ou dissous (tableau 2).

Tableau 2. Taxonomie de *Corchorus olitorius* Linn
(Kiebre, 2015).

Règne	Plantea
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Malvales
Famille	Tiliaceae
Genre	<i>Corchorus</i>
Espèce	<i>Corchorus olitorius</i> Linn

1.5. Description de la plante

Les *Corchorus olitorius* sont des herbes hautes, habituellement annuelles, atteignant une hauteur de 2,4 m. La plante pourrait être non ramifiée, ou avec seulement quelques branches latérales. Les feuilles sont alternes, simples, lancéolées, finement dentelées ou la marge lobée. Les fleurs sont hermaphrodites, et sont pollinisées par les insectes. Les fleurs sont petites (2 – 3 cm diamètre) et jaune, avec cinq pétales. Le fruit est un Capsule à graines multiples. Il est propagé par la graine. La plante préfère la lumière et sols argileux, humide. Il ne peut pas tolérer les environnements ombragés.

Le jute est autopollinisation et contiennent une variabilité génétique très limitée (Denton, Nuwangburuka, 2012).

1.6. La composition de la feuille

Les feuilles de *Corchorus olitorius* Linn. sont très riches en nombreux composants (tableau 3).

Tableau3. Composition de la corète potagère pour 100g de partie comestible
(Alercia et Loumerem, 2016).

Nutriments	Valeurs nutritionnelles /100g
H2O	85-87 g
Protéines	5.6 g
Lipides	0.7 g
Cabohydrates	5 g
Fibres	1.5 g
Calcium	250-266 mg
Fer	4.8 mg
Vitamine A	1.5 mg
Thiamine (Vit B1)	0.1 mg
Riboflavine (Vit B2)	0.3 mg
Nicotinamide (Vit B3)	1.5 mg
Acide ascorbique (Vit C)	53-100 mg

Les feuilles de *Corchorus olitorius* ont un rapport faible ainsi pour 100 g de partie comestible, elles donnent une énergie de 243KJ (58 Kcal), (Alissou, 2011).

La composition et en particulier la teneur en micronutriments sont fortement influencées par des facteurs externes tels que la fertilité du sol et la fertilisation. L'utilisation d'engrais azoté améliore largement la teneur en micronutriments, tel que le Fe, le P, le Ca, le carotène et la vitamine C. Le polysaccharide mucilagineux des feuilles est riche en acide uronique (65%) et ont trouvé aussi de rhamnose, galactose, glucose, acide galacturonique et d'acide glucuronique dans un rapport molaire de 1,0 ; 0,2 ; 0,2 ; 0,9,1,7, en plus des 3,7% de groupement acétyles (Alissou, 2011).

1.7. Vertus médicinales

Les plantes médicinales sont connues depuis les temps anciens, elles ont été utilisées depuis pour ajouter de la saveur aux aliments, pour les conserver, pour aider à promouvoir la bonne santé, et traiter et prévenir les aliments médicamenteux (maladies).

Les feuilles de *Corchorus olitorius* sont connues pour être riches en nutriments. C'est utilisé dans le traitement de la fièvre, des tumeurs, des douleurs pectorales, de la dysenterie, des courbatures, de l'entérite, de la cystite, des amas et de la dysurie (Adegoke et Adebayo-Tayo, 2009). En dehors de ses avantages nutritionnels, les bâtons de *C. olitorius* peuvent être rassemblés pour être utilisés à la fois comme carburant et pour la production de charbon de bois et de poudre à canon (Özdenefe *et al.*, 2018). La feuille de *C. olitorius* peut être utilisée pour traiter les personnes atteintes d'infections causées par *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* (Özdenefe *et al.*, 2018).

Cette plante possède également différentes applications dans la médecine traditionnelle Africaine. Les graines de cette espèce, en usage externe, sont efficaces contre la gangrène, la phthiriose, la gale et elles sont également antiseptiques (Kiebre *et al.*, 2016).

Chapitre 02
Les métabolites
secondaires

2.1. Techniques d'extraction à partir de plante

2.1.1. Techniques d'extraction classiques

Parmi les techniques classiques, on trouve l'extraction par Soxhlet, l'hydro-distillation et la macération... Ces techniques sont basées sur le choix du solvant, la température et l'agitation.

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée (Dapkevicius *et al.*, 1998).

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle pour extraire les huiles essentielles sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol et moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone (Dapkevicius *et al.*, 1998).

Des solvants tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétone et l'eau et leurs combinaisons ont également été utilisés pour l'extraction de composés phénoliques, bien que généralement longue et exige des solvants organiques qui sont chers et dangereux pour la santé (Garcia-Salas *et al.*, 2010).

De nombreux facteurs, tels que la composition du solvant, le temps d'extraction, la température, le pH, le rapport solide / liquide et la taille des particules, peuvent influencer de façon significative l'extraction solide-liquide (Durling *et al.*, 2007).

2. 1. 2. Techniques d'extraction modernes

2.1.2.1. Extraction par fluide supercritique (Supercritical Fluid Extraction: SFE)

Le dioxyde de carbone supercritique est le solvant le plus largement utilisé pour l'extraction par fluide supercritique en raison de ses caractéristiques particulières telles que celles liées à ses conditions critiques modérées (Température et Pression) et une disponibilité rapide (Garcia-Salas *et al.*, 2010).

La technologie du dioxyde de carbone supercritique est une nouvelle méthode utilisée pour améliorer le rendement d'extraction ainsi que pour éviter le dommage thermique (Nobre *et al.*, 2012).

2.1.2.2. Extraction par fluide pressurisé (Pressurized Liquid Extraction : PLE)

L'extraction par fluide pressurisé est une technique d'extraction solide-liquide automatisée, utilisent des solvants sous haute pression et à une température élevée située au dessus du point d'ébullition des solvants (Garcia-Salas *et al.*, 2010).

Il s'agit d'une nouvelle méthode pour l'isolement des analytes à partir d'échantillons solides (Klejdusa *et al.*, 2009).

En général, avec PLE, un échantillon solide est emballé dans une cellule d'extraction en acier inoxydable, et extrait avec un solvant approprié à des températures élevées (40-200 °C) et sous pression (3.5-20 MPa) pendant de courtes périodes (5-15 min), (Garcia-Salas *et al.*, 2010).

2.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires végétaux sont des molécules essentielles à la vie des plantes et leur interaction avec l'environnement, ils sont également des sources importantes pour les produits pharmaceutiques, les additifs alimentaires et les arômes (Ramakrishna et Ravishankar, 2011). Ils ce des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils y jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes.

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité (Koné, 2009).

La concentration de ces molécules dans les différentes parties des plantes est influencée par plusieurs facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, l'intensité lumineuse, l'eau, les sels minéraux et le CO₂ (Ramakrishna et Ravishankar, 2011).

En raison de l'importance des métabolites secondaires, de nombreuses études de recherche ont été menées afin d'améliorer la croissance des végétaux et d'augmenter la production de ces molécules.

2.3. Les polyphénols

2.3.1. Définition des polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés dans les plantes en réponse aux stress écologiques et physiologiques (Khoddami *et al.*, 2013). Ils possèdent un ou plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyles allant de molécules phénoliques simples de 500 Dalton à des composés fortement polymérisés avec des poids moléculaires de plus de 30 000 Dalton (Bravo, 1998).

Les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant la capacité de précipiter certains alcaloïdes, la gélatine et autres protéines de la solution. Le terme polyphénols est un terme collectif pour plusieurs sous-groupes de composés phénoliques.

Les polyphénols sont largement distribués dans le règne végétal et sont les métabolites secondaires les plus abondants des plantes, avec plus de 8 000 structures phénoliques

connues, allant de simples molécules telles que les acides phénoliques jusqu'à des substances fortement polymérisées telles que les tanins (Dai and Mumper, 2010). Ils sont présents dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le composé phénolique considéré (Agati *et al.*, 2012; Di Ferdinando *et al.*, 2014).

Les composés phénoliques sont des constituants largement répandus des aliments végétaux (fruits, légumes, céréales, olives, légumineuses, etc.) et des boissons (thé, café, bière, vin, etc.) et responsables de plusieurs propriétés organoleptiques des aliments végétaux (Dai and Mumper, 2010). Comme la plupart des métabolites secondaires, les polyphénols sont synthétisés par les plantes afin d'accomplir certaines fonctions. Ils sont généralement impliqués dans :

- La croissance et la reproduction des plantes.
- La défense contre les rayonnements ultraviolets.
- La défense contre l'agression par les pathogènes, les parasites et les prédateurs.
- La production des arômes et parfums et la contribution dans la pigmentation.
- La protection des cultures contre la peste et la germination des graines avant la récolte

(Bravo, 1998 ; Dai and Mumper, 2010).

2.3.2. Classification des polyphénols

Les polyphénols constituent le groupe de produits naturels le plus distribué dans le règne végétal. Cette large distribution a conduit à différentes façons de classer ces composés en se basant sur l'origine, la fonction biologique ou la structure chimique (Tsao, 2010).

En utilisant la classification selon la structure chimique, les polyphénols sont divisés en plusieurs classes selon le nombre des anneaux phénoliques qu'ils contiennent et les éléments structuraux qui lient ces anneaux entre eux. Les principaux groupes de polyphénols sont : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les alcools phénoliques, les stilbènes et les lignanes (D'Archivio *et al.*, 2007).

2.3.3. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont subdivisés, en se basant sur les squelettes C1-C6 et C3-C6, en deux principaux types : l'acide benzoïque et les dérivés d'acide cinnamique (Figure 2).

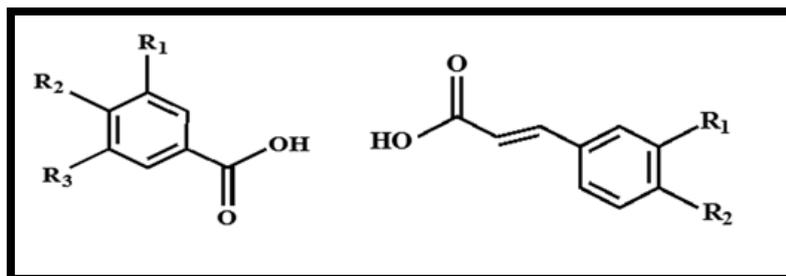


Figure 2. Acides phénoliques (hydroxybenzoïque et acide cinamique), (Pandey *et al.*, 2009).

2.4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules polysubstituées ubiquitaires chez les plantes, formés à partir des acides aminés aromatiques phénylalanine, tyrosine et du malonate. La structure de base de flavonoïde est le noyau flavane, qui se compose de 15 atomes de carbone disposés en trois cycles (C6-C3-C6) qui sont nommés cycle A, cycle B et cycle C (figure 03), (Stalikas, 2007).

Ils sont présents dans presque tous les organes de la plante (racines, fleurs, tiges), et jouent un rôle important dans le système de défense comme antioxydants.

Ils sont considérés comme les pigments universels des végétaux (Harkati, 2011) ; simples ou glycosylés, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Krief, 2003).

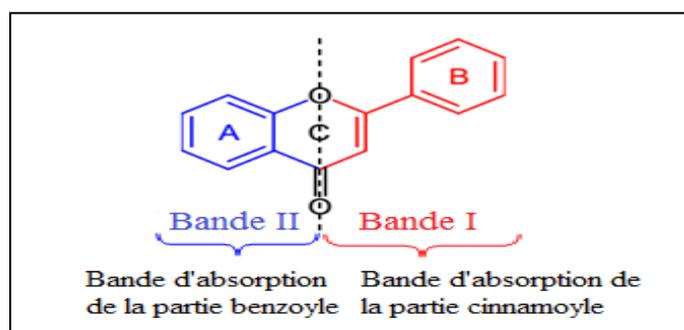


Figure 3. Les bandes caractéristiques d'un squelette flavonique (Saffidine, 2018).

2.4.1. Intérêt des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont plusieurs rôles :

La protection des plantes contre les radiations UV de type B et leur défense contre les herbivores et les attaques microbiennes jouent un rôle important dans les interactions avec les insectes. Certains flavonoïdes ont parallèlement une activité antioxydante, anti-inflammatoire, vasculaire, oestrogénique et antitumorale.

Ils interviennent comme des composés de défense ainsi que dans la signalisation de la reproduction de la pathogénèse et de la symbiose.

Pour ne citer que leurs principales propriétés pharmacologiques. Ces composés se divisent en différents types : flavones, isoflavones, flavonols, flavanones, flavanes, chalcones, anthocyanidines, catéchines, ptérocarpanes, auronnes (Harkati, 2011).

2.5. Tannins

Ces composés ayant en commun la propriété de tanner la peau (combinaisons à des macromolécules (Protéines, Polysaccharides...) par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes). Ils sont utilisés dans le traitement des aliments et la clarification des vins, des bières et des jus de fruits (Propriétés biologiques).

On distingue, habituellement, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénique: tanins hydrolysables, tanins galliques (Bruneton, 2009).

2.6. Les terpènes

Les terpènes forment un groupe de produits naturels largement représenté et d'un intérêt chimique considérable, très diversifiés. Ils constituent le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones. Extraites ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande). Ils ont un caractère commun, formés d'unités isopréniques (C_5H_8). Ils sont formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du 2-méthyl butadiène, appelées unités isopréniques (C_5H_8) n. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des anneaux. De ce fait une classification rationnelle, basée sur ce nombre qu'ils renferment, est possible (Seghiri, 2009).

Deuxième partie
Partie expérimentale

Chapitre 03

Martiales et méthodes

3.1. Matériels

3.1.1. Matériels non Biologiques

Tableau 1. Matériels utilisées.

flacons	Entonnoir	Boites pétries	Ballon
Pipette	Tubes secs à bouchons et support	Pipette pasteur	Spatule
Papier filtre	Bec benzène	Balance électronique	Etuve de conservation
Balance de analytique	Ecouvillon	papier wattman	Perforeuse
Rota vapeur	Agitateur plaque chofon	H ₂ O : eau distillée	DMSO
Barreau	Des disques d'antibiotique	Gélose nutritive	PDA
Réfrigérateur	MeOH : methanol	l'eau physiologie	Mueller- Hinton
Broyage électrique	Autoclave	Pince	Four pasteur
Ance de platine	Papier aluminium	Vortex	Ecouvillon

3.1.2. Matériels Biologiques

3.1.2.1. Matériel végétal

La plante que nous avons sélectionnée pour ce travail est :

➤ *Corchorus olitorius* L.

L'échantillon est sous forme d'une poudre de cueillis et séchés et moulus par méthode traditionnelle de région : Zribet ALouad.

3.2. Méthodes

3.2.1. Extraction des polyphénols

3.2.1.1. Extrait méthanolique

Pour extraire les polyphénols, de la partie aérienne, de la plante étudiée, par macération pour l'extrait méthanolique, nous avons opté le protocole décrit par Patilet *al.* (2013). Peser 50g poudre sec de la plante étudiée après son nettoyage et broyage, le mélanger avec 500 ml méthanol dans un ballon sous l'agitation pendant une nuit à température ambiante et à l'obscurité. Faire l'élimination de la poudre par filtration avec un papier filtre. L'extrait obtenu est débarrassé du méthanol par évaporation sous pression à 45° C (rota vapeur), puis faire le séchage de résidu dans l'étuve (Figure 4).

- L'extraction méthanolique

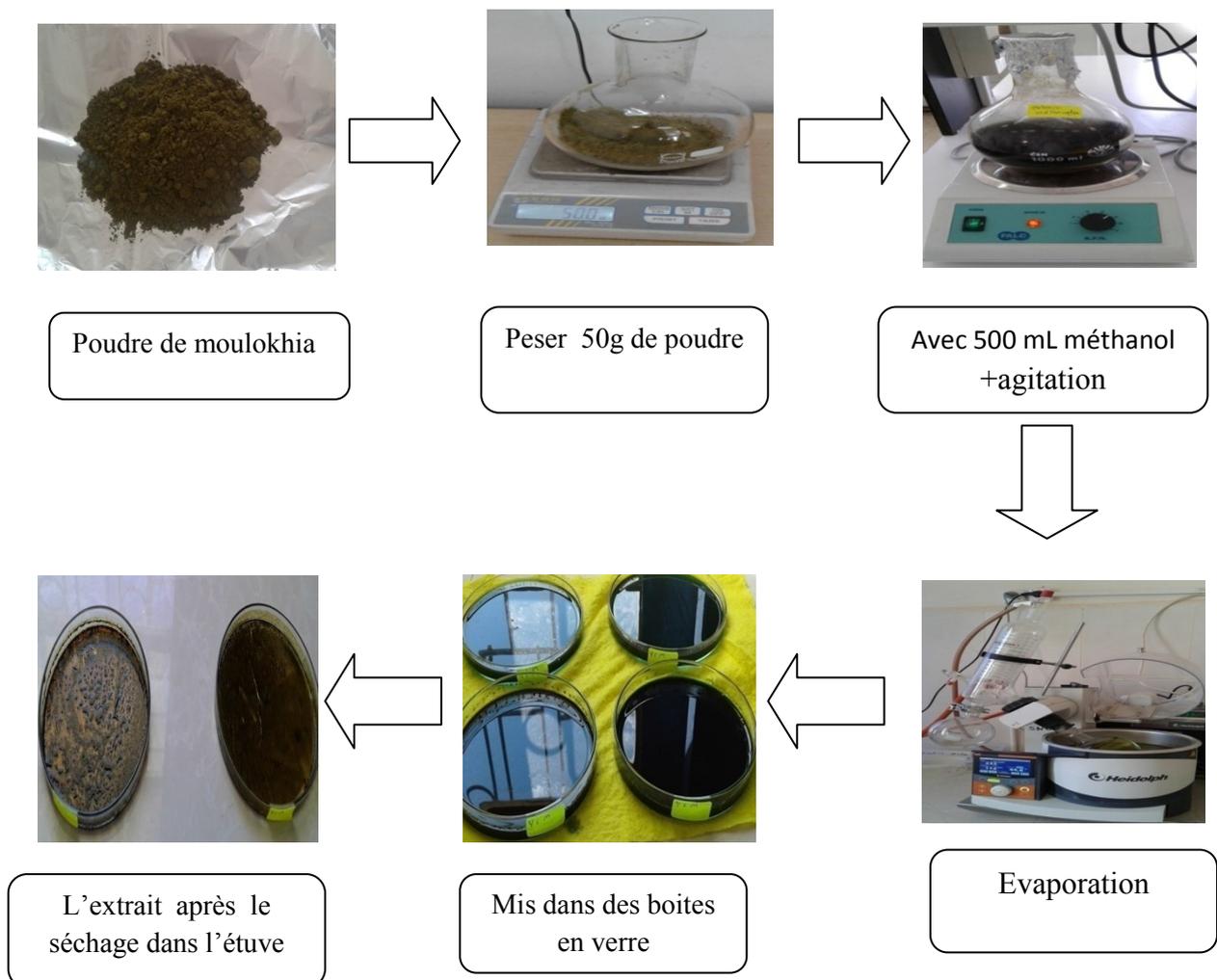


Figure 4. Mode d'opération d'extraction méthanolique (photos originale).

3.2.1.2. Extrait aqueux

Pour extraire les polyphénols de la parties aériennes de la plante étudiée par décoction pour l'extrait aqueux, nous avons opté le protocole décrit par Touaibia *et al.*, (2003).

Peser 50 g poudre sec de la plante étudiée après son nettoyage et broyage, le mélanger avec 500 ml eau distillée dans un ballon à ébullition pendant 30 min. faire l'élimination de la poudre par filtration avec un papier filtre puis faire le séchage de résidu dans l'étuve. Le résidu sec pesé et conservé au réfrigérateur à 4 °C (après le gratage), (figure 5) puis déterminer le rendement.

• **L'extraction aqueuse**

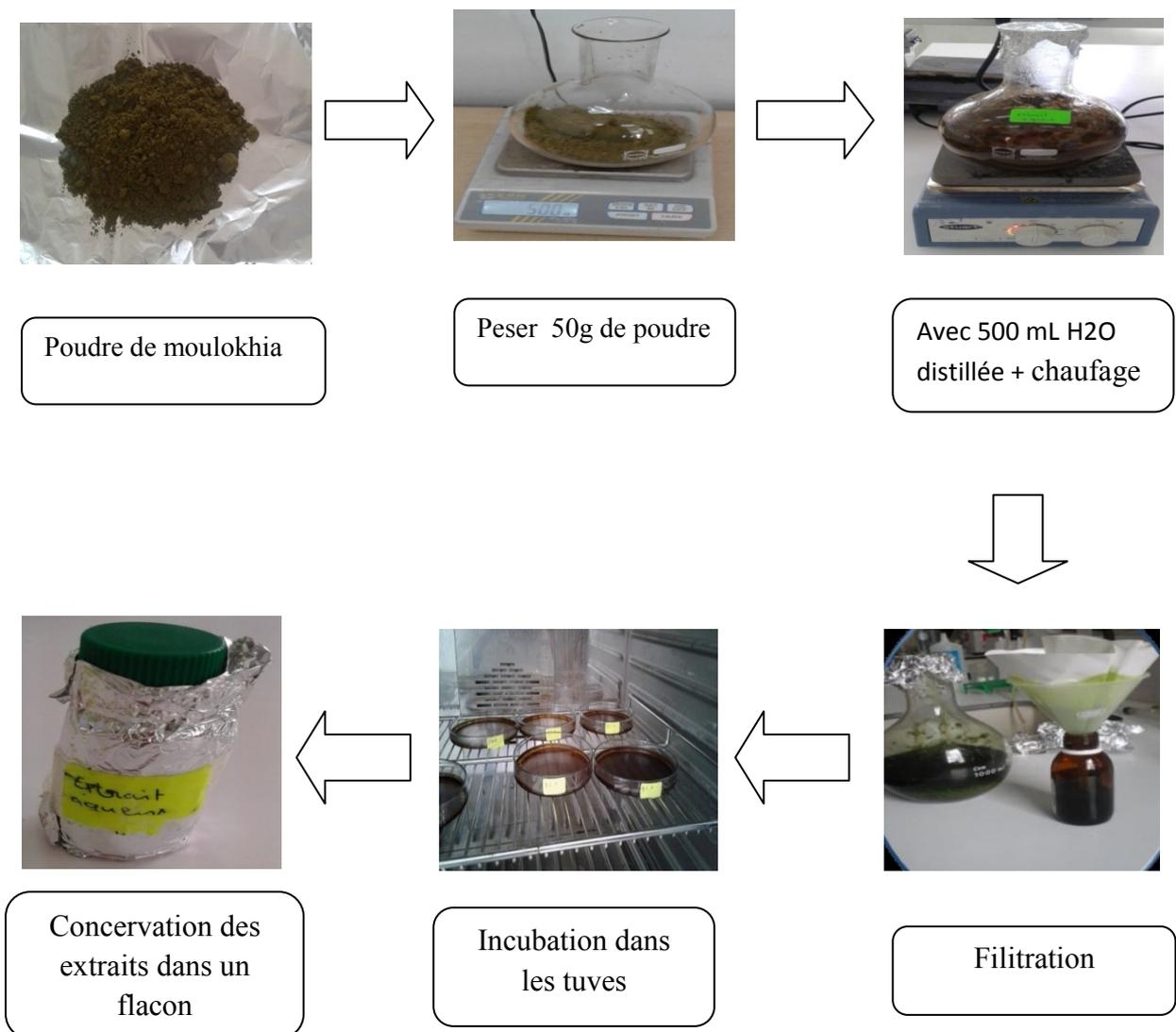


Figure 5. Mode d'opération d'extraction aqueux (photo originale).

3.2.2. Détermination du rendement

Le rendement de l'extrait brut est défini comme le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse du matériel végétal traité (Deguenon *et al.*, 2019).

Cette efficacité a été calculée avec l'équation suivante: $R (\%) = Me/Mv \times 100$

R (%): Rendement en%

Me: masse de l'extrait après évaporation du solvant

Mv: masse de matériel végétal utilisé pour l'extraction

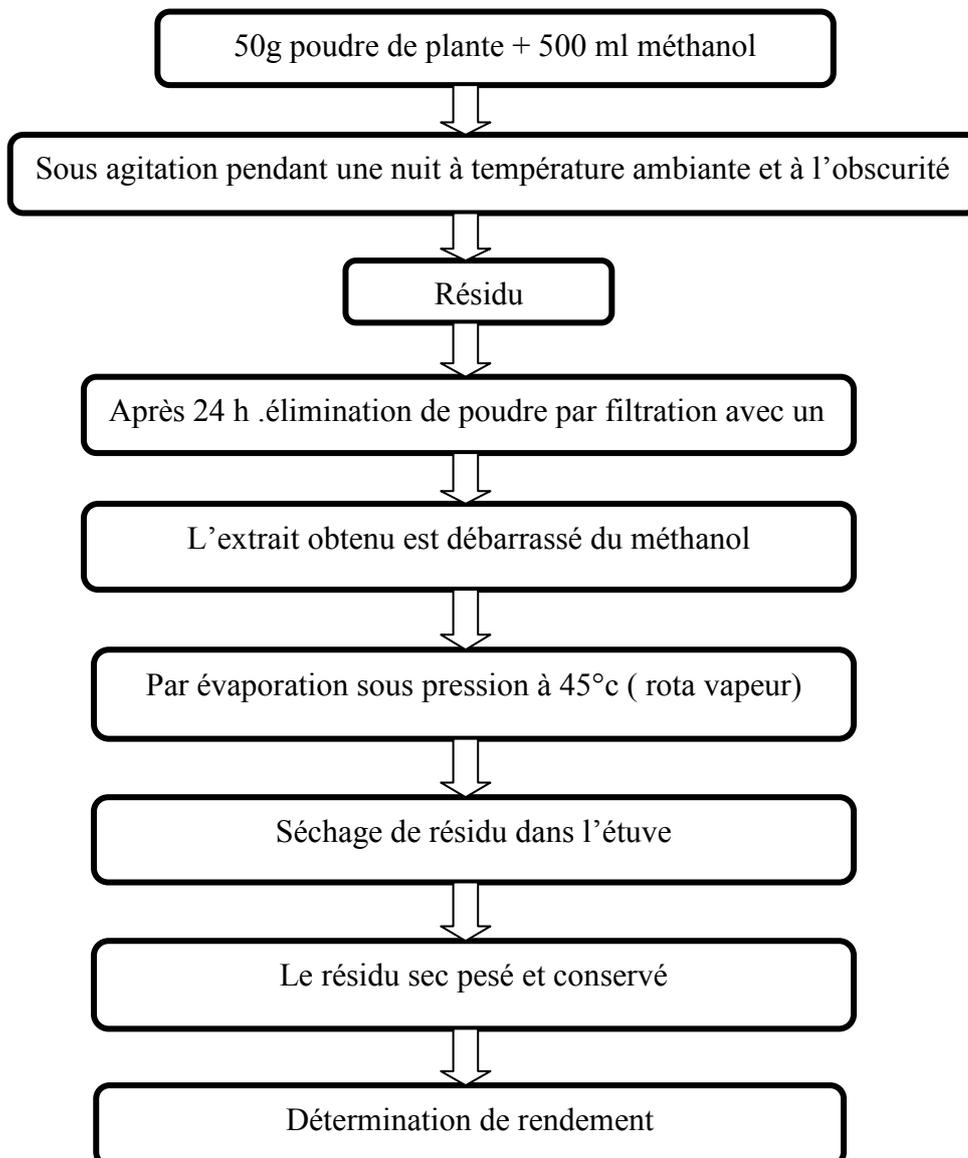


Figure 6. Protocole de l'extraction des polyphénols de l'extrait méthanolique par macération.

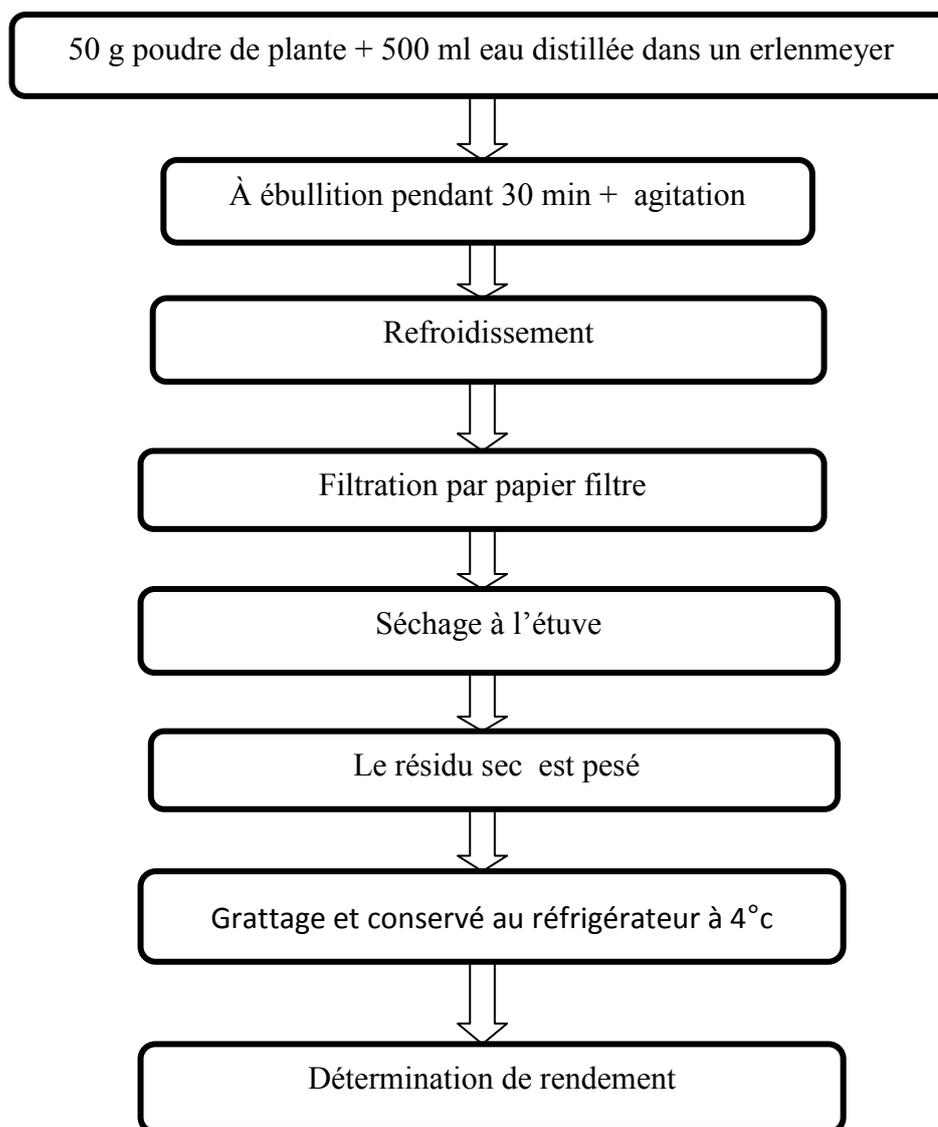


Figure 7. Protocole de l'extraction des polyphénols de l'extrait aqueux par décoction.

3.2.3. Dosage de quelque composant de *Corchorus olitorius* L.

3.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de feuilles de la plante étudiées, est effectué selon la méthode de Folin Ciocalteu (Boizot *et al.*, 2006). Le réactif utilisé est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_4$) de couleur jaune.

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, qui entraîne la formation d'un nouveau complexe d'oxydes métalliques de tungstène et de molybdène de couleur bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ribéreau-Gayon, 1968).

Le protocole du dosage est effectué comme suit : 200µl de chaque extrait dissous dans l'eau distillée ou de point de gamme, est ajouté à 1 ml du réactif de Folin Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée). Après 4 min d'incubation à température ambiante, 800µl de Na₂CO₃ (7.5%) dilué également dans l'eau distillée, sont additionnés au mélange. L'ensemble préalablement agité est incubé à l'abri de la lumière pendant 30 min. L'absorbance est ensuite lue à 765 nm par un spectrophotomètre UV/visible (Bougandoura, 2012).

- **Expression des résultats**

La concentration des polyphénols totaux pour chaque échantillon est calculée à partir de l'équation de régression d'une gamme d'étalonnage en milieu aqueux (0 à 200 µg/ml), établie avec l'acide gallique dans les mêmes conditions opératoires que les extraits (Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait)).

3.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

a) Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorunet *al.*, 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits; cette méthode basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium, ayant le maximum d'absorbance à 430 nm. La quercétine a été utilisée pour faire la courbe d'étalonnage.

b) Mode opératoire

1ml de chaque échantillon ou du standard (quercétine), dilués dans le méthanol, est ajouté à 1ml de la solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Après 10 min d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm par un spectrophotomètre UV-visible. Le blanc utilisé est le méthanol avec AlCl₃ (l'extrait est remplacé par du MeOH), (Saffidine, 2018).

c) Expression des résultats

Les concentrations des flavonoïdes des différents extraits sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage, établie avec la quercétine et sont exprimées en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

3.2.3.3. Dosage des tannins condensés

La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par (Julkunen-Titto, 1985).

Un volume de 50 µl de chaque extrait a été ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à

température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc. Différentes concentrations ($\mu\text{g/ml}$) préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, permettront de tracer la courbe d'étalonnage (Ali *et al.*, 2018).

3.2.3.4. Dosage des Triterpènes

a) Principe

Le principe de base de cette méthode est la réaction des triterpènes oxydés avec la vanilline, où l'acide sulfurique est utilisé comme oxydant. Les sapogénines stéroïdiennes avec ou sans double liaison en C-5, les sapogénines triterpénoïdes et les acides stéroliques et biliaires qui ont un groupe OH en position C-3 réagissent avec la vanilline en milieu acide pour donner des chromogènes, l'absorbance a été mesurée à 548 nm, selon la nature des saponines.

b) Mode opératoire

La teneur totale en triterpénoïde a été déterminée par colorimétrie en utilisant le protocole de Fan et He (2006).

40 μL d'extrait a été mélangés avec 60 μl vanilline (5% dans l'acide acétique) et l'acide perchlorique concentré (200 μL). Les solutions d'échantillon sont incubées pendant 45min à 60°C puis refroidi dans un bain d'eau glacée à la température ambiante. Ensuite, l'addition d'acide acétique concentré (900 μl), l'absorbance a été mesurée à 548 nm, en utilisant un spectrophotomètre UV-visible.

c) Expression des résultats

Acide ursolique (25-500 $\mu\text{g/mL}$ dans du méthanol) a été utilisé comme étalon. Les résultats ont été exprimés en microgrammes d'équivalents d'acide ursolique (mg équivalent acide ursolique / mg extrait sec).

3.2.4. Etude de l'activité antibactérienne

3.2.4.1. Souches bactériennes testées

Les souches utilisées sont des souches de référence de l'American type culture collection (ATCC), gracieusement fournies par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital Hakim Saâdan Biskra puis conservées à 4 °C dans des tubes à essais contenant de la gélose inclinée. Les souches pathogènes utilisées sont indiquées dans le tableau 4.

Tableau 4. Liste des souches bactériennes testées.

Nom de la souche	N°ATCC	Famille	Gram
<i>Escherichia coli</i>	25922	Enterobacteriaceae	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	27853	Staphylococcaceae	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25923	Pseudomonaceae	-

La détermination de la sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques se fait par la méthode de l'antibiogramme.

3.2.4.2. Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries dans un milieu de gélose nutritive, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum (Moroh *et al.*, 2008).

3.2.4.3. Inoculum bactérienne

Les colonies bien isolée sont prélevées et émulsionnées dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % à l'aide d'un vortex ensuite on fait des dilutions afin de standardiser la suspension bactérienne. L'inoculum est ajusté à 0.5 Mc Farland correspondant à une densité optique de (0.8 à 0.10) à 625 nm. La concentration finale de l'inoculum est de 10⁷ UFC/ml (Brama, 2002).

L'ensemencement est réalisé après l'inondation des boîtes de Pétri contenant le gélose Mueller-Huntton H-M (est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériennes) et laisser pendant 15 min pour se solidifier, et à l'aide d'un écouvillon, en le trempant dans la suspension bactérienne, puis en ensemençant les colonies sur la totalité de la surface des boîtes pétris de haut en bas, en strie serrées à l'aide d'un écouvillon (Ourida, 2012), (Figure 8).



Figure 8. Ensemencement des bactéries (Photo originale).

3.2.4.4. Préparation des séries de dilutions

200 mg de l'extrait ont été repris avec 1ml de DMSO. Avec une dilution en série de 100 à 50 et à 25 mg/ml. Ont été ensuite réalisés pour obtenir des différentes concentrations (Figure 9).



Figure 9. Une série de dilution de l'extrait et méthanolique aqueux et méthanolique.

3.2.4.5. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Les disques sont fabriqués à partir de papier wattman n°3 (ou autre type de papier buvard), avec un diamètre de 6 mm, suivant le diamètre de l'emporte pièce. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai (ou plus si nécessaire), et stérilisés à l'autoclave.

Cette méthode est décrite par Jaobet tomei, (1979) qui appelée technique aromatoigramme, consiste à utiliser des disque papier wattman (ou autre type de papier buvard), avec un diamètre de 6 mm, imprégnés des concentration différentes des extrait des plantes et dépose a la surface d'un milieu gélose en boite pétrie préalablement ensemencé en surface à l'aide suspension bactérienne. Après une incubation pendant 24heures à 37°C (Ourida, 2012), (figure 10).

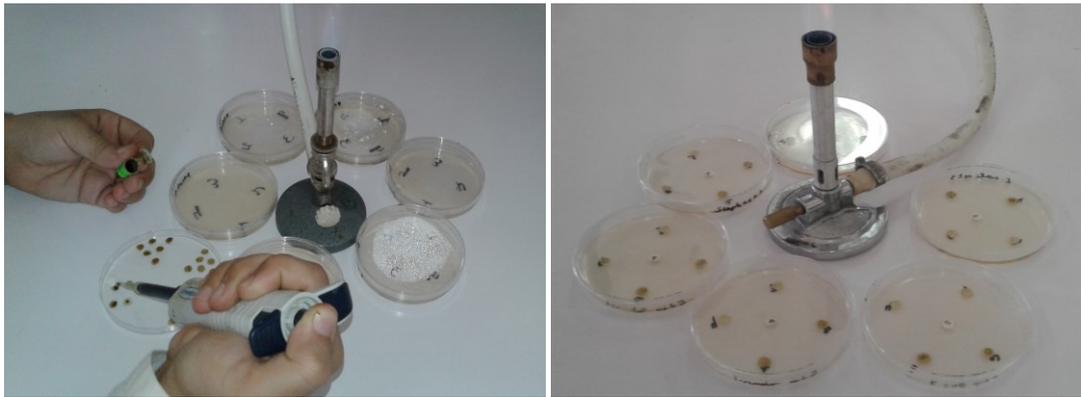


Figure 10. Préparation des disques avec différentes concentrations (aromatogramme)

(Photo originale).

3.2.4.6. Lecture de résultat

L'activité antibactérienne a été estimée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle en mm qui correspond à la distance autour des disques où nous constatons une absence totale de culture microbienne. En parallèle nous avons utilisé des témoins pour vérifier leur croissance après l'incubation (Ourida, 2012).

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

3.2.5. Etude de l'activité antifongique

L'activité antifongique des différents extraits de plantes a été évaluée sur trois espèces fongiques sont: *Aspergillus niger*, *Penicillium*, *Alternaria alternata*.

Les souches fongiques sont isolées à partir des aliments des bétails.

3.2.5.1. Préparation des milieux de cultures

3.2.5.1.1. Milieux PDA (Potato Dextrose Agar)

- Le milieu utilisé pour l'incubation, l'entretien et la réalisation de l'antifongogramme pour les moisissures est le PDA (Potato Dextrose Agar), dont la préparation est la suivante :

- Peser 200 g de pommes
- Faire cuire dans 1L d'eau distillée pendant 1h.
- Filtrer sur plusieurs couches d'étamine.
- Ajouter 20 g d'agar agar et 20 g de glucose et compléter à un 1 L si nécessaire.

- Placer le milieu sous agitation magnétique avec chauffage pendant 30 minutes
- Ajuste, le pH à 7,5.
- Autoclave à 121°C /15 minutes.

3.2.5.2. Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir du papier Wattman №3 à l'aide d'un perforateur de papier, avec un diamètre de 6 mm, ces disques sont mis dans un tube à essai, puis autoclaves à 120°C pendant 15 minutes.

3.2.5.3. Préparation des extraits

200 mg de l'extrait ont été repris avec 1ml de DMSO. Une dilution en série de 100 à 50 et à 25 mg/ml ; ont été ensuite réalisés pour obtenir des différentes concentrations, puis agités à l'aide d'un vortex jusqu'à la dissolution totale, puis mises dans tubes stériles et conservées à 4°C jusqu'à leur utilisation.

3.2.5.4. Repiquage des souches

Les souches fongiques utilisées ont été repiquées sur milieu PDA en déposant un disque mycélien, au centre d'une boîte de PDA déjà coulée puis incubée sous températures idéales à 37°C pour *d'Aspergillus niger*, *Penecelium*, *Alternaria* pendant 5 à 7 jours (figure 11), (Thejakumar et Devappa, 2016).

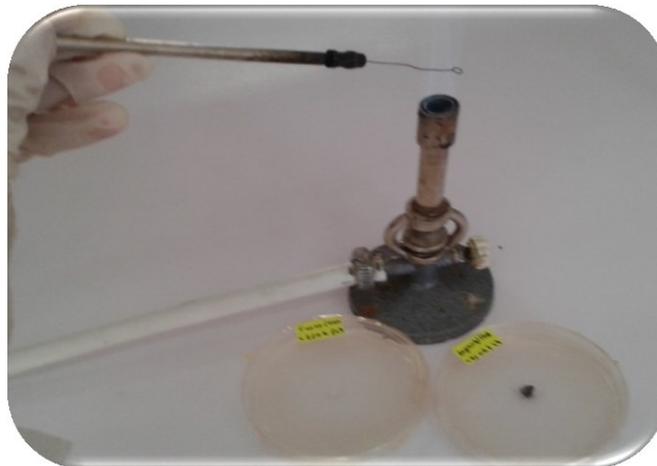


Figure 11. Repiquage des champignons (Photo originale).

3.2.5.5. Application des disques

Coulage de boîtes en utilisant le milieu PDA.

Les disques des extraits et du témoin négatif (DMSO) sont déposés à la surface de l'agelose à l'aide d'une pince flambée. Le disque mycélien (préparé à l'aide d'un emporte-pièce) du champignon cible a été déposé au centre de la boîte.

3.2.5.6. Préparation des boîtes

Les boîtes sont repérées à raison de 6 points (4 points pour les extraits et un point central pour le disque mycélien du champignon et un pour témoin négatif (DMSO)).

Un disque mycélien de 6mm de diamètre prélevé de la culture jeune du mycète a été inoculé au centre de la boîte. La lecture des résultats a été effectuée après 5 jours d'incubation à 37°C par mesure du diamètre de la zone de croissance (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

3.2.6. Dénaturation de protéine BSA

3.2.6.1. Activité anti-arthritique *in vitro*

L'activité a été étudiée à l'aide de protéines de sérum bovin méthode de dénaturation de l'albumine d'œufs.

3.2.6.2. Méthode de dénaturation des protéines de sérum bovin

a) Préparation des réactifs

- 500 mg de BSA dissoute dans 100 ml d'eau.
- Phosphate Buffer Saline PH 6.3: Dissous 8 g de chlorure de sodium (NaCl), 0,2 g de chlorure de potassium (KCl), 1,44 g d'hydrogénophosphate de disodium (Na₂HPO₄), 0,24g de dihydrogénophosphate de potassium (KH₂PO₄) dans 800 ml d'eau distillée. Le pH a été ajusté à 6,3 en utilisant du HCl. Compléter le volume à 1000 ml avec de l'eau distillée.

b) Méthode

La solution de contrôle de test (0,5 ml) consiste en 0,45 ml d'albumine de sérum bovin et 0,05 ml d'eau distillée.

Le contrôle du produit (0,5 ml) consiste en 0,45 ml d'eau distillée et 0,05 ml de solution à examiner. La solution standard (0,5 ml) consiste en 0,45 ml d'albumine sérique et 0,05 ml de diclofénac sodique à différentes concentrations.

Procédure: 0,05 ml de différentes concentrations (50, 100, 250 µg / ml) de médicaments à tester et de médicament standard, le diclofénac sodique (50, 100, 250 µg / ml) ont été prélevés respectivement et 0,45 ml mélangés. Les échantillons ont été incubés à 37 ° C pendant 20 minutes et la température a été portée à conserver les échantillons à 57 ° C pendant 3 minutes.

Après refroidissement, ajouter 2,5 ml de tampon phosphate aux solutions ci-dessus. L'absorbance a été mesurée à l'aide d'UV-Visible spectrophotomètre à 255 nm.

Le contrôle représente Dénaturation des protéines à 100%. Les résultats ont été comparés avec du diclofénac sodique. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines peut être calculé comme.

Inhibition en pourcentage = $100 - [(\text{densité optique du test solution} - \text{densité de contrôle optique}) / \text{densité optique de test}] \times 100$, (Rahman *et al.*, 2015).

Chapitre 04

Résultats et Discussion

4.1. Calcul du rendement

Dans cette étude, nous avons procédé à la préparation de deux extraits, méthanolique et aqueux à partir de la partie aérienne de l'espèce *Corchorus olitorius* L, et cela afin d'évaluer leurs activités antibactérienne et antifongique, ainsi que le taux d'inhibition de dénaturation de la protéine BSA.

Le rendement d'extraits méthanolique et aqueux dans la région Zribet ALouad (Biskra), a été déterminé par rapport 50 g de matériel végétale rendue en poudre des feuilles de *Corchorus olitorius* L.

4.1.1. La macération

La préparation de l'extrait méthanolique par macération de la partie aérienne de *Corchorus olitorius* dans le méthanol a permis d'obtenir un extrait méthanolique sec avec un rendement de 17,12% (Figure 12).

4.1.2. La décoction

Le rendement de l'extrait aqueux après la décoction de la partie aérienne de *Corchorus olitorius* dans l'eau distillé a été estimé à 10,92% (Figure 12).

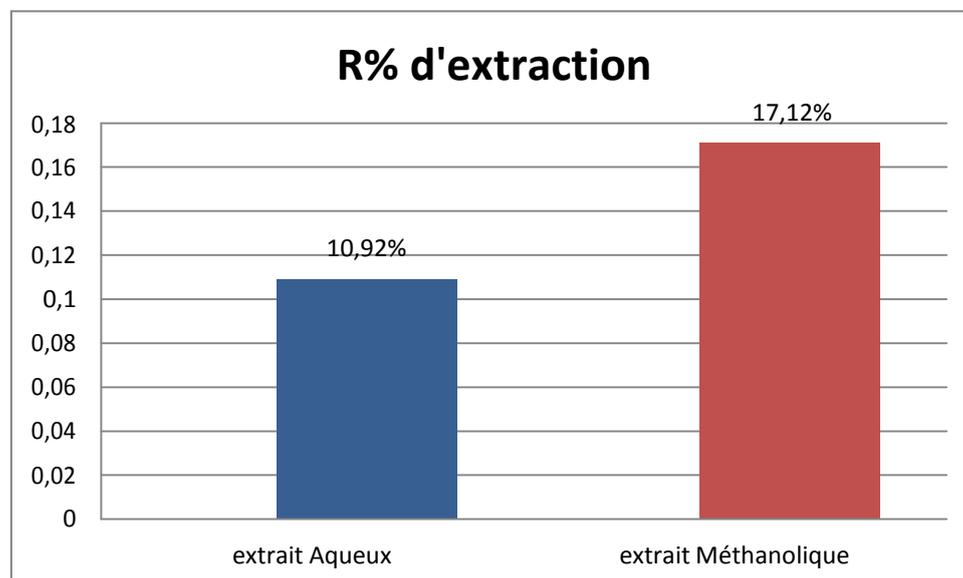


Figure 12. Histogramme représente le rendement d'extraction du *C. olitorius*.

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolite et de la nature de solvant utilisé dans l'extraction ou le fractionnement et de sa polarité.

La différence de rendement observée entre les extraits aqueux et les extraits méthanoliques pourrait s'expliquer par le fait que le méthanol est un solvant organique avec une forte polarité qui fixerait plus de composés par rapport à l'eau et plus efficace dans l'extraction (Brama, 2002).

4.2. Quantification des polyphénols totaux (PPT)

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits (Aqueux et méthanolique) de *C. olitorius* a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations de l'acide gallique.

Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en μg équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait), (Figure 13).

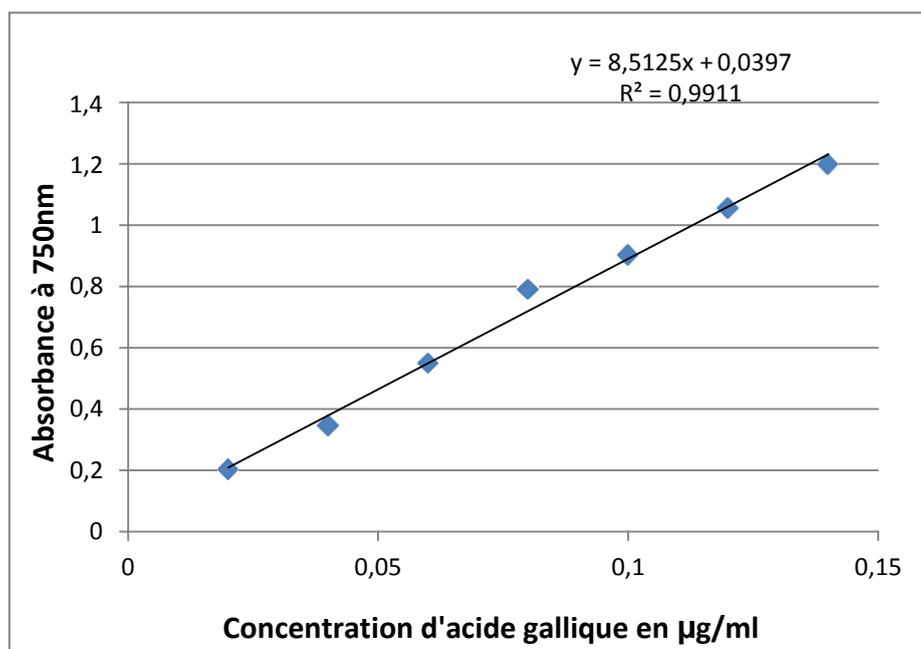


Figure 13. Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

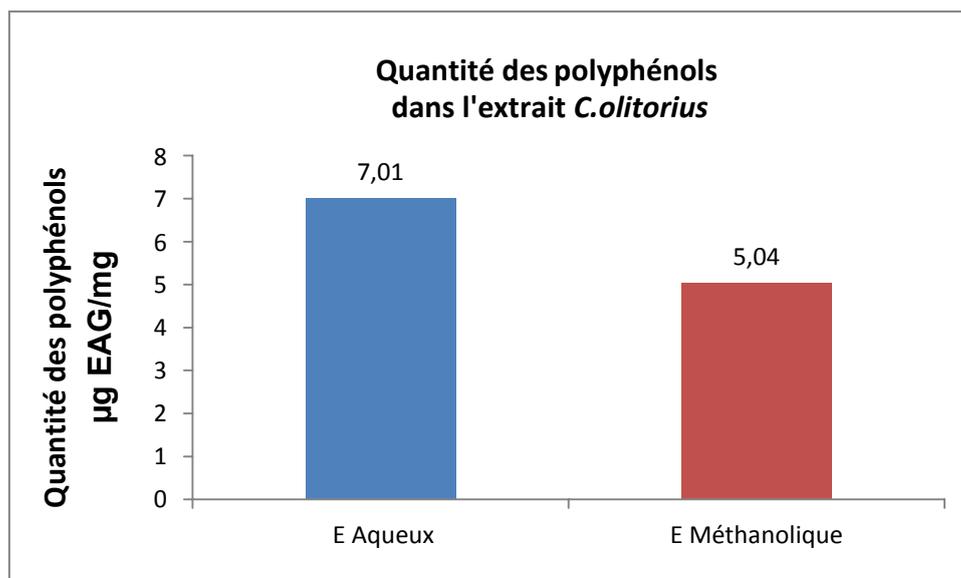


Figure 14. Histogramme représente la quantité des polyphénols ($\mu\text{g EAG/g MS}$) dans l'extrait aqueux et méthanolique de *C. olitorius*.

D'après la figure 10, les résultats obtenus montrent que la présence des polyphénols dans les extraits. Cependant, l'extrait aqueux de *C. olitorius* est le plus riche en polyphénols ($7.01 \pm 0.87 \mu\text{g d'EAG/mg}$) que l'extrait méthanolique ($5.04 \pm 1.60 \mu\text{g d'EAG/mg}$).

VYA *et al.*, (2013); Mibei *et al.*, 2012; Borokini et Omotayo, (2012), la *Corchorus olitorius* est une plante contient une quantité des polyphénols mais sans quantifier.

La quantité des polyphénols de l'extrait aqueux est supérieur par rapport l'extrait méthanolique. Cette différence revient de la type de solvant influe sur le rendement des polyphénols totaux, la polarité, la composition chimique du plante et le rapport de solubilité des molécules dans ces solvants (Brama, 2002).

4.3. Dosage des flavonoïdes totaux

La détermination de la teneur en flavonoïdes totaux des différents extraits est estimée par la méthode de chélation de l'Aluminium selon le protocole de (Baharun *et al.* (1996).

La quercétine considérée comme contrôle positif, qui a permis de réaliser la courbe d'étalonnage et les calculs de la teneur de flavonoïde dans notre extrait, les résultats sont exprimés en μg équivalent quercétine par mg d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

La courbe d'étalonnage suit une équation de type : $y = 9.735x + 0.074$. Sachant que le coefficient de corrélation est : $R^2 = 0.99$ (Figure 15).

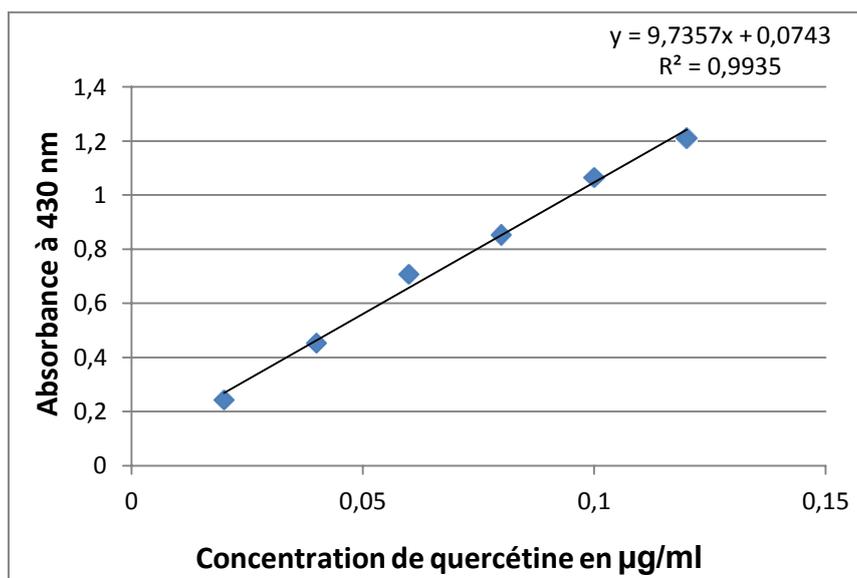


Figure 15. Droite d'étalonnage du quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent en quercétine mg d'extrait sec (μg EAG/mg d'extrait), (Figure 16).

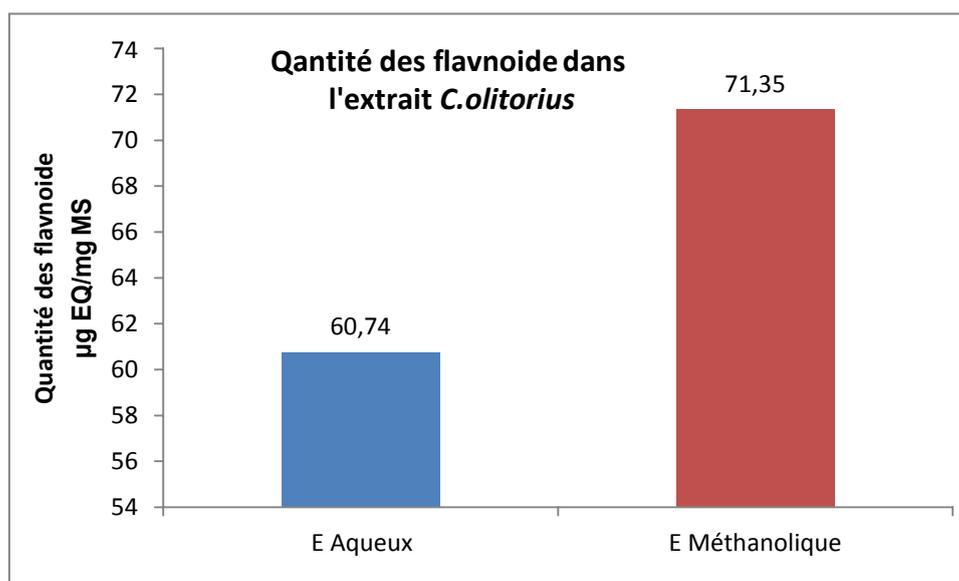


Figure 16. Les teneurs des flavonoïdes totaux en μg EQ/mg d'extrait sec.

D'après la figure 17, les résultats obtenus montrent que les deux extraits étudiés sont riches en flavonoïdes totaux. Cependant, l'extrait méthanolique de *C. olitorius* est le plus riche en flavonoïdes ($71,35 \pm 0.70$ μg d'EAG/mg) que l'extrait aqueux (60.74 ± 0.42 μg d'EAG/mg).

D'après Barku *et al.* (2013); l'analyse phytochimique qualitative de *Corchorus olitorius* Linn. a aussi montré la présence de plusieurs types de métabolites secondaire dont les flavonoïdes, sans les doser.

4.4. Dosage des Tanins condensés

La quantification des tanins a été effectuée par une méthode adaptée par Julkunen- Titto. (1985). La catéchine considérée comme contrôle positif, qui a permis de réaliser la courbe d'étalonnage et les calculs de la teneur de tanins dans notre extrait, Les résultats sont exprimés en μg équivalent catéchine par mg d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

La courbe d'étalonnage suit une équation de type : $y = 0.602x + 0.086$. Sachant que le coefficient de corrélation est : $R^2 = 0.983$ (Figure 17).

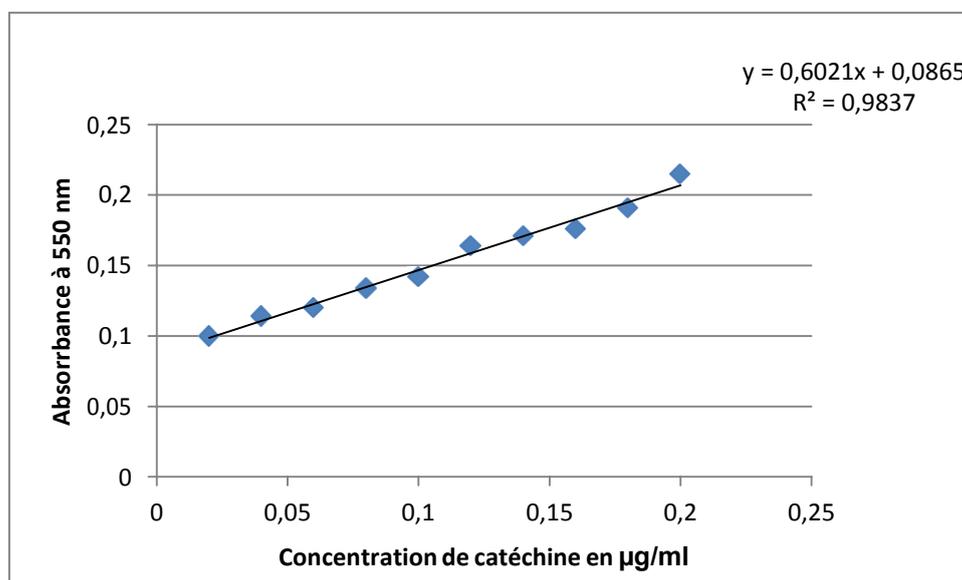


Figure 17. Droite d'étalonnage du catéchine pour le dosage des tanins.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent en catéchine par mg d'extrait sec ($\mu\text{g EAC/mg}$ d'extrait), (Figure 18).

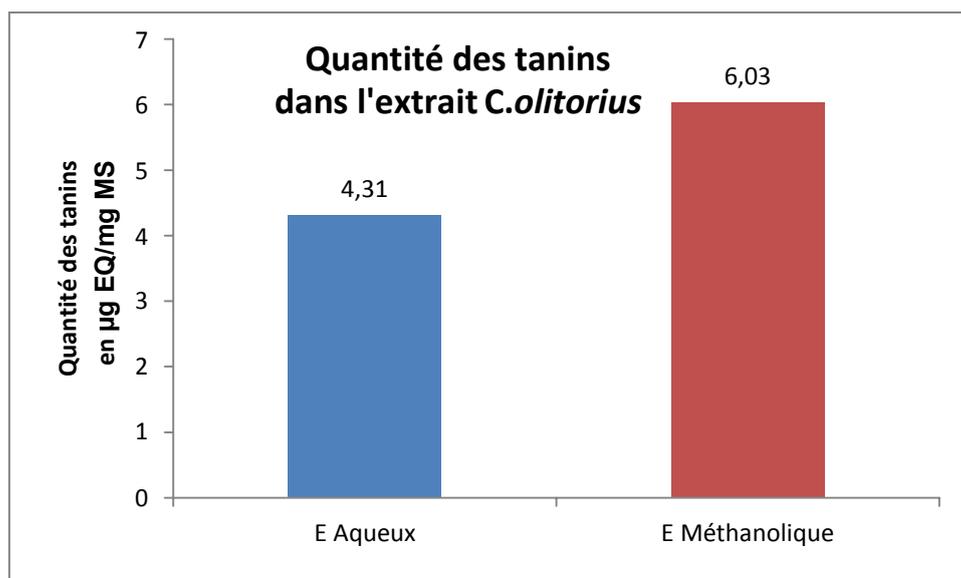


Figure 18. Histogramme représente la quantité des tanins ($\mu\text{g EAG/mg MS}$) dans l'extrait aqueux et méthanolique de *C. olerius*.

D'après la figure 18, les résultats obtenus montrent que les deux extraits étudiés sont comprend les tanins. Cependant, l'extrait méthanolique de *C. olerius* est le plus riche en Tanins ($6.03 \pm 0.53 \mu\text{g d'EAG/mg}$) que l'extrait aqueux ($4.31 \pm 1.35 \mu\text{g d'EAC/mg}$).

D'après Barku *et al.* (2013); la *Corchorus olerius* est une plante contient une quantité des tanins mais sans quantifier.

4.5. Dosage des triterpènes

Le dosage des triterpènes a été effectué selon le protocole de Fan et He. (2006) en équivalent d'acide ursolique, les concentrations d'acide ursolique permis de réaliser la courbe d'étalonnage et les calculs de la teneur de tritèrène dans notre extrait, Les résultats sont exprimés en μg équivalent tritèroène par mg d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$).

La quantité des triterpènes a été déterminée par l'équation : $y = 0.0116x + 0,07$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.988$ (Figure 19).

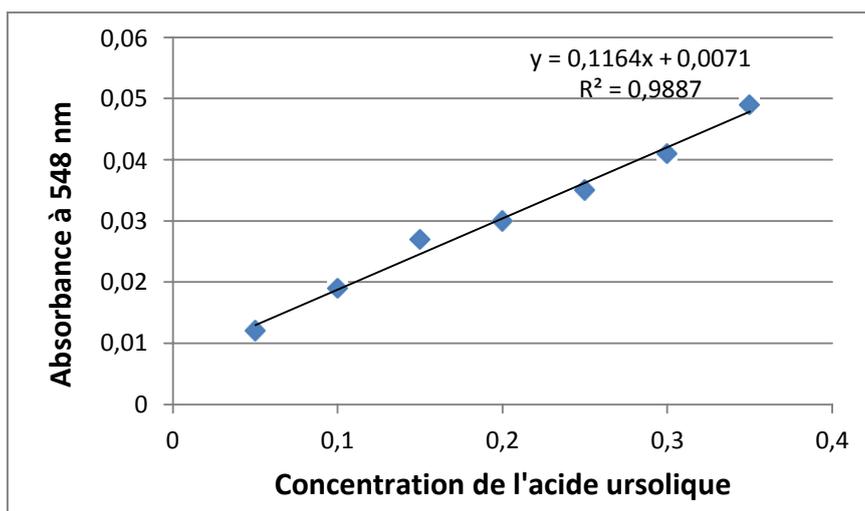


Figure 19. Droite d'étalonnage de l'acide ursolique pour le dosage des Triterpènes.

La quantité des triterpènes obtenus est exprimée en $\mu\text{gEAU}/\text{mg}$ d'extrait sec par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de l'acide ursolique, les résultats sont montrés dans la Figure 20.

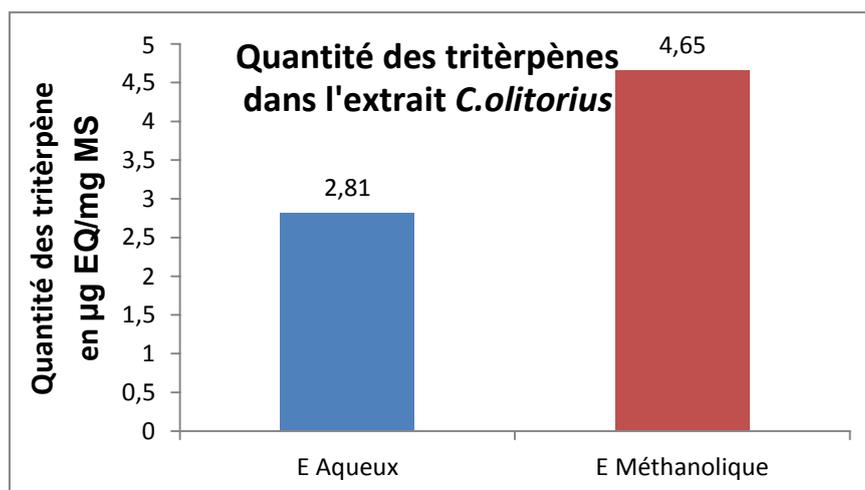


Figure 20. Les teneurs des Triterpènes en $\mu\text{g EAU}/\text{mg}$ d'extrait sec.

D'après la figure 21, les résultats obtenus montrent que les deux extraits étudiés sont comprend le triterpène. Cependant, l'extrait méthanolique de *C. olitorius* avec une grande quantité en Triterpène ($4.65 \pm 0.62 \mu\text{g d'EAG}/\text{mg}$) que l'extrait aqueux ($2.81 \pm 0.77\mu\text{g d'EAG}/\text{mg}$).

D'après Barku *et al.* (2013) l'analyse phytochimique qualitative de *Corchorus olitorius* Linn. la présence de la terpénoïde.

Par contre, d'après El-Rafie *et al.* (2016) l'absence de terpénoïde dans la plante de *Corchorus olitorius* pauvre du terpénoïde.

4.6. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne *in vitro* de notre extrait de plante « *Corchorus olitorius* Linn » a été réalisé pour évaluer la capacité des métabolites secondaires à inhiber la croissance des différentes souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disques sur un milieu gélosé.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par La technique de diffusion des disques sur milieu solide, qui est une technique qualitative basée, sur la mesure des diamètres d'inhibitions en mm de la croissance des bactéries (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*), (Figure 21).

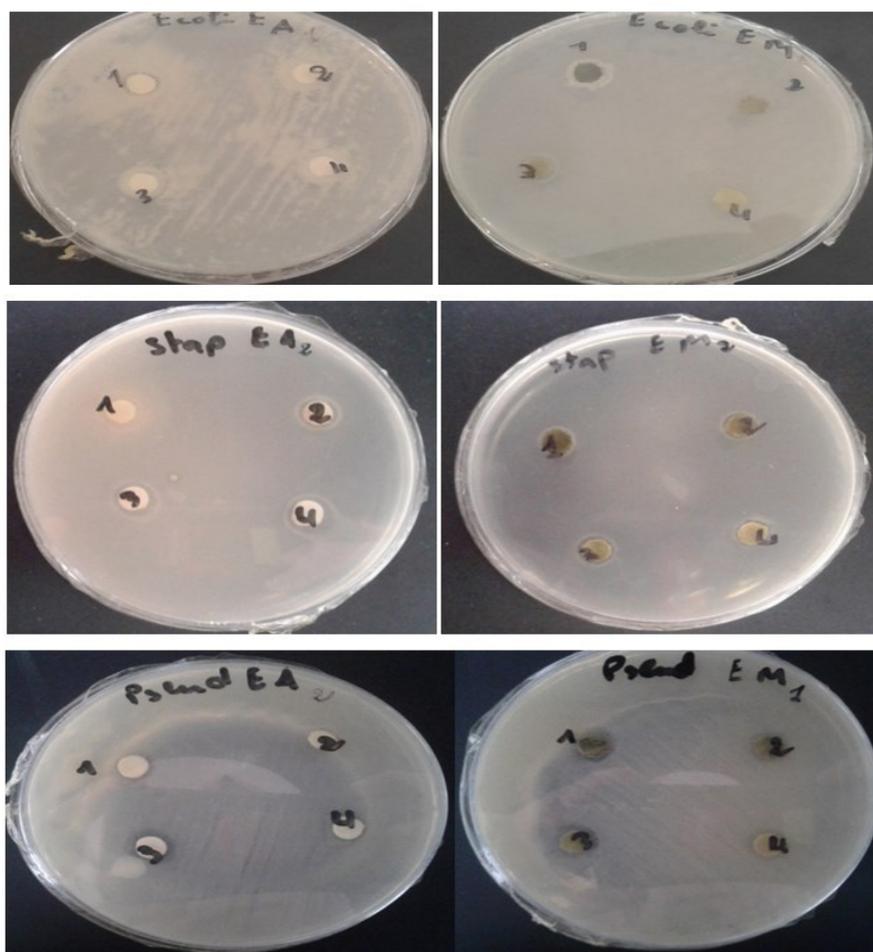


Figure 21. Résultat de l'effet de l'extrait aqueux et méthanolique sur les souches bactériennes (photo original).

Tableau 5. Les diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (en mm) par la méthode de disques.

Déterminations les zones d'inhibitin bactéries référenciées	Zones d'inhibition (mm)								Témoin (-) (DMSO)	Témoin (+) Gentamycine
	Concentration de l'extrait aqueux (mg/ml)				Concentration de l'extrait méthanolique (mg/ml)					
	200 mm	100 mm	50 mm	25m mm	200m mm	100m mm	50 mm	25 mm		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10 mm	-	-	-	11 mm	11 mm	12 mm	12 mm	-	17 mm
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27853	-	12 mm	12 mm	14 mm	10 mm	10 mm	11 mm	10 mm	-	28 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25923	10 mm	13 mm	12 mm	12 mm	10 mm	10 mm	11 mm	11 mm	-	19 mm

D'après les résultats enregistrés par la mesure de la zone d'inhibition exercée par l'extrait méthanolique et aqueux de *C. olitorius* vis-à-vis les deux bactéries testées (Tableau 5), on a révélé que ; l'absence d'une activité inhibitrice avec les disques témoins négatifs, indique que le DMSO n'a aucun effet sur les souches bactériennes testées.

Une forte activité avec les disques témoins positif (Gentamycine) contre les 3 souches testées, avec une meilleure inhibition pour *S. aureus* (28 mm) par rapport *Pseudomonas aeruginosa* (19 mm) et *E. coli* (17 mm), (Annexe 1).

- La bactérie *E coli* on obtenue :

Le résultat de l'effet d'extrait aqueux égal 10 mm et les résultats de dilutions 1/2,1/4,1/8 sont négatives.

Pour l'extrait méthanolique égal 11 mm et les résultats de dilution 1/2,1/4,1/8 sont successivement : 11 mm, 12 mm, 12 mm.

A partir les diamètres des zones d'inhibition qui représentées, on interprète qu'il ya un effet inhibitrice d'extrait aqueux et méthanolique des feuilles sur *E coli* mais avec une zone d'inhibition moyenne (sensible).

- La bactérie *Staphylococcus aureus* :

Le résultat de l'effet d'extrait aqueux égal 0 mm (négative) ; et les résultats de dilutions 1/2,1/4,1/8 sont successivement 12mm, 12mm, 14mm.

Pour l'extrait méthanolique égal 10 mm et le résultat de dilution 1/2,1/4,1/8 sont successivement : 10 mm, 11 mm, 10 mm.

A partir les diamètres des zones d'inhibition qui représentées, on interprète qu'il ya un effet inhibitrice d'extrait aqueux et méthanolique des feuilles sur *Staphylococcus aureus* mais avec une inhibition moyenne (sensible).

- La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* :

Le résultat de l'effet d'extrait aqueux égal 10 mm ; et les résultats de dilutions 1/2,1/4,1/8 sont successivement 13mm, 12mm, 12mm.

Pour l'extrait méthanolique égal 10 mm et le résultat de dilution 1/2,1/4,1/8 sont successivement : 10 mm, 11 mm, 11 mm.

A partir les diamètres des zones d'inhibition qui représentées, on interprète qu'il ya un effet inhibitrice d'extrait aqueux et méthanolique des feuilles sur *Pseudomonas aeruginosa* mais avec une inhibition moyenne (sensible).

On résume à partir de ces résultats ci-dessus dans cette étude, on peut dire que les trois bactéries sont sensible aux extraits testées de *C. olitorius* (diamètre d'inhibition est entre 10 mm et 14 mm).

- D'après Adegoke *et al.* (2009) a étudié l'activité antimicrobienne des extraits aqueux et méthanolique du Feuille de *Corchorus olitorius* ont montrés que ces extraits possèdent un effet inhibiteur sur *S.aureus* et *E.coli*.

- Pour *E.coli* ; extrait aqueux les zone d'inhibition entre (6 mm et 9mm) et pour l'extrait méthanolique entre (6 mm et 10 mm); donc on peut considérer les souches sont sensibles pour les deux extraits. Ces résultats similaires à résultat obtenue.
- Pour *Staphylococcus aureus* ; l'extrait aqueux les zone d'inhibition entre (6 mm et 7 mm) et l'extrait méthanolique entre (6 mm et 8 mm). Ces résultats sont nettement inférieur aux résultats obtenus par les deux extraits étudiés ; dans ce cas les souches sont résistants ou non sensible.
- Pour İlhan *et al.*, (2007), n'ya pas une zone d'inhibition de *Pseudomonas* (négative), et dans notre étude la zone d'inhibition est varier entre 10 mm et 13 mm. Le différent entre les deux résultats appartient de différents genres (*Pseudomonas aeruginosa* dans mon étude et l'autre *Pseudomonas gingeri*). Naili *et al.*, (2010), ont étudié l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles

Ils ont utilisé plusieurs souches dont *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que cet extrait possède un effet inhibiteur sur toutes les bactéries étudiées.

(Cosentino et Tuberoso, 1999 ; De-Billerbeck, 2002), ont affirmé que les bactéries Gram (+) sont plus sensibles que les bactéries Gram (-).

Les mêmes résultats sont confirmés par de nombreuses expériences ayant montre que les bactéries à Gram(-) sont plus résistantes aux extraits végétaux que les bactéries à Gram (+). Cette résistance est probablement liée à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces micro-organismes qui contient une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries à Gram(+).

La susceptibilité des bactéries est en effet indépendante du Gram (Dorman et Deans, 2000), et on dépend des extraits utilisés (Dean et Ritchie, 1987).

4.7. Evaluations de l'activité antifongique des extraits

Evaluation de l'activité antifongique des extraits aqueux et méthanolique des Feuilles de *Corchorus olitorius*

Les résultats de l'activité antifongique d'extraits méthanolique et aqueux des Feuilles de la plante *Corchorus olitorius* L avec différente concentration (200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml) par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélose (PDA) sur les souches fongiques : *Penecillium*, *Alternaria alternata* ne montre aucune effet (pas des zones d'inhibition) par contre les souches sont poussent.

Pour l'espèce *Aspergillus niger* le résultat montre une résiste de l'extrait méthanolique pour différente concentration ; n'apparait pas une zone d'inhibition (figure 22).

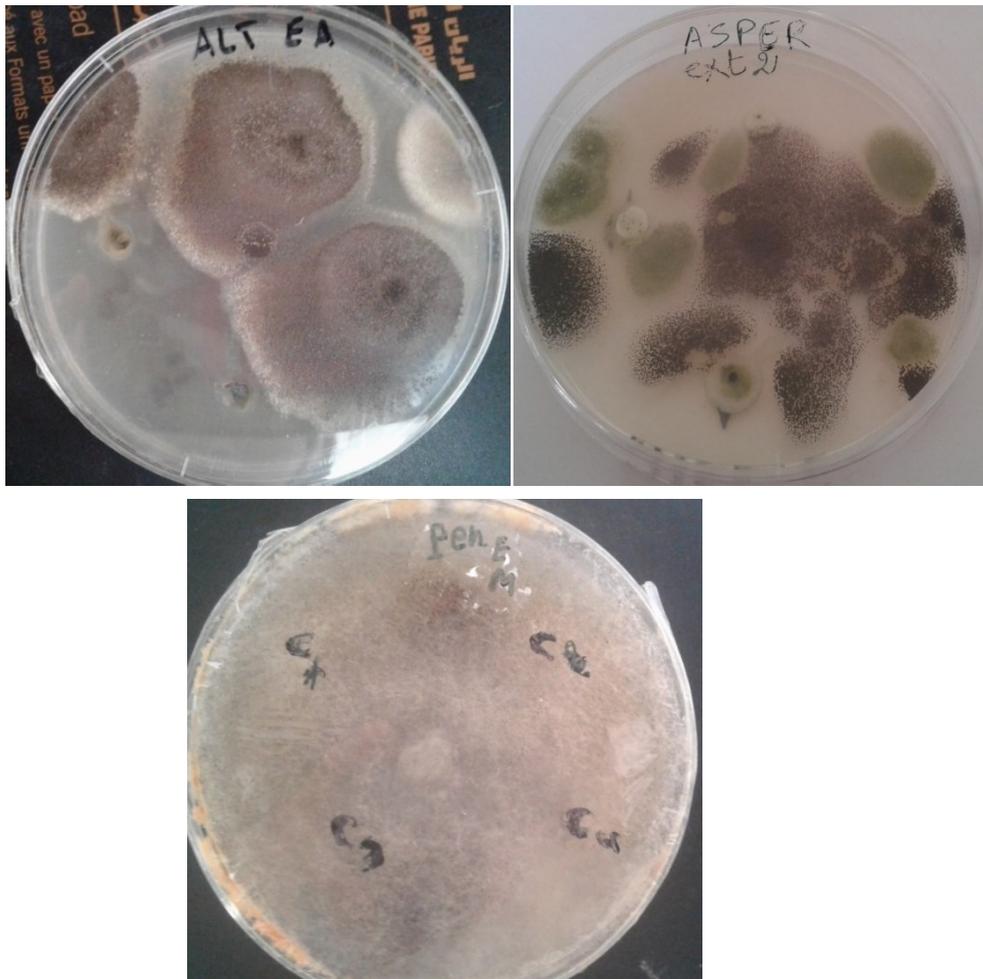


Figure 22. Résultat de l'effet de l'extrait aqueux et méthanolique sur les souches fongique (photo original).

D'après Gacem (2011), les deux extraits méthanoliques et aqueux possèdent une remarquable activité antifongique liée à leur richesse en composés bioactifs largement répandus dans les plantes médicinales. L'extrait méthanolique possède une activité fongicide sur la majorité des souches fongiques sélectionnées à l'exception d'*A. flavus* qui s'est révélée résistante.

D'après İlhan *et al.* (2007), étudié l'activité antifongique des extraits méthanolique et montre une absence de zone d'inhibition, cette résultats est similaire avec le résultat obtenue.

D'après Pattnaik et *al.* (1996). La variabilité des résultats est due à l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthodologie, les micro-organismes testés et les extraits utilisés.

4.8. Dénaturation de protéine BSA

Les résultats de la variation de la dénaturation thermique, exprimé en variation de densité optique (DO) à 255 nm, à différentes concentrations d'ovalbumine en fonction du temps sont présentés dans la figure 23.

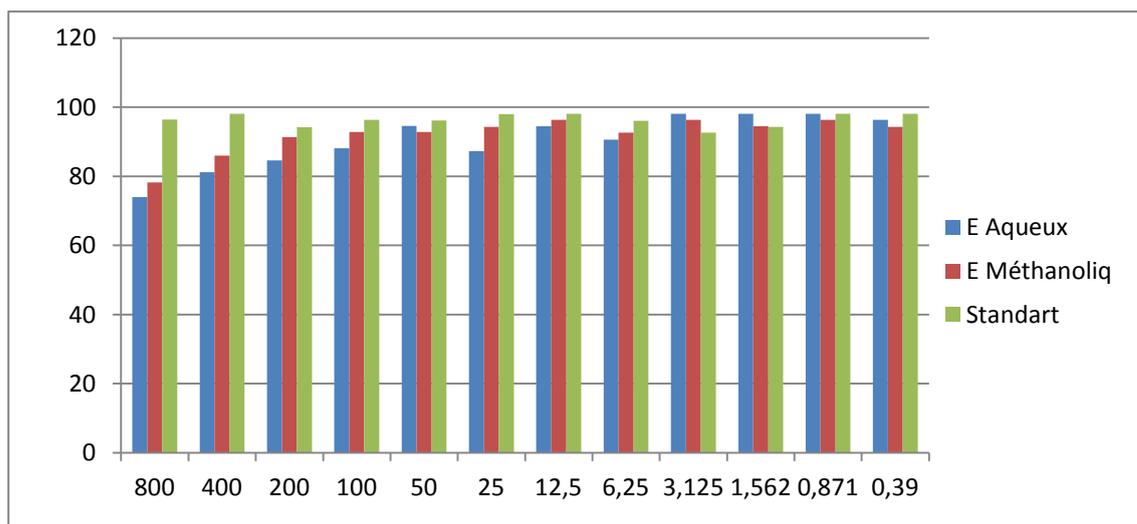


Figure 23. Pourcentage de protection de la BSA vis-à-vis d'une dénaturation thermique.

- **Evaluation de l'activité protectrice contre la dénaturation d'albumine (L'activité anti inflammatoire).**

Le graphique présente les pourcentages de la dénaturation des protéines BSA en fonction de différente concentration.

Les extraits aqueux de *C. olitorius* ont protégé l'albumine contre la dénaturation par la chaleur avec un pourcentage maximum de 98,11% à une concentration de 3.125mg/ml ; et l'extrait méthanolique avec un pourcentage maximum 96.36 à une concentration 0.871mg/ml

L'effet de diclofénac de sodium contre la dénaturation est très important avec un pourcentage de 98,11% à une concentration de 0.871µg/ml.

Les résultats obtenus montrent que les extraits de *C. olitorius* possèdent une activité dose dépendante.

Le taux de protection de la protéine est varié inversement avec la concentration pour les deux extraits de *C.olitorius*.

D'après Chirisa (2016). L'extrait pourrait inhiber la dénaturation des protéines en interagissant avec les acides aminés exposés lors du chauffage.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Cette étude valide scientifiquement l'usage traditionnel de la plante médicinale et révèle leur intérêt dans le cadre d'une exploitation en biotechnologie.

Une étude bibliographique réalisée sur ces espèces a montré que l'on ne disposait que de peu d'informations de nature chimique et/ou biologique.

Ce travail, a porté sur l'extraction et le dosage des métabolites secondaire. Nous avons dans un premier temps faire l'extraction solide- liquide de notre plante (partie aérienne) médicinale, montre que le rendement de l'extrait méthanolique et aqueux est égale à 10.92% et 17.12% respectivement, ce qui laisse dire que c'est différent en fonction des solvants utilisés. Les analyses qualitatives effectuées ont mis en évidence la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes, des tanins, des tritèrènes dans ces extraits,

L'effet pharmacologique de nos plantes a été mis en évidence par une évaluation de leurs propriétés antimicrobienne et anti-inflammatoires.

Une relation positive entre l'activité anti-inflammatoire et les composés polyphénoliques a été établie dans le cas des extraits de feuilles.

Le test de l'activité antimicrobienne des extraits, par la méthode de diffusion en milieu gélosé, a montré que les deux extraits testés sont actifs vis-à-vis de certaines souches bactériennes. Cependant, il est à noter que les bactéries étudiées sensibles aux composés actifs étaient du genre *Staphylococcus*, *Escherichia* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour l'activité antifongique, les résultats obtenus ont montré que les deux espèces (*Alternaria alternata*, *Penicillium*) sont sensibles mais n'apparaît pas dans mon étude, tandis que l'*Aspergillus* est résistant aux extraits méthanoliques.

D'une façon générale, la plus part de nos extraits ont une activité antimicrobienne qui varie d'une souche à une autre. Cette activité peut être importante ou faible selon la partie de la plante utilisée, la concentration de nos extraits et la souche testée.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Adegoke A., Adebayo.,Tayo B .2009. Phytochemical composition and antimicrobial effects of *Corchorus olitorius* leaf extracts on four bacterial isolates.
- Agati G., Azzarello E., Pollastri S., & Tattini M. 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science* (1)96 : 67-76.
- Alissou A. E. 2011. Analyse des pratiques culturales maraichères dans les bas-fonds rizicoles d'Agbédranfo-Vovokanmey (Couffo) et de Houinga (Mono) au sud-Bénin, et effet de l'azote sur la croissance et la production du crincri (*Corchorus olitorius L.*) (Doctoral dissertation, UAC).
- Ali-Rachedi F., Meraghni S., Touaibia N., et Mesbah S.2018. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L.* *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*
- Arslanoglu. A., Bilgin, S., Kubali. Z., Ceyhan. M. N., İlhan, M. N., & Maral, I. 2007. Doctors' and intern doctors' knowledge about patients' ionizing radiation exposure doses during common radiological examinations. *Diagnostic and Interventional Radiology*, 13(2) : 53.

B

- Barku V. Y. A., Boye A., and Quansah N. 2013. Antioxidant and wound healing studies on the extracts of *Corchorus olitorius* leaf. *World Essays J* (1) : 67-73.
- Bougandoura N., et Bendimerad N. 2012. Effect Antifongique Des Extraits Aqueux et Methanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta) briq*, *Rev. des BioRessources* (2) : 1-7
- Borokini T.I., Omotayo F.O.2012. Phytochemical and ethnobotanical study of some selected medicinal plants from Nigeria. *Journal of Medicinal Plants Research* 6 (7) : 1106-1118.
- Bonnet P. 2015. *orchorus olitorius* (PROTA). *Plant Resources of Tropical Africa* 1(529) : 1-2.
- Bravo L.1998.Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews* (56) : 317-333.

- Brama S. O.2002. Activité antibactérienne d'extraits d'Euphorbia hirta (Linn), une plante utilisée traditionnellement dans le traitement des infections urinaires (Doctoral dissertation, UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU).

- Bruneton J. 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème Ed. Paris: Tec et Doc Lavoisier.

C

-Cosentino S., et Tuberoso C. I. G. 1999. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Let Appl Microbial* 29(2): 130- 135.

-Gacem M. A.2011.contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de citrullus colocynthis sur la croissance de quelque moisissure d'altération de blé tendre stocké. thse de magister- universite KASDI MERBAH-Ouargla.

D

--Dapkevicius A.,Venskutonis R., Van B.T.A. and Linssen J.P.H. .1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal science food agriculture* (77) : 140-146.

- Darchivio M., Filesi C., Dibenedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., & Masella R. 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita* (43) : 348.

- Dai J., & Mumper R. J. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* (15) : 7313-7352.

-Deans S. G. et Ritchie G .1987. Antimicrobial properties of plant essential oils. *Intrnational Journal of Food Microbiology* (5): 162-180.

- Devappa V., andThejakumar M. B. 2016. Morphological and physiological studies of *Alternaria alternata* causing leaf spot disease of Chilli (*Capsicum annum* L.). *International*

- Deguenon E., Dougnon V., Lozes E., Maman N., Agbankpe J., Abdel-Massih R. M., ... et Dougnon.2019. Resistance and virulence determinants of faecal *Salmonella* spp. isolated from slaughter animals in Benin. *BMC research notes* 12(1) : 317.

- Diferdinando M., Brunetti C., Agati G., & Tattini M. 2014. Multiple functions of polyphenols in plants inhabiting unfavorable Mediterranean areas. *Environmental and experimental botany* 1(03) : 107-116.
- Dorman H.J.D.2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oil. *Journal of Applied Microbiology* (88) :308-316.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* (97): 654-660.
- Durling N.E., Catchpole O.J., Grey J.B., Webby R.F., Mitchell K.A., Foo L.Y. and Perry N.B. 2007. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanolwater mixtures, *Food Chemistry* (101): 1417-1424.

F

- Fan.J.B and C. H. He. 2006. “Simultaneous quantification of three major bioactive triterpene acids in the leaves of Diospyros kaki by high-performance liquid chromatography method”. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 41, no. 3, pp. 950–956.

J

- Jaob pellecuer J tomei.1979. Centre régional d'étude et de developpement des plantes à usage pharmaceutique Ri vista italina vol (11) p : 125-134.
- Journal of Applied and Pure Science and Agriculture* 2(5) : 2394-5532. Bougandoura N., et Bendimerad N. 2012. Effect Antifongique Des Extraits Aqueux et Methanolique de Satureja calamintha ssp. *Nepeta) briq, Rev. des BioRessources* (2) : 1-7.
- Julkunen-Titto R.1985. Phenolicsconstituents in the leaves of northernwillos: Methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, (33) : 213-217.

H

- Harkati B. 2011. Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae.

G

- Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A. and Fernández-Gutiérrez A.2010. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, 15, 8813- 8826

-Guerdouh A.2017. Effet du Solvant *sur L'extraction* Liquide-Liquide du Cuivre (II) et du Chrome (III) par L'acide Laurique et La Salicylidèneaniline (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra).

K

-Kiebre M.,Kande P.B., Kiebre.Z., Sawadogo M., Sawadogo N., Sawadog B ... & Traore R. E. 2016. Evaluation agromorphologique d'accessions de corète potagère (*corchorus olitorius. L*) du Burkina Faso [Agromorphological evaluation of accessions of jute potager (*corchorus solitorius. L*) of Burkina Faso]. International Journal of Innovation and Applied Studies 14(1) : 198.

- Koné D.2009. *Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes: extraction, identification d' alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols: étude de leur activité antioxydante* (Doctoral dissertation, Université Paul Verlaine-Metz).

-- Khoddami A., Wilkes M. A.,and Roberts T. H. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compound. *Molecules* (18) : 2328-2375.

- Klejdusa B., Kopecký J., Benesová L., and Vaceka J.2009. Solid-phase/supercritical-fluid extraction for liquid chromatography of phenolic compound in freshwater microalgae and selected cyanobacterial species. *Journal of chromatography A* (12)16 : 763-771

- 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* (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).

L

Loumerem M., et Alercia A. 2016. Descriptors for jute (*Corchorus olitorius L.*). *Genetic resources and crop evolution* 63(7) : 1103-1111.

M

- Mibei E.K.,Ojijon N.K.,Karanja S.M.,Kinyua J.K. 2012. Phytochemical and antioxydant analysis of methanolic extracts of four African indigenous leafy vegetables. *Annals. Food Science and Technology* 1 (13) : 37-42.

- Moroh, J. L. A., Bahi, C., Dje, K., Loukou, Y. G., & Guede-Guina, F. 2008. Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique

extract (ACE) on in vitro growth of Escherichia coli strains. *Bulletin Societe Royale des Sciences Liege*, 77, 44-61.

N

-Naili m.B. Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. 2010. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem* (3): 79–84.

- Nobre B.P., Gouveia L., Matos P.G., Cristino A.F., Palavra A.F., Mendes R.L. 2012. Supercritical extraction of lycopene from tomato industrial wastes with ethane. *Molecules* (17) : 8397-8407.

- Nsemi F. M.2010. *Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques* (Doctoral dissertation, Université Paul Verlaine-Metz).

-Nuwangburuka CC, Denton OA.2012. Heritability, character association and genetic advance in six agronomic and yieldrelated characters in leaf *Corchorus olitorius*. Departement of Agriculture and Industrial Technology, Babcock University, Ilishan-Remo, P M B 21244, Ikeja, Lagos State, Nigeria. *Int J Agric Res* 7:367–375.

O

- Ourida C. H. O. U. I. T. A. H. 2012. *Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de Glycyrrhiza glabra* (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).

Özdenefe M. S., Muhammed A., Süer K., Güler E., Aysun H., and Takcı M .2018. Determination of Antimicrobial Activity of *Corchorus olitorius* Leaf Extracts. *Cyprus Journal of Medical Sciences* 3(3) :159-163.

P

-Pattnaik S. Subramanyam V. R. et Kole C.1996. Antibacterial and antifungal activity of essential oils in vitro. *Microbios*(86) pp. 237-246.

- Patil D. K., and Jain A. P. 2003. Extraction Qualitative and Quantitative Determination of Secondary Metabolites of *Corchorus Olitorius*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 9(1) : 252-255.

- Pandey K. B., and Rizvi S. I. .2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2(5) : 270-278.

-Pastor-Cavada, E., Juan, R., Pastor, J. E., Alaiz M., & Vioque, J .2009. Antioxidant activity of seed polyphenols in fifteen wild Lathyrus species from South Spain. *LWT-Food Science and Technology* (42) :705-709.

R

- Ramakrishna A and Ravishankar G. A .2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior* 6(11) : 1-12.
- Rahman H., Eswaraiah M. C., and Dutta A. M. 2015. In-vitro antiinflammatory and anti-arthritic activity of oryza sativa var. Joha rice (an aromatic indigenous rice of assam). *Am Eurasian J Agric Environ Sci* (15) :115-21.

S

- Samples. Garcia Salas P., Morales.,Soto A., Segura-Carretero A., and Fernández-Gutiérrez A. 2010. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable *Molecules*, (15) : 8813- 8826.
- Saffidine K.2018. *Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de carthamus caeruleus L. et de plantago major L* (Doctoral dissertation).
- Seghiri R. 2009. *Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires du Genre Centaurea: C africana, C nicaensis* (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat. Université de Mentouri–Constantine P. 17.
- Soro L. C., Atchibri L. O., Kouadio K. K., et Kouamé C. 2012. Evaluation de la composition nutritionnelle des légumes feuilles. *J. Appl. Biosci* (51) : 3567-3573.
- Stalikas C. D. 2007. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J., Sep. Sci.* 2007.(30) : 3268–3295.

T

- Touaibia M., et Chaouch F. Z. 2003. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits aqueux, méthanolique et éthanolique de l'espèce saharo-endémique *Myrtus nivellei* Batt et Trab.(Myrtaceae)[Evaluation of the antioxidant activity of aqueous, methanolic and ethanolic
- Tsao R. 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients* (2) : 1231-1246.extracts of the Sahara-endemic species *Myrtus nivellei* Batt and Trab.(Myrtaceae)]. *International Journal of Innovation and Applied Studies* 6(3) : 407.

V

-Vya B., Boye A., Quansah N.2013. Antioxidant and wound healing studies on the extracts of *Corchorus olitorius* leaf. World Essays Journal (7) : 67-73.

Annexes

Annexe 1

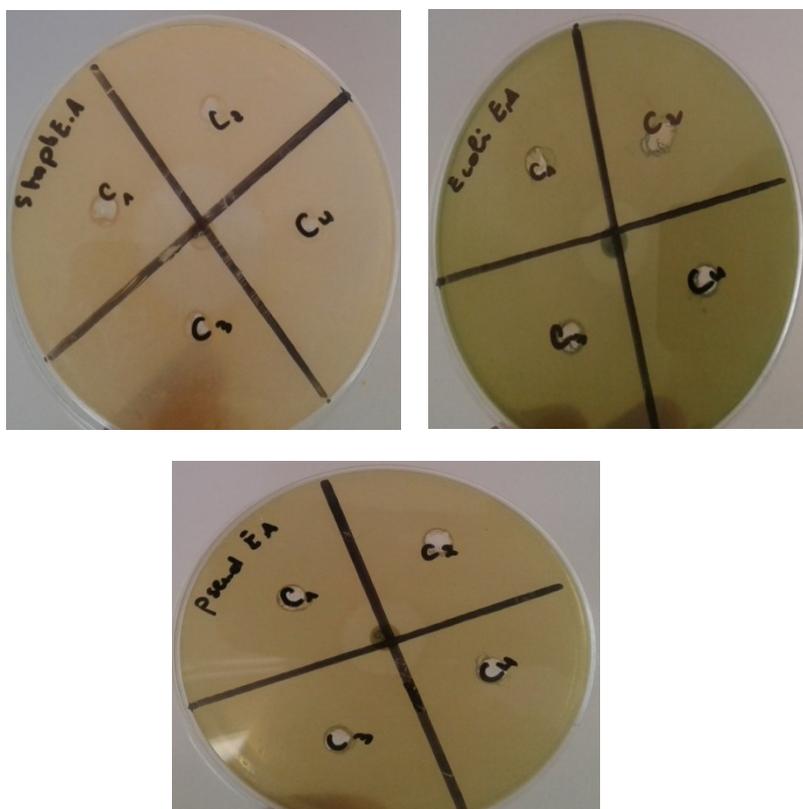


Figure 24. L'effet de gentamicine sur les différentes souches bactérienne.

ملخص

Corchorus olitorius هي نباتات طبية تنتمي لعائلة Tiliaceae المنتشرة في افريقيا و اسيا و يهدف هذا العمل

لتحضير مستخلص مائي و ميثانولي لاوراق نباتات الملوخية من خلاله تقييم النشاط الالتهابي. و الذي يتركز على طريقة تفكيك الحراري لبروتين BSA و اختبار نشاط مضادات الميكروبات عن طريق نشرها في وسط الغذائي الخاص بها . تظهر نتائج تحضير المستخلص المائي (10.92%) منخفضة مقارنة بمستخلص الميثانول (17.12%). أكد التحليل الكمي للمستخلصات وجود المركبات البوليفينولية ، و أن اعلى نسبة كانت في المستخلص الميثانولي. يظهر النشاط المضاد للبكتيريا أن المستخلصين يمارسان نشاطاً مثبطاً اتجاه البكتيريا الثلاثة التي تم اختبارها ، والتي يكون أفضل نشاط بالنسبة لها هو عند تحضير الميثانول. في حين أن النشاط المضاد للفطريات لا يعطي أي نتيجة إلا *Aspergillus niger* الذي يظهر المقاومة في مستخلص الميثانول. كل من مستخلصات *Corchorus olitorius* لها خصائص مضادة للالتهابات مع تراكيز مختلفة.

الكلمات المفتاحية: *Corchorus olitorius* ، المستخلص المائي ، المستخلص الميثانولي ، البوليفينول ، النشاط المضاد للبكتيريا ، النشاط المضاد للفطريات ، النشاط المضاد للالتهابات .

Résumé

Corchorus olitorius Linn. est une plante médicinale appartenant à la famille des Tiliaceae est une culture des fibres comestibles qui se trouve en Asie et en Afrique. Le présent travail a pour but : La préparation des extraits aqueux et méthanolique à partir de la partie aérienne de *Corchorus olitorius*, évaluer l'activité anti-inflammatoire, nous avons appliqué une méthodologie essentiellement basée sur d'dénaturation thermique des protéines BSA, et de tester l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les résultats d'extraction montrent que le rendement de l'extrait aqueux (10.92%) est faible par rapport à l'extrait méthanolique (17.12%). L'analyse quantitative des extraits a permis de confirmer la présence des composés phénoliques, qui a donné le teneur le plus élevé dans l'extrait méthanolique. L'activité antibactérienne montre que les deux extraits exercent une activité inhibitrice vis-à-vis les trois bactéries testées, dont la meilleur activité est pour l'extrait méthanolique. Tandis que l'activité antifongique ne donne aucun résultat sauf *Aspergillus niger* qui montre la résistance dans l'extrait méthanolique. Les deux extraits de *Corchorus olitorius* présentent des propriétés anti-inflammatoires avec une activité de la dose dépendante.

Mots clés : *extrait aqueux, extrait méthanolique, polyphénols, activité antibactérienne, activité antifongique, l'activité anti-inflammatoire, Corchorus olitorius.*

Summary

Corchorus olitorius Linn. is a medicinal plant belonging to the Tiliaceae family is a culture of edible fibers that is found in Asia and Africa. This work aims: The preparation of water and methanol extracts from the aerial part of *Corchorus olitorius*, evaluating anti-inflammatory activity, we applied a methodology essentially based on denaturation BSA proteins, and to test antimicrobial activity using the method of diffusion in the gélodosis medium. The extraction results show that the yield of the water extract (10.92%) methanol extract (17.12%). Quantitative analysis of the extracts confirmed the presence of phenolic compounds, which yielded the highest content in methanol extract. Antibacterial activity shows that both extracts exert inhibitory activity vis-à-vis the three bacteria tested, the best activity of which is for methanol extract. While antifungal activity yields no results except *Aspergillus niger* which shows resistance in methanol extract. Both extracts of *Corchorus olitorius* have anti-inflammatory properties with a dependent dose activity

Keywords: *water extract, methanol extract, polyphenols, antibacterial activity, antifungal activity, anti-inflammatory activity, Corchorus olitorius*