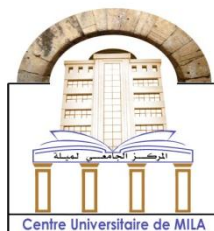


N° Ref :



Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne de *Ocimum basilicum L*

Présenté par :

- LAHDJAZI Ghania.
- TIKOUDANE Hamida.

Devant le jury composé de :

Présidente : Dr. HadeF Saoussen

Examinatrice : Dr. Amimour Mouna

Promotrice : Dr. Merzouki soraya

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ
وَالَّذِي يُضَوِّبُ الْمَوْتَى
إِنَّ رَبَّهُ لَسَدِيدٌ
إِلَىٰ عَرْشِهِ الرَّحِيمُ
الَّذِي يُرْسِلُ الرِّيَّاحَ
تُحْمَلُهُ السَّحَابُ
وَيُنزِلُ مِنْهَا
مَاءً بَارِكًا
فِيهِ لَشَجَرٌ
كُنُوزٌ كُنُوزٌ
اللَّهُمَّ صَلِّ عَلَى
مُحَمَّدٍ وَعَلَى
آلِهِ وَاجْعَلْهُ
مِنْ أَوْلِيَاءِكَ
وَجْعَلْ لِي فِيهِ
مَنْزِلًا وَمَنْزِلًا
وَجْعَلْهُ لِي
مِنْ أَوْلِيَاءِكَ
وَجْعَلْ لِي فِيهِ
مَنْزِلًا وَمَنْزِلًا

Remerciements



*Tout d'abord nous remercions **ALLAH** le tout puissant de la bonne santé, la puissance et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promotrice, Madame **MERZOUKI SORAYA** Que sa Profonde gratitude pour avoir orienté, dirigé ce travail et Également pour tous ses conseils dans l'élaboration et la Conception de ce mémoire.*

*Nous remercions tous les membres de jurye **Dr. HadeF Saoussen et Dr. Amimour Mouna** qui ont accepté de juger notre travail.*

Nous plus grande gratitude va à tous les enseignants de Département des Sciences de la Nature et de la Vie pour leurs Orientations et leurs conseils.

Et en particulier, nous remercions les ingénieurs de laboratoire de centre universitaire de Mila, pour leurs aides.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à tous nos amis et collègues de la promotion de Biochimie Appliquée, Je ne saurais oublier nos remerciements à tous les étudiants de BV et Eco de la promotion 2021.

Enfin, nous tenons à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou in directement à finaliser ce modeste travail.

Ghania et Hamida



Dédicace

*Avec l'aide de **Dieu** le tout puissant est achevé le présent
travail que je dédie*

*À la prunelle de mes yeux, la lumière de ma vie,
mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de
bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te
garde dans son vaste paradis ; à toi mon père*

Abd eslam.

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon coeur,
la lumière à mes yeux ma vie et mon bonheur, A ce bel ange qui fleurit les
jardins du ciel sous ses pieds, Oh mon Dieu, sauve ma mère, car elle est le
paradis dans mon coeur ; maman*

Aldja.

*À ma chère sœur **Houda**, aucun mot ne saurait exprimer
tout l'amour que j'ai pour vous deux.*

*À mon cher frère **Kamel**, mon source de courage.*

À tout ma famille

*À mon beau binôme **Hamida**, Et à tous mes amies surtout : **Afaf** et **Warda**
qui m'ont toujours donné le sourire dans les moments difficiles..*

À toute mes collègues et la promotion de Master 2

Biochimie Appliquée 2021.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin

Pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Ghania



Dédicace

Avec l'aide de «**Dieu**» le tout puissant, qui a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

Spécialement, **A** mes chers parents **Abdelaziz** et **Fahima**, pour leurs soutiens et leurs sacrifices tout au long de ma vie, Pour leurs enseignements continus à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils et pour leurs encouragements en vue de l'achèvement de ce travail. Je suis très heureuse et fière de votre présence à mon côté.

Que dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

A mes chers frères : **Khaled** et **Ismail** qui ont toujours été à mes côtés.

A ma chère et adorable sœur : **Karima** pour leur soutien moral et leur aide, leur support continu durant ces années d'études merci d'être là pour moi.

A ma chère grand-mère : **Zineb** et **A** mes oncles et mes tantes.

A tous les membres de la famille **Tikoudane** et **Azra**.

A mon chère binôme **Ghania** avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.

A mes belles amies : **Ghania**, **Wafa**, **Salma**, **Hadjer**, **Imane**, **Rima**, **Nawal**, **Nodjoud**, je leurs souhaite tout le bonheur et la réussite.

Je remercie du fond du cœur : **Belmazouzi Khadidja** et tous les membres de son groupe, et mes collègues **Warda**, **Afaf**, **Ikram**, **Sihem**, **Cheima**.

A mes collègues de la promotion **master II 2020-2021**. Option biochimie Appliqué et **A** tous qui me connaisse, **A** Tous ceux qui m'ont aidé directement ou indirectement dans la réalisation de ce mémoire de près ou de loin.

Hamida

Liste des abréviations

% : Pourcentage

° : Degré

°C : Degré Celsius

µl : Microlitre

1/16 : Dilution de 6.25%

1/8: Dilution de 12.5%

¼ : Dilution de 25%

½ : Dilution de 50%

Abs : Absorbance

ADN : Adénosine désoxyribonucléique

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

B.cereus : *Bacillus cereus*

BN : Bouillon Nutritif

CAD : Cinnamyl alcool déshydrogénase

CCM : Chromatographie sur couche mince

CCR : Cinnamate CoA réductase

CHCl₃: Chloroforme

CHI : Chalcone flavanone

CHS : Chalcone synthase

CuSO₄: Sulfate de Cuivre

Cm : Centimètre

DMSO: Diméthylsulfoxyde

E.coli : *Escherichia coli*

ERN : Espèces réactives azotés

FeCl₃ : Chlorure ferrique

g : gramme

H: heures

HCl: Acide Chlorhydrique

HE : Huiles essentielles

H₂O : Forme moléculaire de l'eau

H₂SO₄ : Acide sulfurique

KI : iodure de potassium

KOH : Hydroxyde de potassium

Lacc : Laccases

mg: Miligramme

MeOH: Méthanol

mg éqQu/g : mg équivalent quercitine par gramme de matière sèche

mg éqAG/g : mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche

MGMT : O-6-méthylguanine-ADN-méthyltransférase

MH: Mueller Hinton.

min : Minutes

ml : Millilitre

mm : Millimètre

MOH : méthanol

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

NaCl :Chlorure de Soduim

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium

nm : nanomètre

O.basilicum L : *Ocimum basilicum L*

PAL : Phénylalanine ammonialyase

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

POD : Peroxydase

PPG : Pyrophosphate géranyle

PPI₂ : Pyrophosphate de diméthyllyle

PPI₃ : Pyrophosphate d'isopentén-3yle

R : Rendement

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

SM : solution mère

TAL : Tyrosine ammonialyase

TR : Transférases

UV : Ultra-violet

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	<i>Ocimum.basilicum L</i>	7
2	Répartition géographique du basilic	8
3	Présentation d' <i>Ocimum basilicum.L</i>	9
4	Présentation morphologique des feuilles de basilic	9
5	Les graines d' <i>O. basilicum.L</i>	10
6	Les fleurs d' <i>O, basilicum.L</i>	10
7	le noyau phénols Structure de l'acide	18
8	La voie de biosynthèse des polyphénols végétaux	21
9	Structure de la molécule d'isoprène	24
10	La biosynthèse des terpènes par la voie de l'acide mévalonique	26
11	La biosynthèse des terpènes par la voie du méthylérythritol phosphate	26
12	Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes	29
13	Mécanisme d'action des antibiotiques	36
14	Carte géographique de la situation région Chelghoum Laïd	41
15	Le basilic : (a) partie aérienne fraîche. (b) partie aérienne sèche. (c) poudre de partie aérienne	42
16	Protocole d'extraction par macération des composés phénoliques	44
17	Protocole d'extraction liquide-liquide de plante <i>Ocimum basilicum.L</i>	46
18	chromatographie sur couche mince	50
19	Principe de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu	51
20	Protocole de dosage des polyphénols totaux	51
21	Dosage des polyphénols totaux	52
22	Structure de l'acide gallique	52
23	Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes	53
24	Protocole de dosage des flavonoïdes	53
25	Dosage des flavonoïdes	53
26	Structure chimique de la quercitine	54
27	préparation des disques d'aromatogramme	56
28	Repiquage des souches bactériennes	56
29	Préparation de l'inoculum bactérien	57

30	Ensemencement des bactéries et dépôt des disques	58
31	Incubation et lecture	58
32	Extrait brut après la macération et extrait brut après l'évaporation	60
33	Histogramme du rendement d'extrait brut	61
34	Extraction liquide-liquide de l'extrait brut	61
35	histogramme des rendements obtenus pour chaque fraction	62
36	Résultats de test des flavonoïdes	63
37	Résultats de test des tanins	63
38	Résultats de test des stérols et triterpènes	64
39	Résultats de test des glucosides	64
40	Résultats de test des stéroïdes	64
41	Résultats de test des anthraquinones	65
42	Résultats de test des quinones libres	65
43	Résultats de test des coumarines	65
44	Résultats de test des anthocyanes	66
45	Résultats de test des alcaloïdes	66
46	Résultats de test des protéines	66
47	Résultats de test des saponines	67
48	Révélation de plaque CCM de gel de silice des trois fractions de partie aérienne d' <i>O.basilicum</i> sous lampe UV	69
49	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	70
50	Courbe d'étalonnage de la quercétine	71
51	Histogramme des teneurs en polyphénols et flavonoïdes des fractions de partie aérienne d' <i>O.basilicum</i> .L	72
52	Le diamètre des zones d'inhibition d' <i>O.basilicum</i> vis-à-vis d' <i>E. coli</i>	75
53	Aspect des zones d'inhibition des fractions vis-à-vis <i>E.coli</i>	76
54	Le diamètre des zones d'inhibition d' <i>O.basilicum</i> vis-à-vis de <i>B. cereus</i>	76
55	Aspect des zones d'inhibition des fractions vis-à-vis <i>B. cereus</i>	77
56	Le diamètre des zones d'inhibition d' <i>O.basilicum</i> vis-à-vis de <i>S.aureus</i>	77
57	Aspect des zones d'inhibition des fractions vis-à-vis <i>S.aureus</i>	78
58	Le diamètre des zones d'inhibition d' <i>O.basilicum</i> vis-à-vis de <i>P. aeruginosa</i>	78
59	Aspect des zones d'inhibition des fractions vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i>	79

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Position systématique d' <i>Ocimum basilicum L</i>	7
II	Les principales classes des composés phénoliques	19
III	les exemples de quelques composés phénoliques et leurs activités biologiques	23
IV	Les principales classes configuration et quelques exemples des terpénoïdes	25
V	Les principaux cycles azotés et quelques exemples des alcaloïdes	28
VI	Caractéristiques des souches bactériennes utilisée	55
VII	le rendement de l'extrait brut	60
VIII	les rendements, couleur et aspect des différentes fractions	62
IX	Screening phytochimique pour chaque fraction	67
X	Résultats des dosages des composés phénoliques	70
XI	Résultats des dosages des flavonoides	71
XII	L'activité antibactérienne des fractions d' <i>O.basilicum L</i>	74

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur l’Ocimum basilicum. L

I. Généralités sur l’ <i>ocimum basilicum L</i>	5
I.1. La famille de Lamiacées.....	5
I.2. Genre <i>Ocimum</i>	5
I.2.1. Classification de genre <i>Ocimum</i>	6
I.3. L’ <i>Ocimum basilicum L</i>	6
I.3.1. Historique	6
I.3.2. Présentation	6
I.3.3. Position systématique	7
I.3.4. Nomenclature	7
I.3.5. Répartition géographique.....	8
I.3.6. Description botanique.....	9
I.3.7. Variété	11
I.3.8. Composition chimique	11
I.3.9. Culture	12
I.3.10. Récolte	12
I.3.11. Séchage et conservation	12
I.3.12. Ravageurs	12
I.3.13. L’utilisation traditionnel	13
I.3.14. Propriétés biologiques	13

Chapitre II : Métabolites secondaires

II.2. Définition	17
II.3. Classification	18
II.3.1. Les composés phénoliques.....	18
II.3.1.1. Définition	18
II.3.1.2. Structure.....	18
II.3.1.3. Classification	19
II.3.1.4 .Biosynthèse des polyphénols	20
II.3.1.5. Rôle et intérêt des composés phénoliques.....	21
II.3.2. Terpénoïdes	23
II.3.2.1. Définition	23
II.3.2.2. Structure.....	24
II.3.2.3. Classification	24
II.3.2.4. Biosynthèse	25
II.3.2.5. Propriétés biologiques de terpènes.....	27
II.3.3. Les alcaloïdes.....	27
II.3.3.1. Définition	27
II.3.3.2. Classification	28
II.3.3.3. Biosynthèse des alcaloïdes.....	29
II.3.3.4. Propriétés physicochimiques	30
II.3.3.5. Rôle des alcaloïdes	31

Chapitre III : Activité antibactérienne

III. Activité antibactérienne	33
III.1. Généralités sur les bactéries	33
III.2. Principales substances antibactériennes	33
III.2.1. Les antibiotiques	33
III.2.2. Composés phénoliques.....	34
III.3. Mécanisme d'action des agents antibactériens	34

III.3.1. Mécanisme d'action antibactérienne des antibiotiques	34
III.3.2. Mécanisme d'action antibactérienne des polyphénols.....	36
III.4. Données générales sur les différentes souches testées.....	37

Deuxième Partie : Etude expérimentale

Chapitre I: Matériels et méthodes

I.1.Objectif de l'étude	41
I.2. Matériels et méthodes	41
I.2.1. Présentation de région d'étude.....	41
I.2.2. Matériels.....	42
I.2.2.1. Matériel végétal utilisé.....	42
I.2.3. Méthode.....	42
I.2.3.1. Préparation de la poudre végétale.....	42
I.2.3.2. Extraction et fractionnement	43
I.2.3.2.1. Extraction par macération	43
I.2.3.2.2. Fractionnement d'extrait par extraction liquide-liquide.....	45
I.2.3.3. Analyse qualitative.....	46
I.2.3.3.1. Screening phytochimique.....	46
I.2.3.4. Analyse quantitative	50
I.2.3.4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	50
I.2.3.4.2. Dosage des flavonoïdes.....	52
I.2.3.5. Activité antibactérienne.....	54

Chapitre II : Résultats et discussion

II. Résultats et discussion	60
II.1. Extraction des composés phénoliques.....	60
II.1.1.Taux d'extraction de l'extrait brut.....	60
II.1.1.1. Résultat	60
II.1.1.2. Discussion	61
II.1.2. Taux d'extraction des fractions.....	61
II.1.2.1. Résultat	61
II.1.2.2. Discussion	62

II.2. Analyse qualitative.....	63
II.2.1. Screening phytochimique.....	63
II.2.1.1. Résultat	63
II.2.1.2. Discussion	68
II.2.2. Chromatographique sur couche mince CCM.....	68
II.2.2.1. Résultat	68
II.2.2.2. Discussion	69
II.3. Analyse quantitative	69
II.3.1. Résultat	70
II.3.2. Discussion	72
II.4. Activité antibactérienne	73
II.4.1. Pouvoir antimicrobienne des fractions	74
II.4.1.1. Résultat	74
II.4.1.2. Discussion	79
Conclusion et perspectives	82
Références bibliographiques	84
Annexes	
Résumé	

Introduction



Introduction

Les plantes sont des ressources naturelles végétales, consommées pour leurs propriétés médicinales et nutritives. Actuellement, les recherches scientifiques s'intéressent à ce type de plantes. Celles-ci ont pu marquer leur rôle important dans le développement social, et ce par l'augmentation de la rentabilité économique et la réduction de la pauvreté grâce à leur utilisation à la fois vaste et diversifiée (**Farnsworth et al., 1986**).

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires, ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires (**Jeun et al., 2005**). Parmi ces composés on retrouve : les substances phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes, les tannins, les flavonoïdes et les terpènes. Les polyphénols en particulier, sont largement utilisés en thérapeutique comme anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, et antibactérienne (**Marc et al., 2001**). De plus, ils sont utilisés par la plante pour se défendre contre les attaques des prédateurs tels que les insectes, les champignons et les mammifères herbivores (**Behrooz et al., 2013 ; Ibrahim et al., 2016**). Pour cette raison, environ 80% de la population utilisent les plantes médicinales pour traiter la majorité des maladies (**Agisho et al., 2014**), et au moins 25% des médicaments modernes contiennent un ou plusieurs principes actifs d'origine végétale (**Benarba et al., 2015**).

Les plantes aromatiques sont prometteuses et constituent une grande source d'antibactériens naturels pour l'industrie agroalimentaire. Les propriétés antibactériennes des plantes représentent une alternative pour pallier les problèmes récurrents d'antibiorésistance, face aux maladies infectieuses émergentes. Une des stratégies modernes, consiste à explorer l'effet antibactérien des plantes utilisées en médecine traditionnelle.

L'Algérie, par sa position biogéographique, et grâce à ses différentes zones bioclimatiques (humide, subhumide, semi-aride, aride ou désertique), offre une très grande diversité de végétaux (plus de 3000 espèces et 1000 genres) avec un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales spontanées et cultivées (**Reguig, 2011**). Cette richesse et cette originalité font que l'étude de la flore algérienne présente un intérêt fondamental pour la connaissance et le savoir-faire dans le domaine de l'ethnobotanique, de la

Introduction

pharmacopée traditionnelle mais également un intérêt scientifique appliqué dans le domaine de valorisation des ressources naturelles algériennes (**Amezouar et al., 2013**).

Parmi les familles qui appartiennent à cette catégorie des plantes aromatiques et médicinales, la famille de Lamiacée représente une source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant, il contient plusieurs genres, parmi elles l'Ocimum. L'*Ocimum basilicum L* classé parmi les plantes les plus utilisées en Algérie (**Reguig, 2011**), il est utilisé dans la médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs maladies (crampes d'estomac, de diarrhées, d'angines, etc...) mais également dans l'industrie des arômes alimentaires (**Ngom et al., 2014**).

L'objectif de notre travail est l'étude phytochimique des fractions de partie aérienne d'*Ocimum basilicum L* et l'évaluation de l'activité antibactérienne de cette plante.

Ce travail est subdivisé en deux parties :

➤ **Partie 01 : la synthèse bibliographique, renferme trois chapitres :**

- Le premier chapitre donne des généralités sur la plante «*Ocimum basilicum L*».
- Le deuxième chapitre consiste à un profil sur les métabolites secondaires.
- Le troisième chapitre concerne l'activité antibactérienne.

➤ **Partie 02 : l'étude expérimentale, contient deux chapitres :**

- Le premier chapitre : présente l'ensemble de matériel utilisé dans cette étude ainsi que les différentes méthodes suivies lors de l'expérimentation (tests phytochimique, analyse par CCM, extraction et dosage des phénols totaux et des flavonoïdes et enfin évaluation de l'activité antibactérienne).
- Le deuxième chapitre englobe les différents résultats obtenus ainsi que leur discussion.
- Enfin on terminera ce travail par une conclusion générale et perspective.

Première partie :
Synthèse bibliographique





Chapitre I:

Généralités sur l'Ocimum basilicum L

I. Généralités sur l'*ocimum basilicum* L

I.1. La famille de Lamiacées

La région méditerranéenne est le centre principal pour domestication et culture de Lamiacée ou Lamiaceae. La famille des Lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal, comporte environ 258 genres pour 6970 espèces (Naghbi *et al.*, 2005).

L'ancien nom des Lamiaceae est Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles (Dupont et Guignard, 2012).

Les lamiacées sont des herbacées ayant la consistance et la couleur de l'herbe, parfois sous- arbrisseaux ou ligneuses (Botineau, 2010), à tige quadrangulaire et à inflorescences verticillées. Les feuilles sont généralement opposées ou verticillées, simples ou très rarement pennatiséquées. Les fleurs sont bisexuées et zygomorphe.

Lamiacées peuvent être également, mais plus rarement, des arbrisseaux de petite taille. C'est une famille exceptionnellement homogène, et très facile à reconnaître (Guignard et Dupont, 2004).

Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en l'huile essentielle et possèdent un intérêt économique et médicinal. Elle est divisée en deux principales sous - familles : les Stachyoideae et les Ocimoideae (Botineau, 2010).

Un très grand nombre des genres de la famille des Lamiaceae sont des sources riches en terpénoïdes, flavonoïdes et iridiodes, glycosylés et composés phénoliques (Lee *et al.*, 2005).

En Algérie, cette Famille comprend 29 genres et 140 espèces se développant aussi bien dans les zones méditerranéennes que sahariennes (Naghbi *et al.*, 2005).

I.2. Genre *Ocimum*

Le genre *Ocimum* originaire d'Asie méridionale, d'Iran et du Moyen- Orient ; compte une centaine d'espèces (Ouibrahim, 2015). C'est un groupe important de plantes herbacées ou buissonnantes, annuelles ou vivaces, Il représente une importante source d'huile essentielle utilisée en industries : alimentaire, pesticides et parfumerie cosmétique.

Des *Ocimum* sp. sont également utilisés en médecine traditionnelle pour différentes applications dans beaucoup de pays africains et asiatiques (**Dabire et al., 2011**).

I.2.1. Classification de genre *Ocimum*

Selon (**Sajjadi, 2006**), Le genre *Ocimum* considéré comme l'un des plus grands genres de la famille des Lamiaceae compte plus de 150 espèces de plantes herbacées annuelles, parmi lesquelles ;

- le basilic sacré (*Ocimum sanctum* L).
- le basilic citron (*Ocimum canum* L).
- le basilic de Ceylan (*Ocimum gratissimum*).
- le plus connu est le basilic commun (*Ocimum basilicum* L).

I.3. L'*Ocimum basilicum* L

1.3.1. Historique

L'histoire de l'utilisation du basilic comme médicament remonte à l'époque de Dioscoride (entre 25 et 90 après J.C.), qui le mentionne dans l'un des premiers ouvrages sur les plantes médicinales, de *Materia Medica*, comme un antidote puissant contre les piqûres de scorpion. Plusieurs croyances intéressantes sont attribuées à l'utilisation historique du basilic. Les Européens considéraient qu'il était funèbre et que rêver de lui portait malheur, alors qu'en Italie, les femmes le portent dans les cheveux et les jeunes en collent une branche au-dessus de l'oreille lorsqu'ils vont faire la cour. En Inde, les Hindous croyaient qu'une feuille de basilic enterrée avec eux leur servirait de passeport pour le paradis. Au début du XVIIe siècle, les Anglais l'utilisaient dans leur nourriture et sur les portes pour éloigner les parasites indésirables, comme les mouches, ainsi que les mauvais esprits (**Alia et al., 2012**). Il est aussi réfère comme sacre dans l'Inde, car il est utilisé pour désinfecter la maison contaminée par Paludisme lequel tue les moustiques (**Karthika et al., 2017**).

I.3.2. Présentation

D'après (**Li Qing et al., 2016**), le nom de basilic est dérivé du mot grec, basileus, qui signifie «royal» en raison du parfum royal de cette herbe.

Le basilic (également connu sous le nom de basilic doux) est une herbe aromatique, épicée annuelle (**Ali-Dalille, 2010**).

Les *Ocimum basilicum L* sont des plantes à croissance rapide. Dans la littérature, des propriétés biologiques intéressantes ont été décrites pour cette espèce. En effet, l'huile essentielle a des propriétés insecticides, antioxydants, antibactériennes, antifongiques (Opalchenova et Obreshkova, 2003).



Figure 01: *Ocimum basilicum L*.

1.3.3. Position systématique

Le tableau suivant représente la classification taxonomique de cette plante (*O.basilicum L*).

Tableau I : Position systématique d'*Ocimum basilicum L* (Sullivan, 2009).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphyte (phanérogame)
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales (dicotylédones gamopétales)
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Ocimum</i>
Espèce	<i>Ocimum bacilicum L</i>

1.3.4. Nomenclature

Le basilic possède plusieurs noms et synonymes sont attribués dans la littérature :

- **Nom scientifique :** *Ocimum basilicum L*.

- **Synonymes:** *Ocimum basilicum* var. *glabratum* Benth, *majus* Benth.
- **Noms vernaculaires :** Lahbeq, habeq, hamahim, hebeq el aïlaa (Aït-Youcef, 2006).
- **Autres noms :** Basilic, basilic commun, basilic officinal, basilic des jardins, boranger des savetiers herbe royale, basilic romain, grand basilic (Delille, 2007), herbe aux sauces, pistou ou pesto son équivalent italien (Chalchat et al., 2008).

I.3.5. Répartition géographique

Le basilic est une plante originaire d'Inde et d'Asie tropicale et pousse maintenant à l'état sauvage dans les régions tropicales et subtropicales ; et trouvé en Afrique et Amérique du Sud (Khan et al., 2015). Il est cultivé commercialement dans de nombreux pays chauds (en climat méditerranéen) et tempérés du monde entier, y compris la France, la Hongrie, la Grèce et d'autres pays d'Europe du Sud, l'Égypte, le Maroc et l'Indonésie. Il est également cultivé dans plusieurs États américains, notamment en Arizona, au Nouveau-Mexique et en Caroline du Nord, ainsi qu'en Californie (Pushpangadan et George, 2012).

L'extraction de son HE s'effectue dans la plupart des régions tempérées chaudes du monde comme par exemple en Inde, en Bulgarie, au Pakistan (Hiltunen et Holm, 1999). Et les pays du Maghreb, en particulier en Algérie, au Maroc, en Tunisie et en Egypte (Figure 02).



Figure 02 : Répartition géographique du basilic (Pushpangadan et George, 2012).

I.3.6. Description botanique

❖ Appareil végétatif

- **La tige** : est quadrangulaire, pouvant atteindre jusqu'à 50 à 60 cm d'hauteur.



Figure 03 : Présentation d'*Ocimum basilicum* L (Pousset, 2004).

Les feuilles : sont nombreuses, opposées pétiolées de forme ovale, lancéolée et ailées. Elles sont longues de 2 à 5 cm, entières ou dentées et ciliées sur les bords, de couleur verte pale a verte foncée (Aït-Youcef, 2006).



Figure 04 : Présentation morphologique des feuilles de basilic (Khamouli et Grazza, 2007).

- **Le système racinaire** : est du type pivotant (Arabici et Bayram, 2004).

❖ Appareil reproducteur

- **Les fruits** : sont des tétrakènes renfermant chacun une seule graine marron-noire oblongue (Ouibrahim, 2015) .
- **Les graines** : petites (fines), oblongues et marron foncé, la durée de germinative de cette graine est de huit ans (Riaz, 1999).



Figure 05: Les graines d'*O. basilicum* L (Li Quing, 2016).

- **L'inflorescence** : est en long épis de fleurs groupées en glomérules.
- **Les fleurs** : sont petites et regroupées en épis à l'extrémité des rameaux en verticilles très le long de l'axe. . Elles sont de couleur crème, blanche, rose ou violacée selon la variété.

Chaque verticille, comprend 4 à 6 fleurs portées par de court pédoncules et 1 ou 2 bractées. L'ensemble a l'allure d'un épi qui peut atteindre 10 à 15 cm de long. Ses fleurs, assez petites, sont très irrégulières. Elles comprennent :

- Le calice composé de cinq (05) pétales soudés (d'où le terme gamopétale) : un grand sépale supérieur et 4 petites dents pointues en-dessous.
- La corolle est constituée d'un tube qui se divise vers le haut en deux lèvres distinctes, d'où le nom de Labiée donné à la famille : une inférieure entière est formée d'un seul concave, et une supérieure organisée autour de quatre (04) dents régulières.
- L'androcée est à quatre étamines à long filet attachées à la partie inférieure de la corolle.
- Le gynécée ressemble à quatre petits mamelons au milieu de la fleur, ce sont les 4 loges de l'ovaire, entre ces loges part un long style qui porte un stigmate fourchu (**Arabici et Bayram, 2004**).

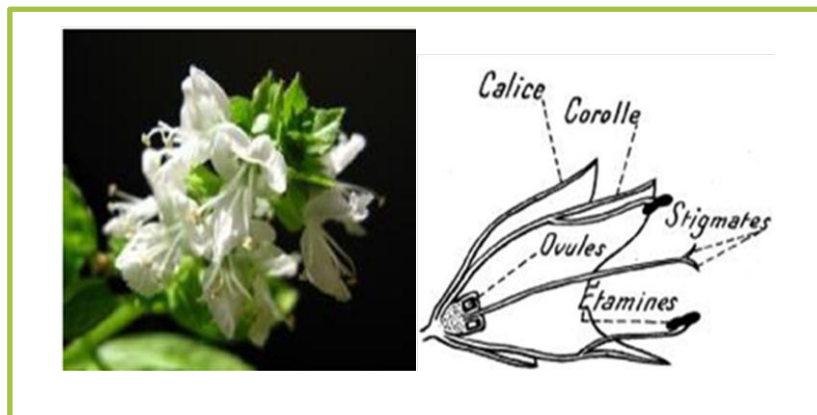


Figure 06 : Les fleurs d'*O.basilicum* L (Surville, 1959).

I.3.7. Variété

Les différentes variétés de basilic se distinguent par leur couleur, leur forme, leur taille et leur parfum. Selon (MacKee, 1994), les plus cultivées sont :

Ocimum basilicum var. *album*.

Ocimum basilicum var. *anisatum*.

Ocimum basilicum var. *densiflorum*.

Ocimum basilicum var. *difforme*.

Ocimum basilicum var. *glabratum*.

Ocimum basilicum var. *majus*.

Ocimum basilicum var. *minimum*.

Ocimum basilicum var. *pilosum*.

Ocimum basilicum var. *purpurascens*.

Ocimum basilicum var. *thyrsiflorum*.

I.3.8. Composition chimique

Les graines de basilic contiennent des polysaccharides, du mucilage et de l'huile fixe qui se compose de l'acide linoléique (50%), acide linoléique (22%), acide oléique (15%), ainsi que 8 % d'acides gras insaturés (Malik et al., 1989). Les feuilles de basilic contiennent également environ 5% de tanins, l'acide oléanolique (0,17%) et d'une petite quantité d'acide ursolique, protéines (14%), de glucides (61%), ainsi et des concentrations relativement élevées de vitamine (A, B1, B2, C et E) et l'acide rosmarinique.

L'*O.basilicum* L contient les huiles essentielles à des compositions différentes selon le chémotype, l'origine et la période de récolte. Ainsi on pourrait retrouver dans les huiles essentielles des HES à 1,8 cinéole, linalool, eugénol, méthyl chavicol et estragol (Ouibrahim, 2015) et des métabolites secondaires en particulier principalement des monoterpènes, des sesquiterpènes, des phénylpropanoïdes, des alcools, aldéhydes, cétones, esters et divers composés (Boggia, 2015). En outre, elles renferment des flavonoïdes (0,6 à 1,1%) dont flavonoïdes aglycones tels que quercétine et kaempférol, qui considéré comme un antioxydant (Kwee et Niemeyer, 2011).

I.3.9. Culture

Le basilic étant une plante cultivée dans les pays tempérés. Sa culture exige un climat chaud et ensoleillé, un sol irrigable, riche en matières organiques, son multiplication se fait par semis au printemps, vers Mars-Avril. En climat tempéré, il faut le faire en serre ou dans des pots maintenus à une température de l'ordre de 20°C. La germination se produit au bout de 4 à 7 jours. Le repiquage en pleine terre peut se faire lorsque le sol est suffisamment réchauffé. Le basilic a besoin d'un pH de 5 à 8 et d'une température plus de 15°C et une exposition abritée et cinq heures d'ensoleillement quotidien (**Schauenberge, 2006 ; Bezanger *et al.*, 1990**).

I.3.10. Récolte

Pour l'herbe culinaire en frais, avant épanouissement des fleurs, la récolte est entre le mois de Juillet et Septembre ; pour la première coupe, la barre est placée à 15 cm au-dessus du sol car la plante remonte sur les bourgeons de bas de tige. Pour l'huile essentielle et l'herboristerie ; la récolte est en pleine floraison (**Hubert, 2007**).

I.3.11. Séchage et conservation

Le séchage doit être aussi vite que possible à une température de 30 - 35°C. Il se conserve frais en pot ou séché à l'ombre, à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la poussière.

I.3.12. Ravageurs

Les cultures de basilic sont est sensible à divers agents pathogènes (**Garibaldi *et al.*, 1997**). Parmi les maladies les plus importantes sont la fusariose causée par *Fusarium oxysporum* ; la moisissure grise causée par *Botrytis cinerea*; la moisissure blanche causée par *Sclerotinia sclerotiorum* (**Elad *et al.*, 2015**); et ces dernières années *Peronospora belbahrii*, l'agent causal du mildiou.

Lors de la préparation de la pépinière, la fonte des semis peut également se produire et endommager le plant ; elle est causée par *Pythium insidiosum*.

Un autre ravageur qui affecte les cultures de basilic est l'aile de dentelle causée par *Cochlochi labullita*. Les feuilles se recourbent d'abord, puis la plante entière se dessèche.

Le basilic est sensible à l'oïdium (*Oidium spp.*), À la brûlure des semis (*Rhizoctonia solani*) et à la pourriture des racines (*Rhizoctonia bataticola*) (Shasany et Kole, 2018).

1.3.13. L'utilisation traditionnel

L'*Ocimum basilicum L* est utilisé comme ingrédient alimentaire, remède, ingrédient cosmétique et à des fins ornementales. Il est considéré comme l'un des herbes les plus connus et les plus utilisés dans le monde culinaire, il est populaire dans la cuisine d'une grande variété d'aliments dans de nombreux types de cuisines (Boggia, 2015), pour sa suave odeur et sa saveur très agréable et ment bolée (Ekren et al., 2012).

La plante est employée en usage externe pour traiter les lésions cutanées allergiques comme l'urticaire, les brûlures par l'ortie ou les piqûres d'insectes. C'est un antiallergique et, en même temps, elle agit contre la douleur localement, son effet est soit analgésique soit anti inflammatoire.

Les feuilles et les fleurs de l'*O.basilicum L* sont utilisées dans la médecine populaire comme tonique et vermifuge, en outre, elle est prise en tisane contre les nausées, les flatulences, et la dysenterie.

C'est une plante médicinale utilisée généralement pour le traitement des crampes d'estomac, les diarrhées, la constipation, les angines, la toux, le dysfonctionnement du rein, la bronchite, les affections pulmonaires, les rhumatismes, l'inflammation, les maux de tête, l'hypertension et comme contraceptif. Les huiles de cette plante est bénéfique pour le soulagement des spasmes rhinite, la fatigue mentale, ainsi, comme un traitement de premiers soins pour les piqûres de guêpes et morsures de serpent. L'huile essentielle de basilic est connue aussi par son activité antimicrobienne, antioxydante, antifongique, insecticide et antiviral (Vlase et al., 2014).

1.3.14. Propriétés biologiques

➤ Activité antioxydant

L'extrait éthanolique du basilic ayant une conséquence protectrice contre les dommages oxydatifs de l'ADN et la mutagenèse, avec un résultat décroissant dans la synthèse du cholestérol et l'accumulation des lipides dans macrophages humains.

Les extraits aqueux et éthanolique de basilic étaient capables d'augmenter le taux d'alcoolémie, et la O-6-méthylguanine-ADN-méthyltransférase (MGMT), responsable des effets antioxydants dans les cellules humains, et augmente aussi la glutathion S-transférase-P1 dans une moindre mesure (Niture et al., 2006).

L'activité antioxydant a été également expliquée par le niveau de teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes dans l'extrait (Dasgupta et al., 2004).

➤ **Activité antibactérienne**

Des études montrent que le basilic inhibe la croissance de différentes souches bactériennes à savoir : *Bacillus cereus*, *B. megaterium*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella boydii*, *S. dysenteriae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. mimicus*, et *Salmonella typhi* (Hossain et al., 2010).

Les huiles essentielles et le linalol, le composant le plus abondant, ont présenté une activité antibactérienne contre des souches bactériennes souches bactériennes : *S. aureus*, *E. coli*, *Mucor mucedo*, *Fusarium solani*, *Botryodiplodia theobromae*, *B. subtilis*, *Pasteurella multocida* (Hussain et al., 2008).

➤ **Activité anticancéreuse**

D'après l'étude de « Marwat et al., 2011 » conclu que l'huile d'*O.basilicum L* possède une activité antiprolifératif le plus élevé dans la lignée cellulaire carcinome épidermique de la bouche humaine (KB) et murin lignées cellulaires de leucémie (P388).

Dans une autre étude « Kathirvel et Ravi, 2012 » indique que l'huile essentielle basilic ayant un effet anticancéreuse du col de l'utérus (HeLa), du carcinome épithélial du larynx (HEp-2) et la lignée cellulaire de fibrose embryonnaire de souris NIH 3T3 sont étudiées en utilisant une méthode de méthyl thiazol tétrazolium.

➤ **Activité antiviral**

Selon l'étude de « Chiang et al., 2005 », l'extrait aqueux et éthanoliques bruts d'*O. basilicum L* et sa sélection purifiée composants, à savoir linalol, apigénine et acide ursolique, présentait un large spectre de activité antivirale. En particulier contre virus *Coxsackie virus B1*, *entérovirus 7132*, virus de l'herpès-1, *entérovirus71*, *adénovirus-8*,

AVD-II, activité accrue contre *HSV-2*, *ADV-3*, antigène de surface de l'hépatite B et hépatite B antigène.

Les extraits aqueux de cette plantes joue un rôle dans l'inhibition de la formation des cellules géantes en culture avec infection par le *VIH*, ainsi que la transcriptase inverse de *VIH1*.

➤ **Activité anti-inflammatoire**

D'après l'étude de «**Benedec et al., 2007**» sur les effets de la teinture d'*Ocimum basilicum L* dans l'inflammation aiguë induite par l'huile de térébenthine (IM 0,6 ml/100 mg) chez des rats mâles Wistar. Comparée au diclofénac, la teinture d'*O basilicum L* a des effets anti-inflammatoires importants sur la réponse de phase aiguë de la moelle osseuse et un effet réduit sur la synthèse de NO. Et selon «**Chinnasamy et al., 2007**» Les résultats montrent que l'extrait méthanolique brut d'*Ocimum basilicum L* inhibe les cytokines et médiateurs pro-inflammatoires clés, ce qui explique ses effets anti-inflammatoires.



Chapitre II:
Métabolites secondaires

II.1. Généralités

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à fournir les métabolites primaires (acide nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent un assortiment vaste et diversifié de composés organiques, dont la grande majorité ne semble pas participer directement à la croissance et le développement, ces substances appelées métabolites secondaires (**Croteau et al., 2000**).

Le terme « métabolites secondaires » qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en **1891**, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes. Ils sont des dérivées de métabolisme primaire avec des structures chimiques souvent complexe (**Donatien, 2009**). Ils sont répartis différemment dans le règne végétal avec des niveaux d'accumulation qualitative et quantitative variables. Ces molécules sont synthétisées en faible quantité avec une variabilité structurale extraordinaire dont plus de 200000 structures ont été définies, cette diversité résulte des réactions chimiques post biosynthèse (hydroxylation, glycosylation, carboxylation, condensation) (**Hartmann, 2007**).

Les métabolites secondaires sont importants pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent. Beaucoup fonctionnent comme signaux chimiques permettant à la plante de répondre aux contraintes de l'environnement. D'autres interviennent pour défendre leur producteur contre les herbivores, les pathogènes (organismes responsables de maladies) ou les compétiteurs. Certains assurent une protection contre les radiations solaires et d'autres encore facilitent la dispersion du pollen et des graines (**Raven et al., 2014**).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils ont un intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires (**Bruneton, 1999**).

II.2. Définition

Le terme métabolites secondaires est défini comme des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées par les plantes autotrophes, ainsi possèdent un rôle

important dans les interactions de la plante avec son environnement. Ces métabolites secondaires sont résultent généralement de trois voies de biosynthèse : la voie de shikimate, la voie de mévalonate et du pyruvate. Ils sont localises au niveau des différentes parties de la plante (racines, tige, feuilles...) (**Basli et al., 2012**).

II.3. Classification

D'après leur biosynthèse, les métabolites secondaires chez les végétaux peuvent être divisés en trois grandes catégories (**Vermerris et Nicholson, 2008 ; Bruneton, 2009**) :

- les composés phénoliques.
- les terpènes.
- les alcaloïdes.

II.3.1. Les composés phénoliques

II.3.1.1. Définition

Les composés phénoliques, communément appelés polyphénols, sont un groupe important de métabolites secondaires largement distribués dans les plantes. (**López et García, 2017**), avec plus de 8000 structures connus. Ils sont naturellement présents dans l'alimentation sous formes de vitamines A, C ou E, les carotènes (**Uthurry et al., 2011**). Ils sont présentes dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits, pollens, graines et bois) selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considérés (**Dangles et al., 1992 ; Hagerman et al., 1998**).

II.3.1.2. Structure

Les composés phénoliques sont caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique (aromatiques) au quelle est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside.

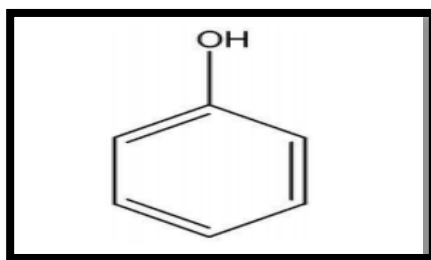

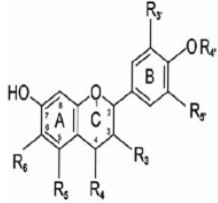
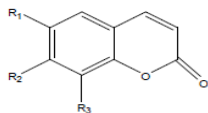
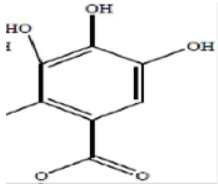
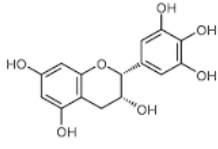


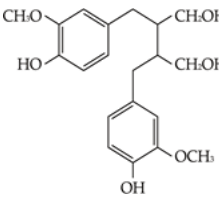
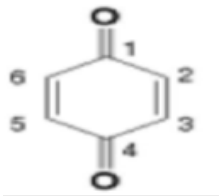
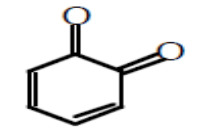
Figure 07 : le noyau phénols.

II.3.1.3. Classification

Les composés phénoliques peuvent-être répartis selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base. Les principales classes des polyphénols sont : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les coumarines, les quinones, les lignanes et les tanins (tanins hydrolysables et condensés) (Bruneton, 2009 ; Kabera et al., 2014).

Tableau II : Les principales classes des composés phénoliques.

Composée phénoliques	Nombre de carbone	Squelette	Structure de base	Exemple	Référence
Phénols simple	6	C6		Acide gallique Acide caféique	(Crozier et al., 2006 ; Bruneton, 1999 ; Henedelle, 2006)
Flavonoïdes	15	C6-C3-C6		Kaempférol	(Crozier et al., 2006 ; Lovegrove et al., 2017).
Coumarines	9	C6-C3		Esculitine Omblliférone	(Crozier et al., 2006)
Tanins hydrolysables	6	(C6-C1)2		Ellagotannin	(Cowan, 1999).
Tanins condensés	N	(C6-C3-C6)n		Procyanidine	

Lignanes	18	(C6- C3)2		Entérodiol Pinorésinol	(Crozier et al., 2006).
Quinones	6	C6	 Para- benzoquinone	hydroquinone ubiquinone	(Bruneton, 2009).
			 Ortho- benzoquinone	Catéchol	

II.3.1.4 .Biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques, celle de l'acide shikimique (shikimate) et celle issue de l'acétate :

➤ Voie de l'acide shikimique

Conduit à la formation des oses aux aminoacides aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis, par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines (Bruneton, 2009).

➤ Voie de l'acétate / malonate

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation des acides phénols et d'autres composés phénoliques tels que (chromones, isocoumarines, orcinols, depsides, xanthones, quinones) à partir de cyclisation (réaction de Claisen ou condensation aldolique) répétée d'unités acétate. (Bruneton, 2009 ; Guignard, 2000).

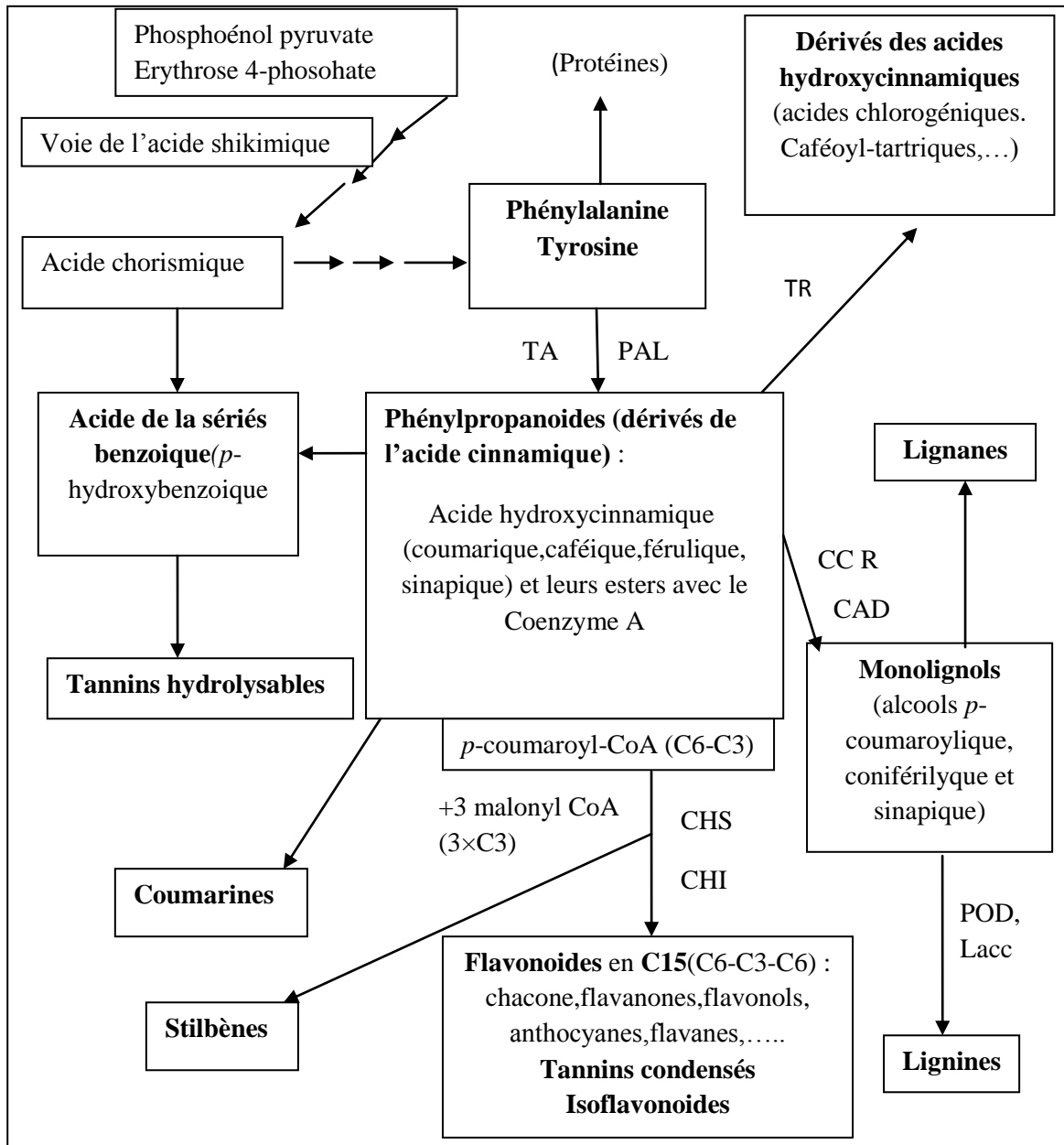


Figure 08 : La voie de biosynthèse des polyphénols végétaux (Macheix et al., 2005).

II.3.1.5. Rôle et intérêt des composés phénoliques

Les polyphénols ont des multiples rôles essentiels dans la physiologie végétale et ont des propriétés sur l'organisme humain.

➤ Chez les végétaux

Les composés phénoliques possèdent nombreuses fonctions :

- Les polyphénols ont un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance.
- Ils impliquent dans les mécanismes de défenses élaborés par les végétaux contre la prédation par des insectes, des herbivores et contre les infections et les agressions microbiennes multiples (**Uccella, 2001**).
- Ils interviennent dans la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits.
- Ils assurent la communication entre cellules, entre végétaux, entre végétaux et animaux (**Robert et Catesson, 2000**).
- Ils représentent un système de défense contre le rayonnement ultraviolet ou l'agression dans les aliments, ils peuvent contribuer à amertume, astringence, couleur, saveur, odeur et stabilité oxydative (**Makoi et Ndakidemi, 2007**).
- Ils interviennent dans la fertilité des plantes et la germination du pollen (**Stalikas, 2007**).
- Ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines. De ce fait, ils jouent un rôle important dans la pollinisation entomophile et la dispersion des graines.

➤ **Chez les humains**

- Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives, ils sont largement utilisés en thérapeutique comme antioxydants (**Dif et al., 2015**), antiallergiques, anti-inflammatoires, agents anticancéreux et antimicrobiens (**Daglia, 2012**), anti athérogénique, antithrombotique, anticarcinogènes, antiathérogènes (**Papar et al., 2007**), antiulcéreuse (**Martin et al., 2002**), vasodilatateurs (**Falleh et al., 2008**) et inhibiteurs (**Hodgson, 2010**) enzymatiques .
- L'activité antioxydant des polyphénols est reconnue et pourrait expliquer leur rôle potentiel dans la prévention de plusieurs maladies associées au stress oxydatif, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (**Sun et al., 2011**).
- Les travaux de « **Manachet et al., 2005** » ont montré que les polyphénols inhibent l'agrégation plaquettaire impliqué dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères.
- Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additif, colorant, arôme ou agent de conservation (**Bruneton, 1999**).

Les exemples de quelques composés phénoliques et de leurs activités biologiques sont récapitulés dans le **tableau III**.

Tableau III : les exemples de quelques composés phénoliques et leurs activités biologiques.

Polyphénols	Principales activités	Références
Acide phénolique	Antibactériennes, Antifongiques Antioxydants Antipyrétiques et anti-inflammatoires Antiulcéreuse	(Hennedelle et al., 2004). (De Barros et al., 2008).
Flavonoïdes	Antiviral, Antioxydants. Anti carcinogènes, Antiinflammatoires, antiallergique, antimicrobienne, antiulcéreuse, hypotenseur, diurétique.	(Choi et al., 2006).
Coumarines	Anti cancérigène, Antiinflammatoire Antioxydants, Antiparasitaire Antivirales, vasodilatatrices, Anticoagulantes.	(Ito et al., 2005) (Iranshahi et al., 2007).
Tanins	Antiparasitaire, Antioxydant, Antifongique, Antitumorale, Antivirale Antibactérien	(Kubata et al., 2005). (Lamy et al., 2011).
Lignanes	Vasodilatatoire, Antiinflammatoire Analgésique, Antiparasitaire	(Küpeli et al., 2003) (Barata et al., 2000).
Quinones	Antidépessives, anti-protozoaires, antivirales, Antibactériennes, Antifongiques et Antiallergiques.	(Bruneton, 1999 ; Hennedelle et al., 2004).

II.3.2. Terpénoïdes

II.3.2.1. Définition

Sont des produits naturelles appelés aussi terpènes, découle du fait que les premiers membres de la classe ont été isolés à partir de la térébenthine ("terpentin" en allemand) **(Bekkali et al., 2008)**.

Les terpénoïdes constituent un vaste groupe des métabolites secondaires, avec plus de 22000 composés décrits (Raven et al., 2014). Ils regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles. Ces constituants proviennent de l'isoprène de formule générale $(C_5H_8)_n$. La très grande majorité des terpènes sont spécifiques du règne végétal plus répandus dans les fruits, légumes et fleurs (Dudareva et al., 2005), mais on peut en rencontrer chez les animaux, les organismes marins. Ils constituent une ligne de recherche énorme du point de vue médical, chimique et génétique, Qui possède des structures, des propriétés physiques et chimiques et activités biologiques très diverses (Bruneton, 1999).

II.3.2.2. Structure

Les terpènes sont des produits hydrocarbonés naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte, ils sont formés de la condensation «tête à queue» d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du 2-méthyle butadiène, appelées unités isopréniques de formule brute $(C_5H_8)_n$ (Bottine, 2011).

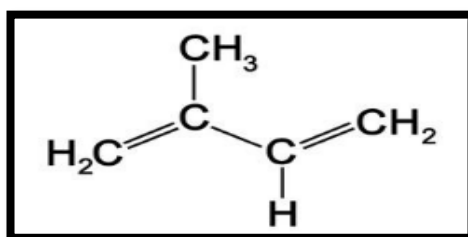


Figure 09 : Structure de la molécule d'isoprène.

II.3.2.3. Classification

Les terpénoïdes sont classées selon le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène, en distingue : monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), triterpènes (C_{30}), tétraterpènes (C_{40}) et polycycliques $(C_{10})_n$.

Les principales classes, configuration et quelques exemples des terpénoïdes sont résumés dans le **tableau IV**.

Tableau IV: Les principales classes configuration et quelques exemples des terpénoïdes (Guentri-ayari, 2019).

Terpènes	Unités isoprènes	Formule brute	Configuration	Exemple
Monoterpènes	2	C ₁₀ H ₁₆	Acyclique	Géraniol
			Monocyclique	Limonène, Menthol
			Bicyclique	Fenchol-3-Carène
Sesquiterpènes	3	C ₁₅ H ₂₄	Acyclique	Farnésène,
			Monocyclique	Zingibérène, Periplanone
			Bi cyclique	α-Cadinène
			Polycyclique	α-Copaène
Diterpènes	4	C ₂₀ H ₃₅	Acyclique	Phytol
			Monocyclique	Rétinol (vitamine A)
			Bicyclique	Labdane
			Polycyclique	Paclitaxel(Taxol)
Triterpènes	6	C ₃₀ H ₄₈	Acyclique	Squalène
			Titracyclique	Lanostérol
			Pentacyclique	Hopane
Tétraterpènes	8	C ₄₀ H ₆₄	Acyclique	Lycopène
			Bicyclique	β-Carotène, Lutéine
Polyterpènes	N	(C ₅ H ₈) _n	<i>Cis</i> -polyisoprène	Caoutchouc naturel
			<i>Trans</i> polyisoprène	Gutta-percha (gommes)

II.3.2.4. Biosynthèse

La biosynthèse des terpénoïdes se fait par deux voies principales qui sont :

➤ La voie de l'acide mévalonique

C'est la voie la plus connue, elle prend son origine au niveau de l'acétyl coenzyme A (CH₃COSCoA).

- La condensation de trois unités d'acétyl CoA conduit à la formation d'un composé en C₆ (le mévalonate) qui permettant d'aboutir aux deux intermédiaires en C₅ bio-précurseurs des terpènes (pyrophosphate d'isopentén-3yle (PPI₃) et pyrophosphate de di-méthyl allyle (PPI₂)).
- Les deux intermédiaires en C₅ réagissent entre eux pour conduire au pyrophosphate de géranyle (PPG) point de départ de tous les monoterpénoïdes.
- La condensation de PPI₃ sur pyrophosphate de géranyle donne le pyrophosphate de farnésyle, précurseur de tous les sesquiterpènes. Selon ce processus, les diterpènes, triterpènes et tétraterpènes sont obtenus. Cette voie se fait dans le cytosol et le réticulum endoplasmique (Sharkey, 1991).

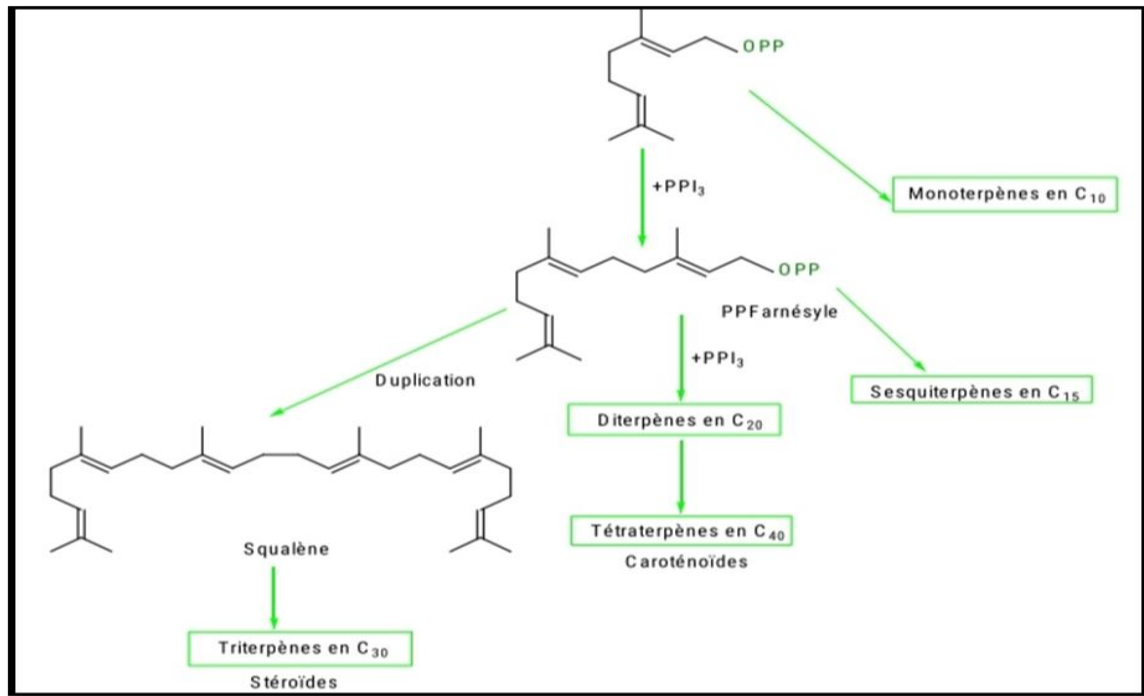


Figure 10 : La biosynthèse des terpènes par la voie de l'acide mévalonique.

➤ La voie du méthylérythritol phosphate (non mévalonique)

Spécifique aux végétaux et se fait au niveau des plastes. Elle commence par la condensation d'une unité pyruvate (C₃) avec une unité de glycéraldéhyde3-phosphate (C₃) et conduit au *méthylérythritol phosphate*, un composé intermédiaire en C₅. Plusieurs étapes enzymatiques conduisent ensuite à la synthèse de **PPI₃**.

Cette voie conduit à la biosynthèse de la majeure partie des terpènes.

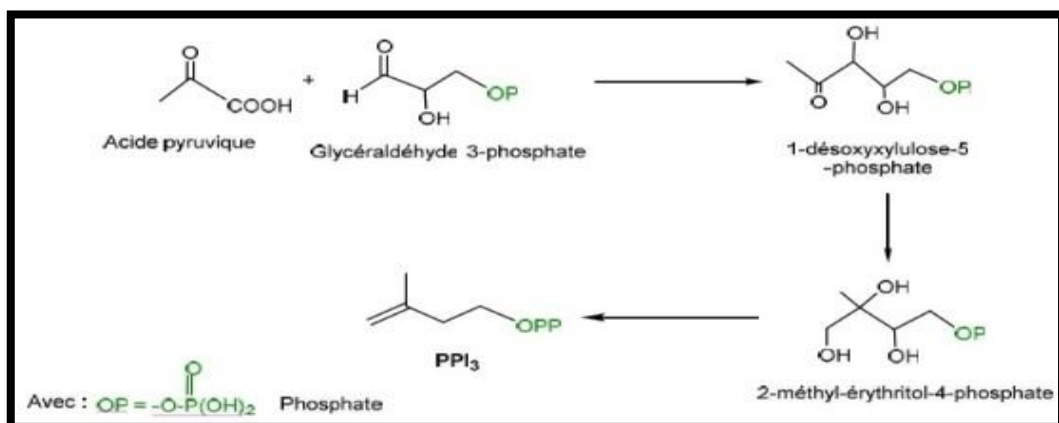


Figure 11 : La biosynthèse des terpènes par la voie du méthylérythritol phosphate.

II.3.2.5. Propriétés biologiques de terpènes

Les terpènes ont une large utilisation dans le domaine thérapeutique comme antiviraux, antimicrobienne, anti-inflammatoire, anticancéreux, antiseptique (**Klaas et al., 2002**), anesthésique, antihistaminique, antirhumatismal, diurétique, insecticide, analgésique antibiotique. De plus, ils sont utilisés dans le domaine industriel des épices (**Kabera et al., 2014**).

Ces molécules peuvent être sous forme d'huiles essentielles qui se comporte en parfums et contribue dans le goût des aliments, des pigments (carotène), des hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) (**Hopkins, 2003**), transporteurs d'électrons (l'ubiquinone, la plastoquinone) (**Raven et al., 2014**).

II.3.3. Les alcaloïdes

II.3.3.1. Définition

Les alcaloïdes sont une des classes des métabolites secondaires les plus importants qui trouve chez les végétaux, les animaux et certains microorganismes. Le terme alcaloïdes ou « alkaly-like » (al kaly = la soude ; like = qui a l'apparence) a été proposé pour la première fois par le pharmacien **Meissner** en 1818 (**Hesse, 2002**).

Les alcaloïdes sont des molécules organiques, hétérocycliques, azotées, complexes, d'origine naturelle à caractère basique, de propriétés pharmacologiques marquées, généralement leur précurseurs sont des acides aminés (alcaloïdes vrais), ou des terpènes (alcaloïdes terpéniques ou proto-alcaloïdes). Ils représentent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales (**Omulokoli et al., 2000**).

Les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles. Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3 % du poids sec de la drogue (**Roux et Catier, 2007**). Ils existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins. Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques (**Ziegler et Facchini, 2008**).

II.3.3.2. Classification

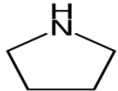
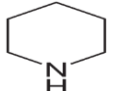
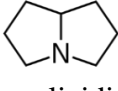
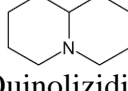
La classification des alcaloïdes a été rapportée par **Bennett** et **Wallsgrave** en 1994 où les alcaloïdes ont été divisés en fonction de l'origine biosynthétique et la structure moléculaire. On distingue :

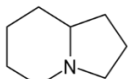

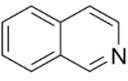
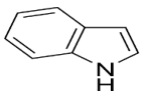
✓ Selon l'origine biosynthétique

- **Alcaloïdes vrais** : dérivent d'acides aminés, leur atome d'azote est inclus dans le système hétérocyclique, exemple : la strychnine dérivée du tryptophane.
- **Pseudo-alcaloïdes** : présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés, exemple : la caféine.
- **Proto-alcaloïdes** : sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique, ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acides aminés. Ils sont souvent appelés «amines biologiques» et sont solubles dans l'eau, exemple : Bétanine, Mescaline.

✓ Selon la structure moléculaire

Tableau V : Les principaux cycles azotés et quelques exemples des alcaloïdes.

Nombre des cycles	Nome des cycles	Exemple
1 seul cycle contenant l'atome d'azote	 Pyrrolidine	Hygrine
	 Pipéridine	Isopelletierine SolénopsineA
2 cycles contenant l'atome d'azote	 Pyrrolizidine	Rétronécine Sénécionine
	 Quinolizidine	Lupinine Spartéine

	 Indolizidine	Tylophorine Castanospermine
1 hétérocycle aromatique contenant l'atome d'azote	 Pyridine	Nicotine Anatabine
	 Isoquinoléine	Pellotine Papavérine Berbérine
	 Indolique	Ajmaline Strychnine

II.3.3.3. Biosynthèse des alcaloïdes

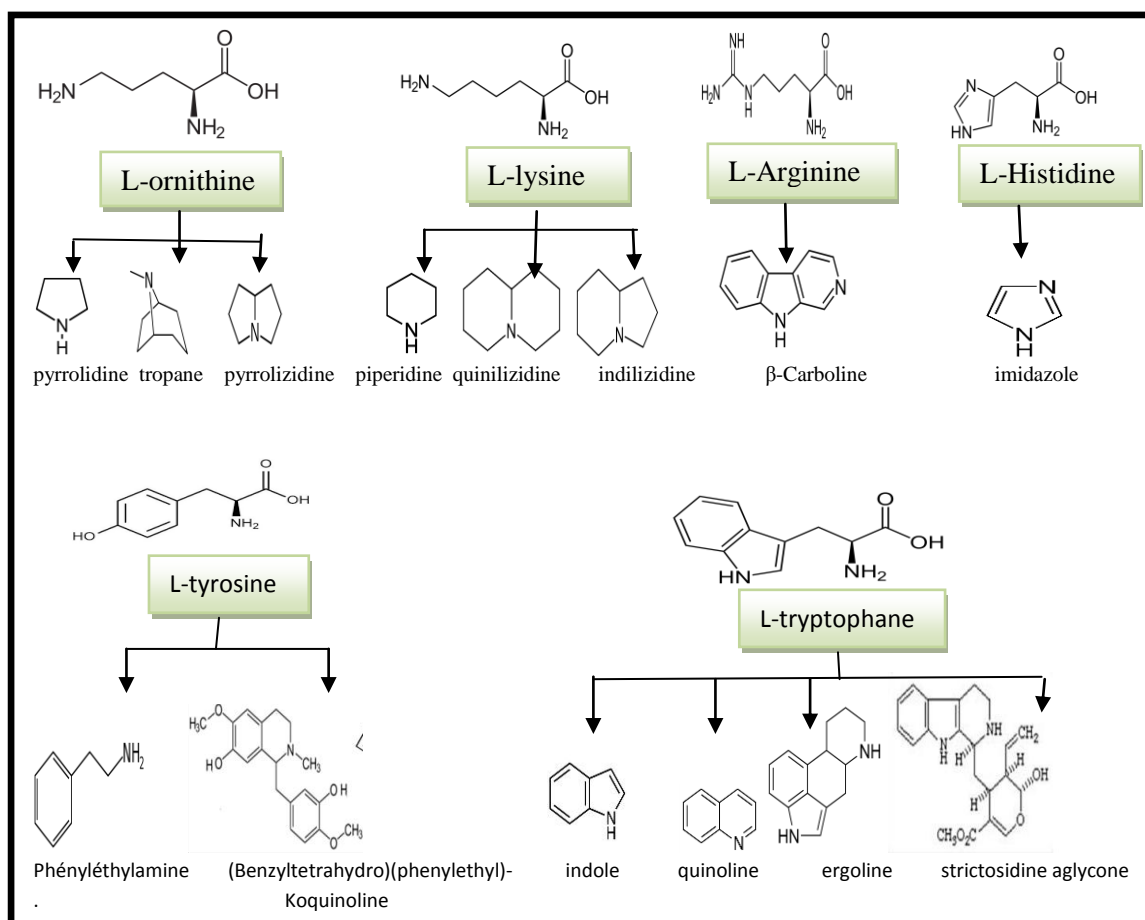


Figure 12 : Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes.

Quand la molécule comporte des carbones supplémentaires, ils sont apportés par des éléments largement impliqués dans d'autres métabolismes : acétate (tropanes), di-méthyl allyl pyrophosphate (ergolines, furoquinoléines) ou plus spécifiques à un groupe particulier de végétaux comme le sécologanoside (alcaloïde indolo-monoterpéniques). Les oxydations allyliques, les couplages oxydatifs, l'oxydation des noyaux aromatiques, les estérifications, les éthérifications, etc. justifient l'existence des nombreuses variations structurales. Pour les alcaloïdes terpéniques, ils sont un peu particuliers et leurs précurseurs sont une origine strictement terpénique et l'animation de la molécule est tardive.

II.3.3.4. Propriétés physicochimiques

- ❖ Masse moléculaire variant de 100 à 900g/mol.
- ❖ Les bases non oxygénées donnent des points de fusion au-dessous de 200 OC.
- ❖ Les sels sont formés grâce à la basicité des alcaloïdes associés avec des acides minéraux ou organiques.
- ❖ Les sels se conservant assez bien, constituent la forme commerciale habituelle des alcaloïdes (**Bruneton, 1999**).
- ❖ En général, les alcaloïdes bases sont insolubles ou très peu solubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu apolaires, et sont solubles dans les alcools.
- ❖ Les alcaloïdes non oxygénés (nicotine), sont des liquides huileux volatils, fréquemment odorants, par contre les alcaloïdes oxygénés sont en général solides, cristallisés, inodores et de saveur amère.
- ❖ Ils peuvent être fixés sur certains agents adsorbants tels que les charbons actifs ou les argiles du type bentonite.
- ❖ Les procédés d'extraction des alcaloïdes sont basés sur la solubilité différentielle dans divers solvants.
- ❖ Les alcaloïdes précipitent avec certains réactifs spécifiques appelés « réactifs des alcaloïdes ». Les plus importants sont les réactifs iodés tels que :
 - Solution neutre de mercure iodure de potassium ou réactif de MAYER (précipité blanc jaunâtre).
 - Solution acide d'iodobismuthite de potassium ou réactif de DRAGENDORFF (précipité rouge orangé).
 - Solution d'iodure de potassium iodé ou réactif de BOUCHARDAT.

- ❖ Les alcaloïdes à l'état de bases et en solution sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène.
- ❖ La majorité des alcaloïdes sont dérivés à partir des acides aminés tels que : ornithine, lysine, phénylalanine, tyrosine et tryptophane (**Alexander et al., 2008**).

II.3.3.5. Rôle des alcaloïdes

➤ Chez la plante

Au niveau de la plante, les alcaloïdes jouent un rôle essentiel dans la protection du végétale contre les animaux comme agents phytophages, ont des effets bénéfiques sur la plante synthétisante dont ils régulent la croissance et le métabolisme interne végétaux, ils désintoxiquent et transforment les substances nocives au végétal, ils protègent la plante contre les rayons UV.

➤ Chez l'homme

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques et thérapeutiques, notamment sur : le système nerveux central comme transmetteur chimique tels (l'acétylcholine, dopamine et la sérotonine), dépresseurs (morphine), stimulants (caféine), sur le système nerveux autonome comme sympathomimétique (éphédrine), parasympathomimétique (ésérine), anti-cholinergique (atropine) et sur le système cardiovasculaire (quinine).

Les alcaloïdes sont bien connus pour leurs propriétés antitussifs (codéine), vasodilatateurs (vincamine, ajmalicine), analgésiques (cocaïne), antimalaria (quinine), antihypertensives (réserpine), anesthésiques locaux (cocaïne), anticancéreux (vincristine, vinblastine), antipaludiques (quinine), anti-inflammatoires, antioxydants et antibactériens.

À côté des bienfaits de ces différentes molécules, il ne faut pas oublier que lorsqu'elles sont à un taux élevé, elles sont susceptibles de provoquer des effets indésirables, pour cela, elles sont appelées substances anti nutritionnelles. Leur présence diminue la qualité nutritionnelle des aliments auxquels elles sont associées (**Bruneton, 2009**).



Chapitre III:
Activité antibactérienne

III. Activité antibactérienne

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des microorganismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutano-muqueux. Pour résister à ces microorganismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle et l'immunité acquise.

Une des approches courantes pour la recherche des substances biologiquement actives est le criblage systématique des micro-organismes ou les plantes, qui sont des sources de beaucoup d'agents thérapeutiques utiles (**García-Ruiz et al., 2008**).

III.1. Généralités sur les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires), elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (**Nauciel et Vildé, 2005**).

III.2. Principales substances antibactériennes

III.2.1. Les antibiotiques

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, Ainsi c'est une substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne
- Activité en milieu organique
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme (**Boissier, 1993**).

Les antibiotiques peuvent être classés selon l'origine, le mécanisme d'action, le spectre d'action et la nature chimique, cette dernière celle-ci est la plus fréquemment rencontrée. Parmi les principales familles chimiques des antibiotiques on a : bêta Lactamines comme le Pénicilline ; Aminosides comme Gentamycine (**Cohen et Jacquot, 2001**).

III.2.2. Composés phénoliques

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont conduits à chercher de nouveau agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien accepté par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine) (**García-Ruiz et al., 2008**).

Les composés phénoliques notamment les flavonoïdes et les tannins jouent un rôle important dans la résistance aux maladies, protection contre les ravageurs et la diffusion d'espèces bactériennes. Les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (Apigénine, Kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*) (**Ulanowska et al., 2007**).

Une contamination des végétaux par des microorganismes pathogènes entraîne une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, ce qui correspond à la mise en place de mécanisme de défense de la plante (**Macheix et al., 2005**).

III.3. Mécanisme d'action des agents antibactériens

III.3.1. Mécanisme d'action antibactérienne des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire sur une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie au niveau de :

❖ La paroi cellulaire

La paroi bactérienne est constituée de mucopeptide. Les antibiotiques bloquent certains enzymes : peptido-glycane, transpeptidase qui intervient pour synthétiser la paroi des cellules-filles en provoquant la formation de paroi incomplète aboutissant à l'éclatement de la bactérie. Exemples : β -lactamines, cyclosérine, bacitracine, vancomycine, fosfomycine.

Les bactéries Gram positif dont la paroi est riche en mucopeptides sont les plus sensibles.

❖ La membrane cytoplasmique

Les antibiotiques entraînant une altération de la perméabilité de membrane cytoplasmique après la fixation sur les phospholipides. Ils opèrent comme des agents tensioactifs cationiques. Les constituants cellulaires s'échappent du cytoplasme bactérien, ce qui provoque la mort cellulaire. Exemple : Gramicidine et Tyrocidine.

❖ L'ADN nucléaire

Ces antibiotiques agissent en gênant la réplication de l'ADN, il semblerait qu'une liaison entre les quinolones, l'ADN gyrase et topoisomérase entraîne un effet bactériostatique. La mort cellulaire serait induite par la fragmentation chromosomique dont le mécanisme varie selon la structure du quinolone (**Cheng et al., 2013**).

❖ La synthèse des protéines bactériennes

Certains antibiotiques ciblent une ou plusieurs étapes de la biosynthèse des protéines (l'ARNm et l'ARNt), les mécanismes de traduction de l'ARNm sont troublés, la plus par des antibiotiques se fixent sur la sous unité ribosomale 30S, d'autres interviennent de diverses manières sur la sous unité ribosomale 50S et empêchent la libération de l'acide aminé par l'ARNt. Exemple : les Tétracyclines (**Murray et al., 2009**).

La figure suivante montre l'effet des antibiotiques sur la cellule bactérienne :

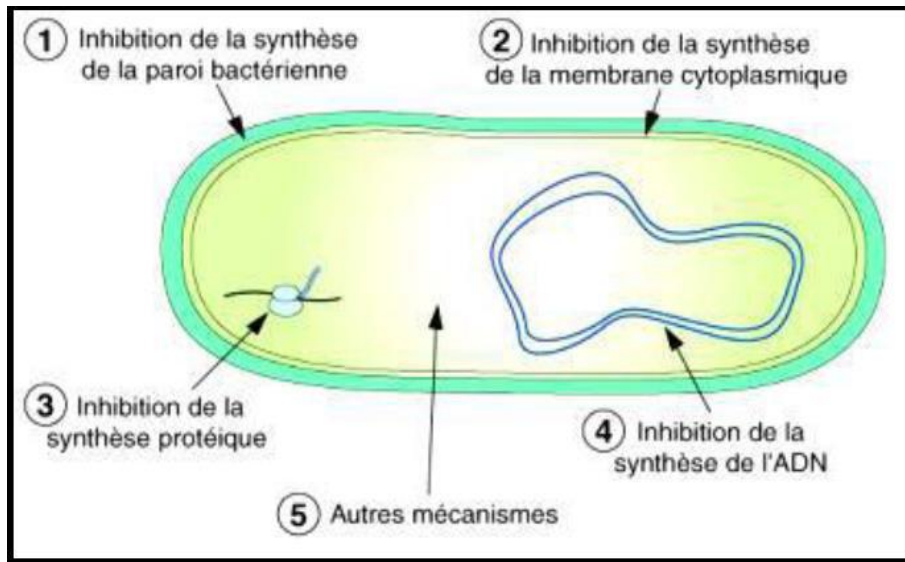


Figure 13 : Mécanisme d'action des antibiotiques.

III.3.2. Mécanisme d'action antibactérienne des polyphénols

Les polyphénols sont doués d'activités antibactériennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales (**Domineco et al., 2005**). Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (**Cowan, 1999**). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (**Scalbert, 1991**).

Ces composés agissent par deux mécanismes d'actions ; la premier consiste à l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique dans les bactéries (**Wu et al., 2011**) et autre deuxième provoquant l'endommagement des membranes cellulaires des bactéries (**Tsuchiya et Linuma, 2000**).

Les flavonols sont parmi les plus communs des produits naturels qui présentent un large spectre et forte activité antibactérienne par rapport aux autres polyphénols, à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques (**Daglia, 2011**).

Les tannins ont une action antibactérienne puissante leur permettant d'inhiber la croissance des bactéries ruminales (dont certains sont sporogènes). L'inhibition bactérienne par les tanins est dépendante de la structure et du degré de polymérisation de ces derniers.

L'activité antibactérienne des acides phénolique est liée aux présences des groupements hydroxyles dans leur structure (Cowan, 1999). Les acides phénolique comme l'acide P-coumarique, acide caféique agissent en tant que des facteurs empêchant la croissance de *Staphylococcus aureus* (Stojković et al., 2013).

III.4. Données générales sur les déférentes souches testées

➤ Bactéries à Gram positif

a. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une coccobactérie Gram positif, catalase positive appartenant à la famille des *Staphylococcaceae* (Becker et al., 2004). Il a un diamètre d'environ (0,5 à 1,5 µm), est immobile, asporulé et facultativement anaérobique il est habituellement disposé en grappes. De nombreuses souches produisent des entérotoxines staphylococciques, et font partie de la flore humaine et est surtout présent dans le nez et sur la peau (Benhamou et al., 2005).

b. *Bacillus cereus*

C'est une bactérie appartenant à la famille des *Bacillaceae*. Gram positif, aéro-anaérobie facultatif, et mobile (\pm), habituellement les bactéries sont observés en paires ou en chaînettes courtes et capable de former des endospores, capable d'élaborer plusieurs toxines, y compris un nécrosante entérotoxine, une toxine émétiques, phospholipases, protéases, et hémolysines. Ils sont des facteurs déterminants pathogènes importants (Drobniewski, 1993).

Généralement sont largement répandues dans l'environnement est fréquemment responsable d'intoxications alimentaires et contaminer les aliments par ses spores (Bottone, 2010).

➤ **Bactéries à Gram négatif**

a. *Escherichia coli*

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal (**Patrick et al., 1988**), de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm , *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (**Percival, 2004**).

b. *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 μm de long et 0.5 à 0.8 μm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de « vol moucheron ». *P. aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéroplastes. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3ème rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1er rang pour les infections pulmonaires basses et le 3ème rang pour les infections urinaires (**Steven et al., 2004**).



Deuxième partie :
Etude expérimentale

A photograph of a laboratory setting with various glassware. In the foreground, there are several test tubes in a rack, some containing blue liquid. To the left, there are small vials with orange liquid. In the background, there are larger bottles, some with blue caps, and a pipette with a red tip. The scene is brightly lit, suggesting a clean and professional laboratory environment.

Chapitre I :
Matériels et méthodes

I.1. Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude est consacré à la description de matériels et méthodes utilisés afin de mener à bien la présente étude. Elle englobera les expériences suivantes :

- ✓ Obtention de la poudre de partie aérienne d'*Ocimum basilicum L* et l'extraction de leur contenu des composés chimiques par solvant extractif le méthanol ainsi que la préparation des fractions organiques (Ether de pétrole, Chloroforme, Acétate d'éthyle et n-butanol).
- ✓ Faire un screening phytochimique et réalisation de chromatographie sur couche mince.
- ✓ Dosage des polyphénols et des flavonoïdes dans les fractions préparés.
- ✓ Etude de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme).

I.2. Matériels et méthodes

I.2.1. Présentation de région d'étude

➤ La région Chelghoum Laïd

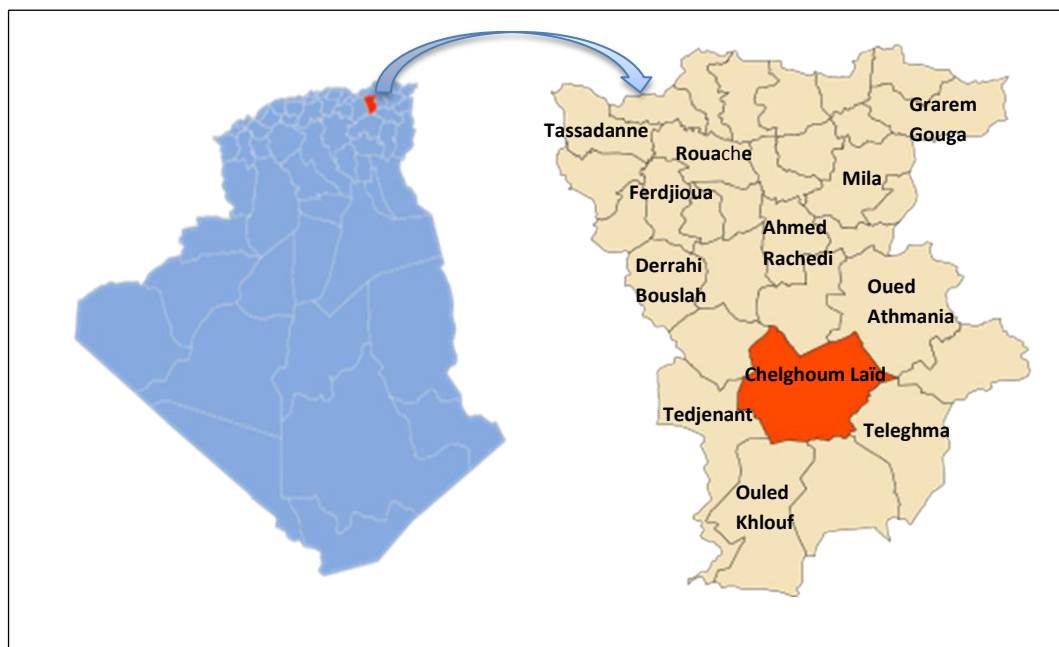


Figure 14 : Carte géographique de la situation région Chelghoum Laïd (Viamichelin, site web).

I.2.2. Matériels

I.2.2.1. Matériel végétal utilisé

L'ensemble des manipulations ont été effectués dans les laboratoires de biologie du centre universitaire Abd el Hafid Boussouf de Mila. Le matériel végétal choisi est constitué la partie aérienne d'*Ocimum basilicum* L prospecté à la wilaya de Mila (Algérie) région Chelghoum laïd, durant le mois de janvier 2021.

I.2.3. Méthode

I.2.3.1. Préparation de la poudre végétale

Pour faciliter l'extraction des composés phénoliques à partir de partie aérienne d'*O. basilicum* L deux opérations ont été effectuées : séchage et broyage.

❖ Séchage

Une fois la récolte du matériel végétal est réalisée, la partie aérienne d'*O. basilicum* L a été séchée pendant un mois (30jours) à l'obscurité, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante.

❖ Broyage

A l'aide d'un broyeur, le matériel végétal a été broyé jusqu'à obtention d'une poudre qui sera utilisée pour la préparation d'extrait de polarité croissante.

Le broyage permet d'augmenter la surface de contact solvant-échantillon et améliorer le rendement d'extraction des différents composés.



Figure 15: Le basilic : (a) partie aérienne fraîche. (b) partie aérienne sèche. (c) poudre de partie aérienne.

I.2.3.2. Extraction et fractionnement

I.2.3.2.1. Extraction par macération

Au cours de ce travail, l'extraction solide/liquide a été choisie comme moyenne pour la récupération d'une grande majorité des composés contenus dans la partie aérienne surtout les feuillets d'*Ocimum basilicum L.*

On utilise des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction. L'extraction est faite par macération selon la méthode de **Bruneton (1993)** par l'eau distillée et le méthanol (20 : 80) de volume.

❖ Principe

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec le solvant pour extraire le maximum des composés (**Lianeza et al., 2009**).

❖ Mode opératoire

➤ Préparation de l'extrait hydrométhanolique

100g de poudre de partie aérienne d'*O. basilicum L* sont introduits dans un erlenmeyer a été macéré dans 450 ml méthanol-eau distillée. Le mélange est soumis à une agitation manuelle quelque minute, puis laisser à une température ambiante pendant 69 heures (presque 3 jours).

La macération hydrométhanoliques obtenue est filtrée à l'aide d'un entonnoir contient un coton. Cette opération est répétée 4fois (chaque fois ça prend 24 heures) afin d'extrais le maximum des produits contenus dans la plante.

L'extrait obtenus ont été évaporé (concentré) à sec sous vide à l'aide d'un rotavapeur (type BUCHI) à 40°C.

L'extrait brut est pesée et le rendement d'extraction doit être calculé, puis traité avec une quantité d'eau distillée et laisser au repos pendant une nuit pour la décantation. Après filtration, on obtient une solution aqueuse **figure (16)**.

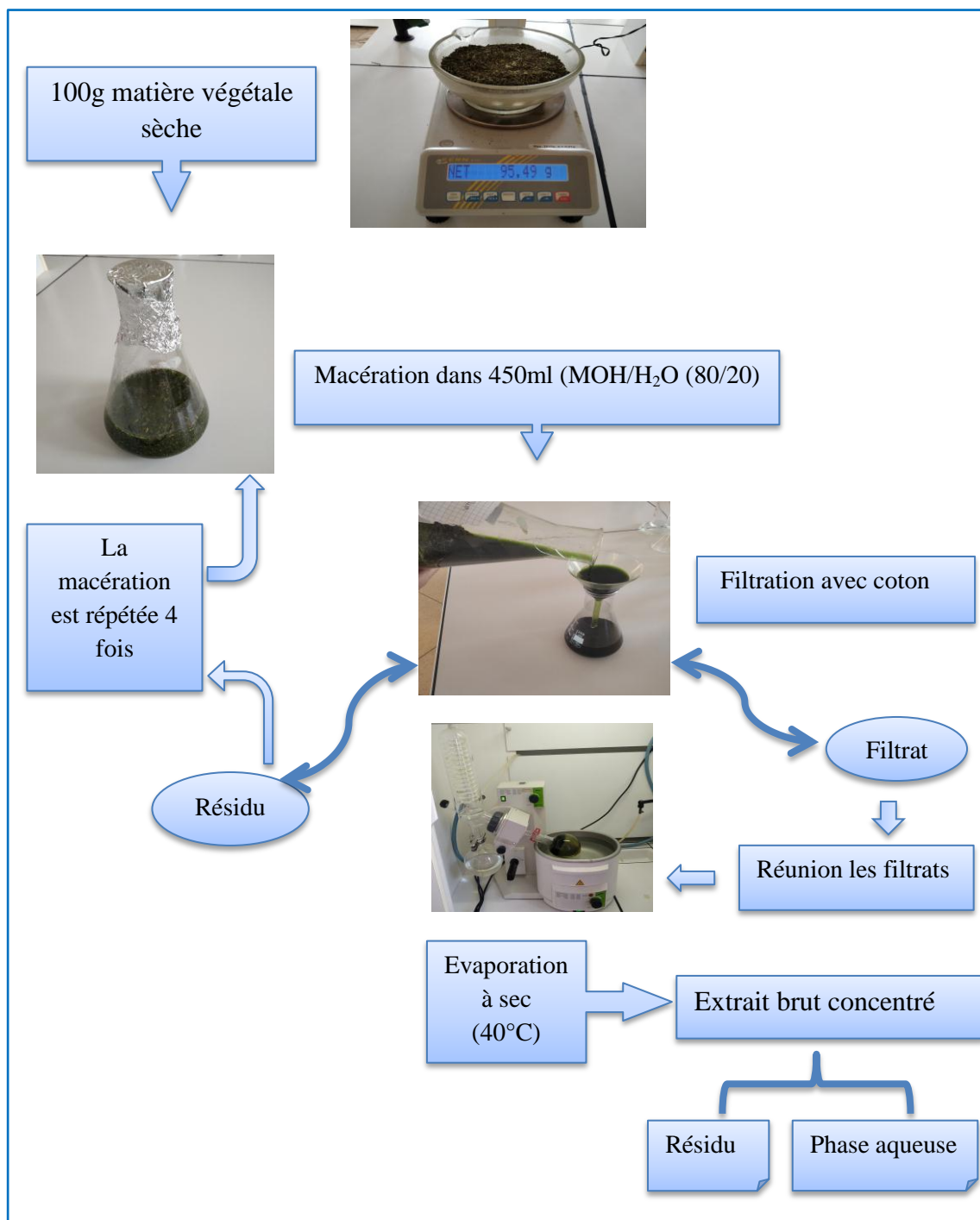


Figure 16 : Protocole d'extraction par macération des composés phénoliques.

➤ **Calcul du rendement (R%)**

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée :

$$R = \frac{M_{ext}}{M_{éch}} \times 100$$

Où : **R** : est le rendement en%.

Mext : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

Méch : est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

I.2.3.2.2. Fractiment d'extrait par extraction liquide-liquide

❖ Principe

Est une méthode de purification basée sur la différence de solubilité d'un soluté dans deux phases non miscibles. L'extraction liquide/liquide est réalisée par le contact intime du solvant avec la solution (on utilise habituellement une phase aqueuse et une phase organique) dans des appareils destinés à mélanger les deux phases (ampoules, colonnes, mélangeurs). La séparation des phases s'obtient par décantation gravimétrique ou centrifuge (**Gamse, 2002**).

❖ Mode opératoire

A l'aide d'une ampoule à décanter de 1000mL, on a procédé à des extractions successives de types liquide-liquide, en utilisant quatre solvants organiques de polarités différentes : l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol.

Les quatre phases organiques récupérées sont évaporées sous pression au moyen d'un évaporateur rotatif (type BUCHI) et pesées, et les rendements sont calculés.

Après l'évaporation et le calcul de rendement, les phases (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol) sont dissout dans une quantité de méthanol.

Le protocole d'extraction est résumé dans l'organigramme présenté ci-dessous montre les différentes étapes du processus d'extraction (**Figure 17**).

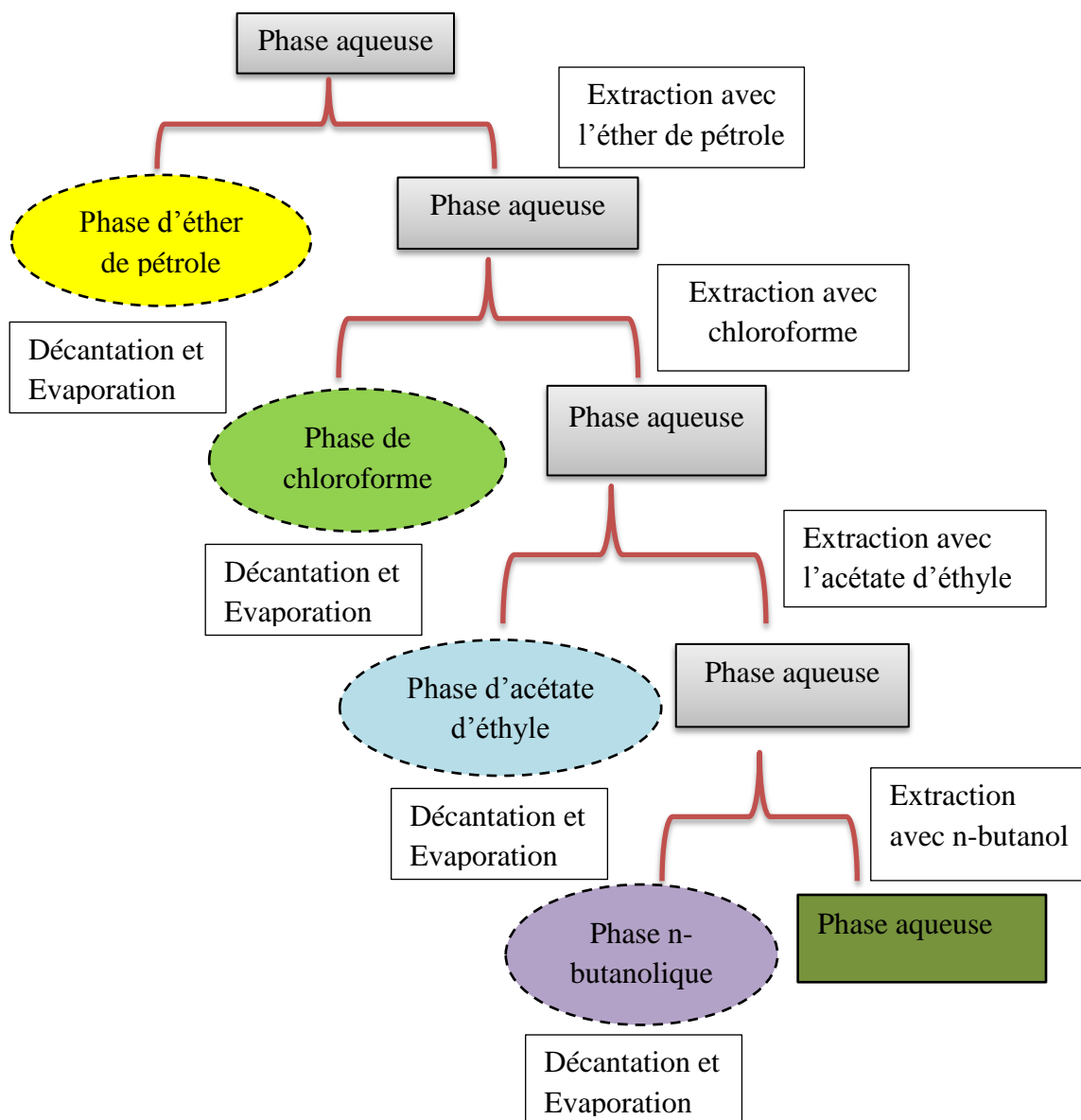


Figure17 : Protocole d'extraction liquide-liquide de plante *Ocimum basilicum L* (Fadili et al., 2017).

I.2.3.3. Analyse qualitative

I.2.3.3.1. Screening phytochimique

C'est une étude qualitative permet de mettre en évidence la présence des familles de molécules actives dans la plante.

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols totaux y compris les flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, les stérols, les terpènes...etc. (Lendvaib Zelles et al., 2002). Elle basée sur des réactions de coloration et/ou précipitation.

On utilise généralement des fractions qui sont déjà préparés par extraction liquide-liquide pour réalisés les tests phytochimiques.

Les résultats ont été évalués comme suit : +++ : Fortement positif / ++ : Moyennement positif / + : Faiblement positif / - : Négatif.

1. Détection des flavonoïdes

1ml de fraction est traité avec quelques gouttes de HCl concentré, puis une quantité de magnésium (laisser agir), l'apparition d'une couleur rose, rouge ou jaune implique la présence de flavonoïdes (**Trease et Evans, 1987**).

2. Détection des tanins

Les tannoïdes (tannins hydrolysables- tanins galliques et tanins éllagiques) et les tannins vrais (tannins non hydrolysables ou condensés-tanins catéchiqes) sont des polymères de polyphénols.

Pour la détection des tanins galliques, en ajoute à chaque fraction 2ml de solution aqueuse de chlorure ferrique $FeCl_3$ (1%). et pour les tanins catechique 1ml de formaldéhyde et 1ml de HCL concentré (réactif de stianyl) sont ajoutés à chaque fraction. L'apparition d'une coloration bleu-noir indique la présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence des tanins catéchiqes (**Douhou et al., 2003**).

3. Détection des stérols et triterpènes

La méthode de **Mibindzou Mouellet (2005)** permet de mettre en évidence la présence de stérols de triterpènes. A 1ml de chaque fraction est ajouté 1ml de chloroforme. Après 1ml d'anhydride acétique puis 1ml de l'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré au fond de tube à essai à l'aide d'une pipette et ne pas agiter.

La formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides et la coloration verte ou violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et de triterpènes.

4. Détection des glycosides

La présence des glycosides indiquée par une précipitation rouge brique qui s'accroît après le chauffage à 70°C d'un mélange de 1 ml de la fraction, 2 ml d'eau distillée avec 20 gouttes de liqueur de Fehling (**Trease et Evans, 1987**).

5. Détection des stéroïdes

Dans un tube à essai, 1ml d'anhydride acétique a été mélangé avec 1ml de la fraction. Ensuite, 0,1ml de H₂SO₄ concentré y sont ajoutés. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive (**Daira et al., 2016**).

6. Détection des Anthraquinones

Pour la détection des anthraquinones, à 1ml de fraction ont été ajoutés 1ml de NH₄OH à 1%. Après agitation à l'aide de vortex, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence des anthraquinones (**Oloyede, 2005**).

7. Détection des Quinones libres

Un volume de 1ml de fraction est mis dans tube à essai, puis y sont ajoutés quelques gouttes de KOH à 1%. L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violette indique la présence des quinones libres (**Dohou, 2004**).

8. Détection des Coumarines

Les coumarines ont été mises en évidence par la réaction du cycle lactonique. 1ml de la fraction végétal a été mis dans un tube à essai. Ensuite, 1,5ml de KOH (1%) sont ajoutés. Après l'agitation du mélange, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarine (**Diallo, 2000**).

10. Détection des anthocyanes

Le test consiste à ajouter à 5ml de fraction, 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) en suite 5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄). La présence d'anthocyanes indique une coloration rouge en milieu acide et bleue violacée en milieu basique (**Mibindzou Mouellet, 2005**).

11. Détection des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été mis en évidence par le réactif de Wagner (réactif de précipitation) : 1ml de la fraction sont mis dans un tube à essai puis, on y ajoute quelques gouttes de réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité rouge-orangé ou brun rougeâtre indique un test positif (Vijay et al., 2013).

12. Détection des protéines

Les protéines ont été mises en évidence par la réaction du Biuret. 1ml de KOH à 2% y a été ajouté à 1ml de la fraction dans un tube à essai. Après agitation, 2 à 3 gouttes d'une solution aqueuse de CuSO_4 ont été additionnée au mélange. L'apparition d'une coloration violette, quelque fois avec une teinte rougeâtre, indique une réaction positive (Yves et al., 2007).

I.2.3.3.2. Caractérisation qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une méthode biochimique très utilisée en biologie. Dans ce travail, la CCM a été utilisée pour la séparation, la caractérisation et la comparaison des composés phénoliques présents dans les fractions obtenus.

❖ Principe

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile.

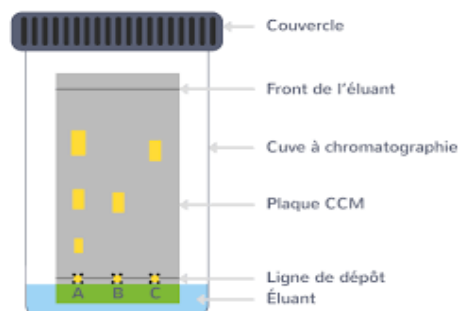


Figure 18: Chromatographie sur couche mince (Munier, 1968).

❖ Mode opératoire

a) La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques pré étalées de gel de silice sur des plaques en aluminium.

b) On a déposé à l'aide d'un capillaire une petite quantité d'une solution du produit de départ. Le diamètre de la tâche ne doit pas dépasser 2 mm pour réussir la séparation des échantillons. Pour chaque fraction on fera 2 à 3 dépôts successifs.

c) A côté, on a préparé, un éluant (acétate d'éthyle : méthanol, eau ; 8 :1,5 :0,5) qui recouvrira le fond de la cuve sur environ 5mm de hauteur, et on a laissé saturer la cuve (laisser la cuve fermée et laisser les vapeurs de l'éluant remplir le volume de la cuve).

d) On a placé la plaque de CCM dans la cuve. Lorsqu'il a arrivé presque en haut de la plaque, on a fait sortir celle-ci de la cuve et on a laissé l'éluant s'évaporer.

e) Pour visualiser les différentes taches, on place la plaque sous la lampe UV (Maxicours, site web).

I.2.3.4. Analyse quantitative

Le dosage des polyphénols totaux et les flavonoïdes a été réalisé sur les fractions (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol).

I.2.3.4.1. Dosage des polyphénols totaux

En raison de l'hétérogénéité des composés phénoliques naturels et leur possible interférence avec d'autres substances facilement oxydées dans les matières végétales, plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination des composés phénoliques totaux mais aucune n'est parfaite.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux dans les fractions de partie aérienne de la plante étudiée est réalisée par le dosage spectrophotométrie selon la méthode du Folin-Ciocalteu (Skerget et al., 2005) (Figure 20).

❖ Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin Ciocalteu. Ce dernier, de couleur jaune, est constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et oxyde molybdène (Mo_8O_{32}). La coloration bleu produite, dont l'absorption maximum à 760nm, est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

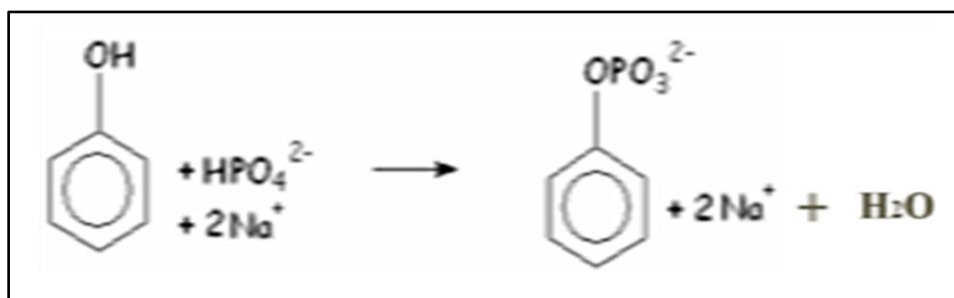


Figure 19 : Principe de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu.

❖ Mode opératoire

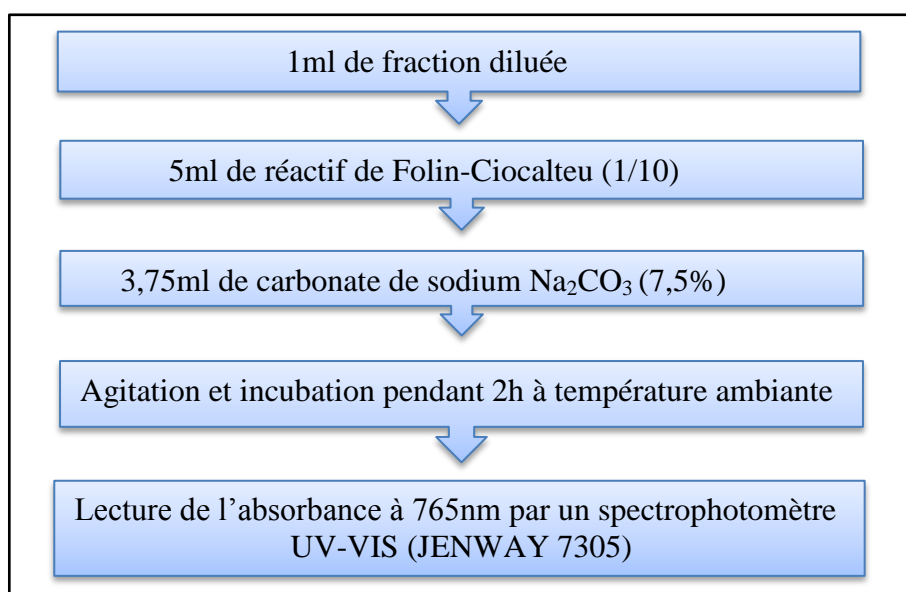


Figure 20 : Protocole de dosage des polyphénols totaux.



Figure 21 : Dosage des polyphénols totaux (Photo personnelle, 2021).

➤ Courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$) (**Figure 49**) est réalisée par un extrait l'étalon "acide gallique" à différentes concentrations de 0.2 jusqu'à 0.025 mg/ml dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage.

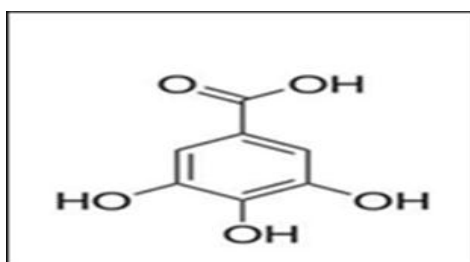


Figure 22 : Structure de l'acide gallique.

Le blanc est représenté par le solvant (méthanol) utilisé additionné du Folin-Ciocalteu et de carbonate de sodium. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

➤ Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (mg/ml) et exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme de fraction (mg EAG/mg de fraction).

I.2.3.4.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par **Lamaison et Carnat (1991)** avec des modifications, en utilisant le trichlorure d'aluminium comme réactif (**figure 24**).

❖ Principe

Le principe est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par Le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) qui forme un complexe acide stable avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes. Ce complexe de coloration jaune, absorbe à une longueur d'onde de 430 nm (Dif et al., 2015).

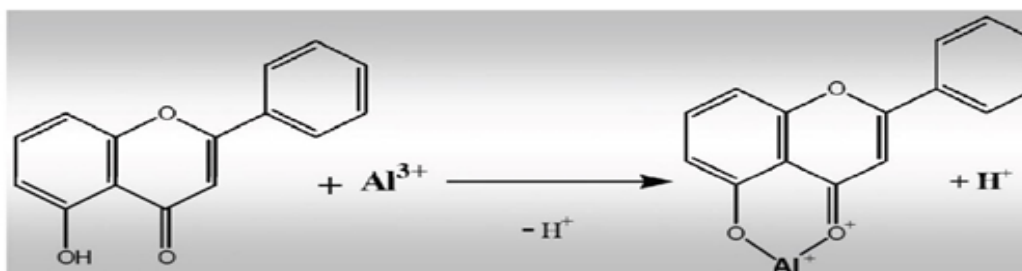


Figure 23: Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes.

❖ Mode opératoire

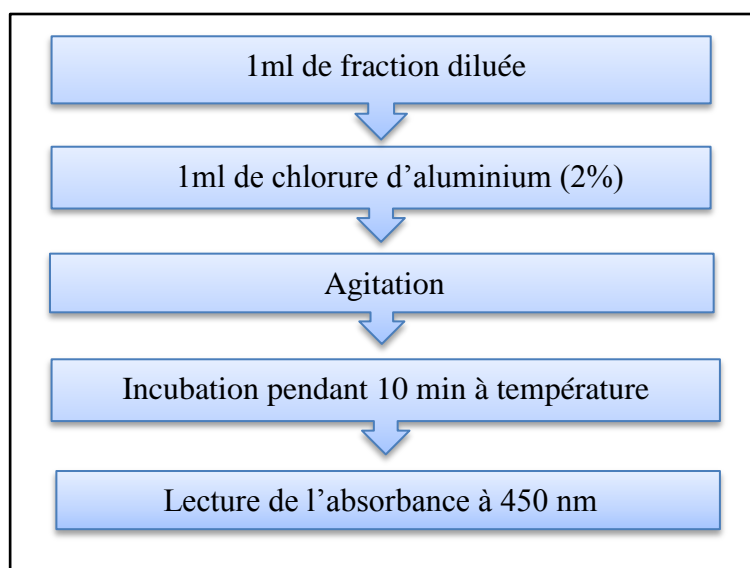


Figure 24 : Protocole de dosage des flavonoïdes.



Figure 25 : Dosage des flavonoïdes (Photo personnelle, 2021).

➤ Courbe d'étalonnage

La concentration des flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions (**Figure 50**).

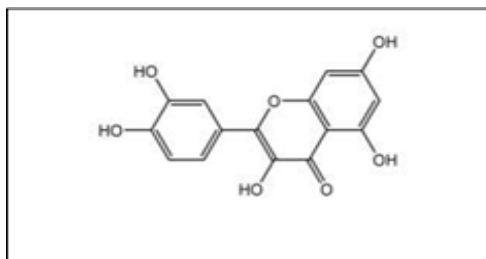


Figure 26 : Structure chimique de la quercétine.

➤ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent quercétine par milligramme de fraction (mg Eq Qu/mg de fraction).

I.2.3.5. Activité antibactérienne

Les tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne nécessitent des conditions d'asepsie rigoureuses afin d'éviter les problèmes de contamination. En outre, le matériel, les solutions et les milieux de cultures doivent être stérilisés par l'autoclavage.

❖ Principe

C'est une technique basée sur l'application des disques, imprégnés des extraits à tester, sur la surface de gélose préalablementensemencée par les bactéries choisies.

L'activité antibactérienne se manifeste alors par des zones d'inhibition autour des disques.

❖ Souches bactériennes testées

Quatre souches bactériennes de références ont été testées : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus cereus*. Ces souches bactériennes ont été obtenues auprès du laboratoire de Contrôle de qualité et de la conformité « Ghaouat » d'Ain Melila. Les caractéristiques des souches sont citées dans le **tableau VI**.

Tableau VI : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.

Famille	Genre et espèce	Gram	Référence
<i>Enterobacteriacées</i>	<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC11303
<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Positif	ATCC10987
<i>Micrococcaceae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC25923
<i>Pseudomonadacées</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC27853

❖ Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de différentes fractions (chloroforme, acétate d'éthyle, n- butanol) de plante étudiée est réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) (Treki et al., 2009), en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries et s'est déroulé selon les étapes suivantes :

➤ Préparation des milieux de culture

1. Préparation de milieu BN (Bouillon nutritif)

5 g poudre de BN à est ajouté à 1000mL d'eau distillé sous agitation continue sur plaque chauffante pendant quelques minutes, la solution sera divisée dans des tubes en verre à vis. Le bouillon nutritif a été préparé pour le but de la réactivation et l'entretien des souches bactériennes.

2. Préparation de milieu MH (Mueller Hinton)

Le Mueller Hinton a été préparé pour le but du repiquage des souches bactériennes et d'évaluation de l'activité antibactérienne. On dissout 38g de MH avec 1000ml d'eau distillée, le mélange obtenu est semis à une agitation continue, à une température élevé sur une plaque chauffante jusqu'à le bouillage, puis le milieu sera divisée dans des flacons en verre.

3. Préparation d'eau physiologique

L'eau physiologique est préparée pour l'ensemencement des souches. On dissout 0.9 g de NaCl dans 100ml d'eau distillée avec agitation pendant quelques minutes.

4. Préparation des disques d'aromatogramme

Feuilles de papier Wattman N °3 sont coupées en disques de 6 mm de diamètre. Ces disques sont ensuite mis dans un tube à vis, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation (**Figure 27**).



Figure 27 : préparation des disques d'aromatogramme.

➤ Réactivation des souches bactériennes

Les souches bactériennes sont réactivées dans des tubes à vis contenue de BN stérile et incubées à 37°C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance.

➤ Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur gélose nutritive en boîte de pétri. A l'aide d'un écouvillon, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien (**Figure 28**).

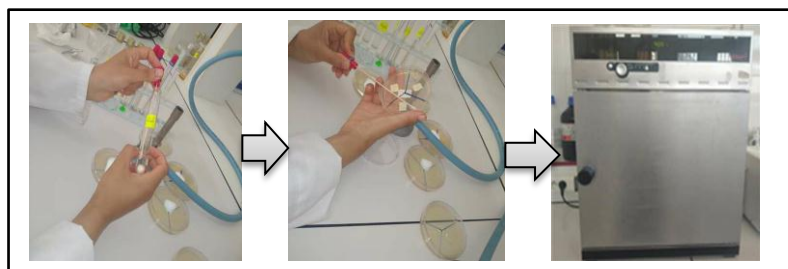


Figure 28 : Repiquage des souches bactériennes.

➤ Préparation des dilutions des fractions

Les fractions ont été reprises avec le diméthylsulfoxyde (DMSO), les dilutions sont réalisées selon la méthode suivante :

- ✓ Solution mère SM: 100mg de fraction avec 1ml de DMSO [100%].
- ✓ T¹/₂: 0,5ml de fraction de SM avec 0.5ml de DMSO [50%].
- ✓ T¹/₄: 0.5ml de fraction de T¹/₂ avec 0.5ml de DMSO [25%].

- ✓ T_{1/8} :0.5ml de fraction de T_{1/4} avec 0.5ml de DMSO [12.5%].
- ✓ T_{1/16} :0.5ml de fraction de T_{1/8} avec 0.5ml de DMSO [6.25%].

➤ Préparation de l'inoculum bactérien

✓ A l'aide d'une pipette pasteur, racler quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques de chacune des souches bactériennes à tester préalablement cultivées dans la gélose nutritive.

✓ Décharger une pipette pasteur dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %, bien homogénéiser la suspension bactérienne. Pour cela la concentration des différentes solutions est évaluée par turbidité et est exprimée par la mesure des densités optique (entre 0,08 à 0,10 nm à une longueur d'onde de 625nm) sur un spectrophotomètre UV.

✓ L'ensemencement doit se faire en moins en quelques minutes après la préparation de l'inoculum (**Bauer et al., 1966**).

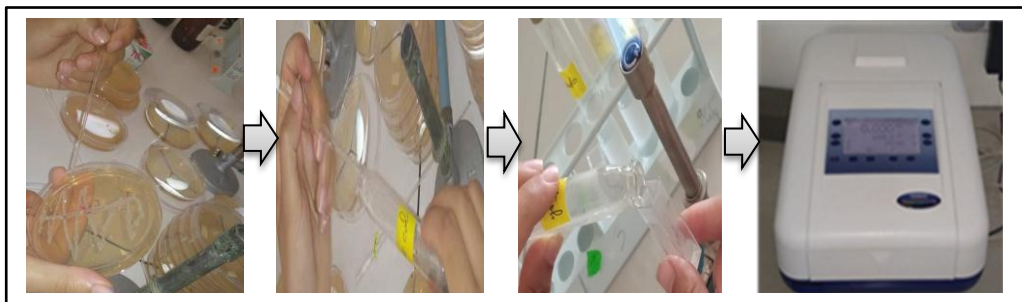


Figure 29 : Préparation de l'inoculum bactérien.

➤ Ensemencement des bactéries et dépôt des disques

- ✓ La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène.
- ✓ Tremper une anse de platine stérile dans la suspension bactérienne (Il est nécessaire d'éviter la contamination du manipulateur et de la paillasse).
- ✓ L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- ✓ Frotter l'anse de platine stérile sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas.
- ✓ Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois, l'ensemencement est fini en passant l'anse de platine stérile sur la périphérie de la gélose.
- ✓ L'anse de platine stérile est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

✓ Les disques d'antibiogramme stériles imprégnés des fractions (5µl de fraction), ont été déposés stérilement à l'aide d'une pince au bec benzène sur la surface de la gélose Mueller Hinton (GMH). Le témoin négatif était un disque de papier Wattman imprégnés de DMSO pour la comparaison avec les résultats des fractions testés.

✓ Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 H.

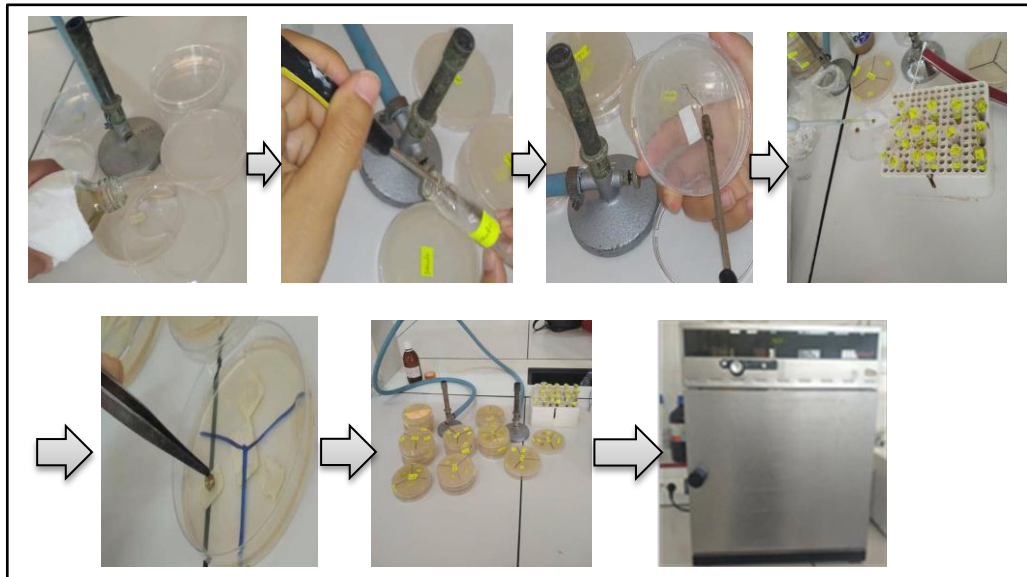


Figure 30 : Ensemencement des bactéries et dépôt des disques.

➤ Incubation et lecture

Après l'incubation 24- 48 heures à 37°C dans l'étuve l'effet des fractions se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi *et al.*, 2006).

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse en (mm).

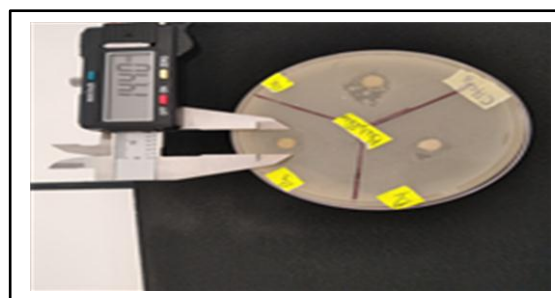


Figure 31 : Incubation et lecture.



Chapitre II :
Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

II.1. Extraction des composés phénoliques

Il y a beaucoup de démarches pour obtenir les composés phytochimiques des plantes telles que le broyage, l'homogénéisation et l'extraction. Parmi ces étapes, l'extraction est l'étape principale pour la récupération et l'isolement des composés phytochimiques à partir de matières végétales, car elle est déterminante de la qualité et de la quantité de principes actifs recherchés, qui reflètent directement leurs activités pharmacologiques.

Dans ce travail, L'extrait brut hydro-méthanoliques de partie végétale étudiée est obtenu par macération, puis fractionnés par extraction liquide-liquide avec des solvants à polarité croissante.

II.1.1. Taux d'extraction de l'extrait brut

II.1.1.1. Résultat

L'extraction de la partie aérienne d'*Ocimum basilicum L* a été faite à l'aide de la méthode de macération, et le calcul de rendement de l'extrait a été effectué en fonction de la matière végétale, l'observation de résultat démontre dans le **tableau (VII)**.

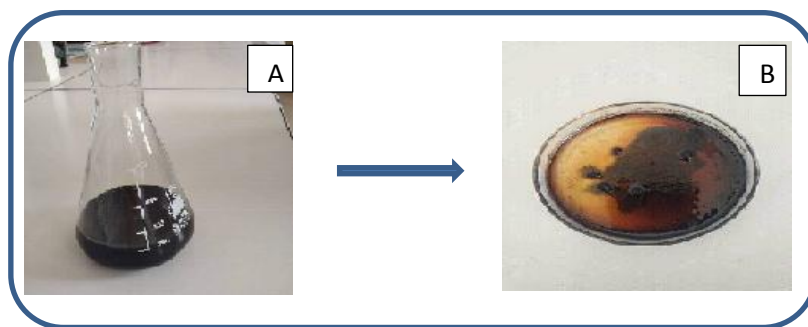


Figure 32 : A : Extrait brut après la macération, B : Extrait brut après l'évaporation.

Tableau VII : le rendement de l'extrait brut.

Extrait	Aspect	Couleur	masse	Rendement%
EHM	Poudre	Vert brunâtre	20.69g	20.69%

Le résultat est exprimé dans la (**figure 33**).

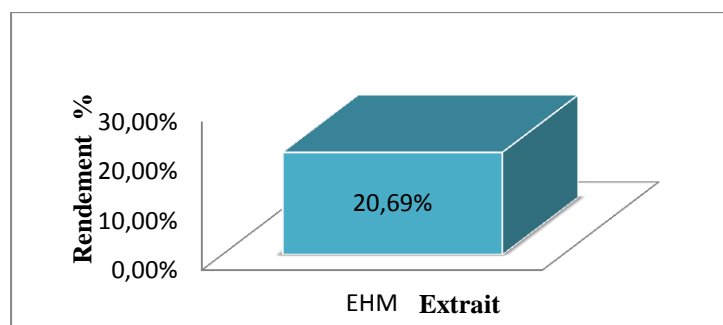


Figure 33 : Histogramme du rendement d'extrait brut.

II.1.1.2. Discussion

L'opération de l'extraction par macération de la partie aérienne de la plante *O. basilicum L* par le méthanol aqueux a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute avec un rendement de 20.69%.

Ce taux est proche à ceux obtenu par **Karthika et al., (2017)** et **Rezzoug et al., (2019)**, ont déterminé le rendement 20.67% et 20.16% successivement pour la même espèce végétale, et légèrement supérieur à celui trouvés par **Prasath et al., (2019)** avec un rendement de 13.5%.

D'une manière générale ; le rendement n'est pas relatif et varie en fonction de plusieurs paramètres : le matériel végétal étudié (tailles de particules), l'origine géographique de la plante, les caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés et notamment de leur polarité. Il dépend aussi eux conditions et la durée de stockage, période de récolte et à la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectué.

II.1.2. Taux d'extraction des fractions

II.1.2.1. Résultat

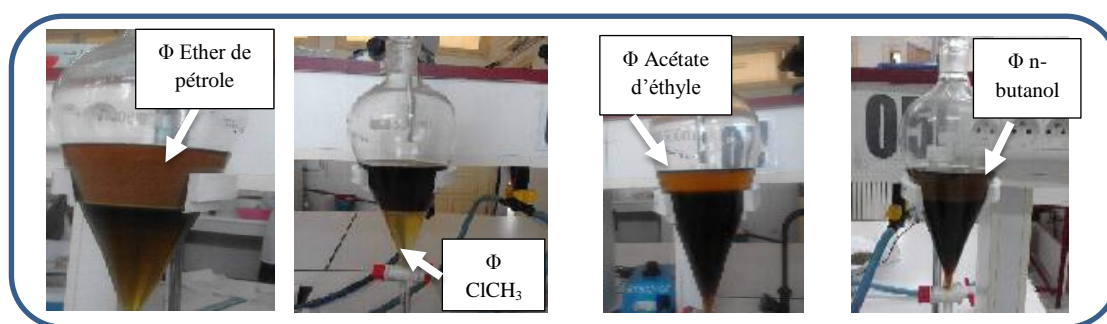


Figure 34 : L'extraction liquide-liquide de l'extrait brut.

Les rendements ont été calculés pour chaque phase organique obtenu suite au fractionnement, et les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau (VIII)**, avec l'aspect, la couleur et la masse de chaque phase.

Tableau VIII : les rendements, couleur et aspect des différentes fractions.

Fraction	Couleur et aspect	Masses (g)	Rendements (%)
Ether de pétrole	Jaune foncé visqueux	-	-
Chloroforme	Jaune visqueux	0.192	0.192%
Acétate d'éthyle	Marron visqueux	0.33	0.33%
n- butanol	Marron foncé visqueux	1	1%

Remarque : nous n'avons pas calculé le rendement de la phase d'éther de pétrole ; puisque l'extrait de cette phase est exposé à un accident lors de l'évaporation.

Les résultats sont exprimés dans la (**figure 35**).

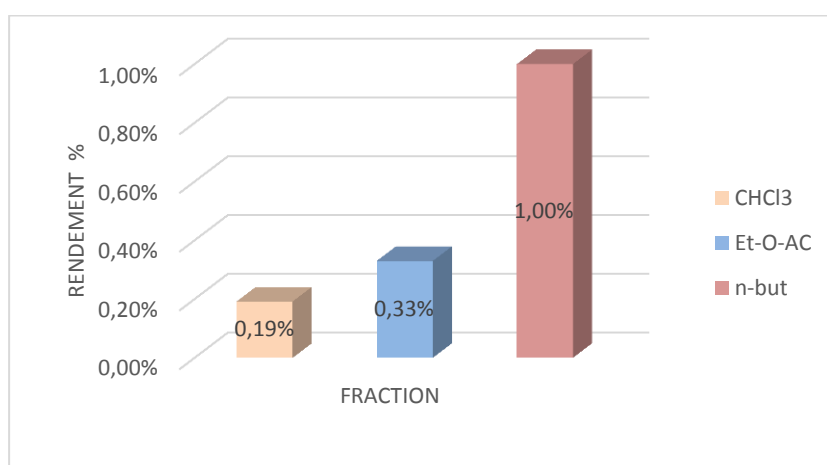


Figure 35 : Histogramme des rendements obtenus pour chaque fraction.

II.1.2.2. Discussion

L'extraction liquide-liquide repose sur la répartition sélective des composés contenus dans l'extrait hydrométhanolique retenu selon leur solubilité entre les phases organiques utilisés. Nous constatons que la majeure partie des composés de l'extrait hydrométhanolique d'*O.basilicum L* ont tendance à se retrouver dans la fraction n-butanol, dont les taux d'extraction atteignent une moyenne de (1%), suivi par l'acétate d'éthyle (0,33%) puis la fraction chloroformique (0,192%).

II.2. Analyse qualitative

II.2.1. Screening phytochimique

II.2.1.1. Résultat

Selon le screening phytochimique effectué dans les quatre fractions on remarque :

✓ Flavonoïdes

L'apparition de coloration rouge prouve la présence des flavonoïdes avec une réaction moyennement positive.

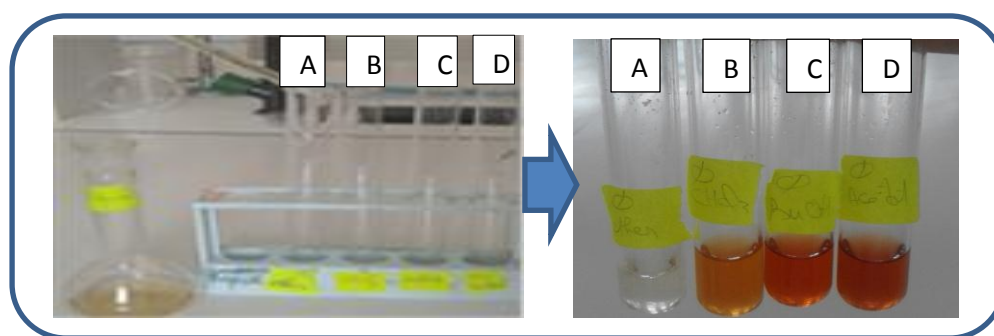


Figure 36 : Résultats de test des flavonoïdes. (A) : fraction éther de pétrole, (B) : fraction CHCl_3 , (C) : f fraction n-BuOH, (D) : fraction Et-O-AC.

✓ Tanins

La présence de couleur bleu-noir indique la présence des tanins galliques et brun verdâtre la présence des tanins catéchiques.

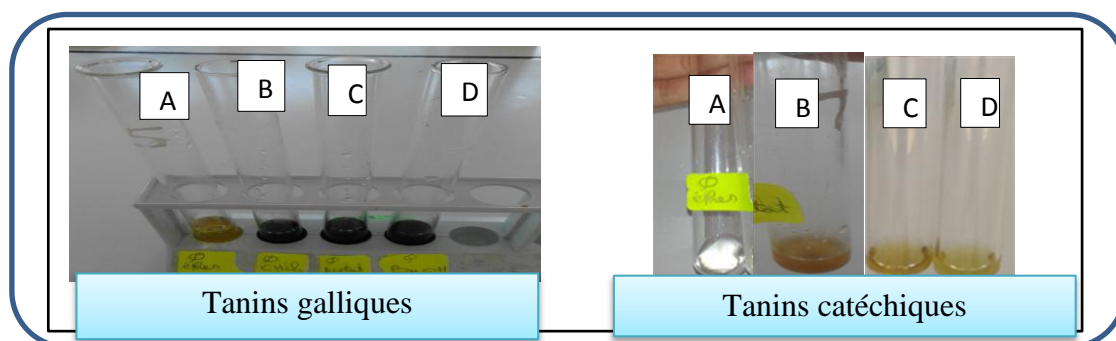


Figure 37 : Résultats de test des tanins. (A) : fraction éther de pétrole, (B) : fraction CHCl_3 , (C) : fraction Et-O-AC, (D) : fraction n-BuOH.

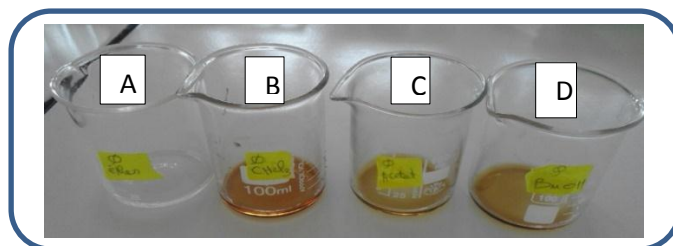
✓ **Stérols et triterpènes**

Figure 38 : Résultats de test des stérols et triterpènes. (A) : fraction éther de pétrole, (B) : fraction CHCl_3 , (C) : fraction Et-O-AC, (D) : fraction n-BuOH.

✓ **Glucosides**

La formation d'un précipité rouge brique indique la présence des glucosides.

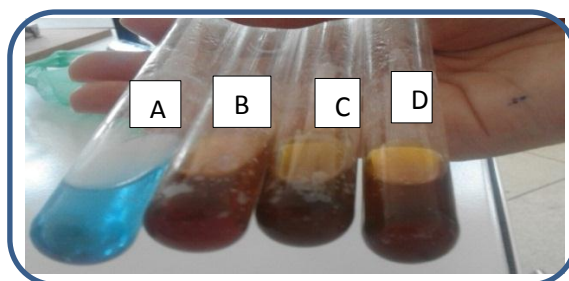


Figure 39 : Résultats de test des glucosides. (A) : fraction éther de pétrole, (B) : fraction CHCl_3 , (C) : fraction Et-O-AC, (D) : fraction n-BuOH.

✓ **Stéroïdes**

L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique la présence des stéroïdes.

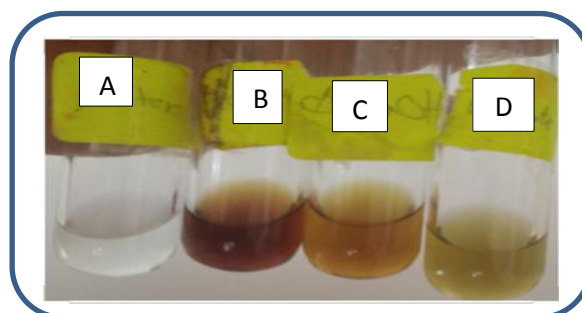


Figure 40 : Résultats de test des stéroïdes. (A) : fraction éther de pétrole, (B) : fraction CHCl_3 , (C) : fraction n-BuOH, (D) : fraction Et-O-AC.

✓ Anthraquinones

L'apparition d'un anneau rouge indique la présence des anthraquinones avec une réaction moyennement positive.

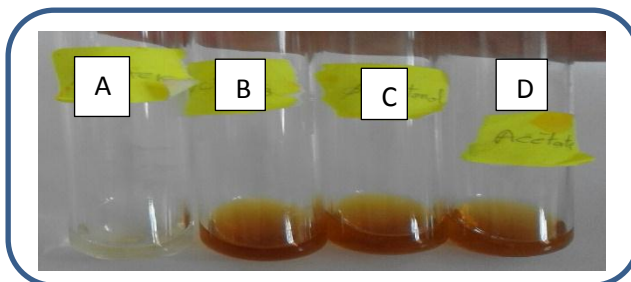


Figure 41 : Résultats de test des Anthraquinones. (A) : fraction éther de pétrole, (B) : fraction CHCl_3 , (C) : fraction n-BuOH, (D) : fraction Et-O-AC.

✓ Quinones libres

La révélation des quinones libres est indiquée par l'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violette.

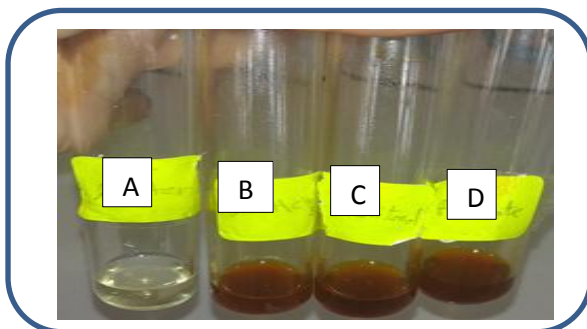


Figure 42 : Résultats de test des quinones libres. (A) : fraction éther de pétrole, (B) : fraction CHCl_3 , (C) : fraction n-BuOH, (D) : fraction Et-O-AC.

✓ Coumarines

L'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarine.

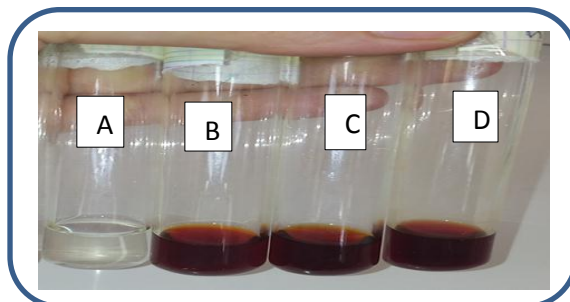


Figure 43 : Résultats de test des coumarines. (A) : fraction éther de pétrole, (B) : fraction CHCl_3 , (C) : fraction Et-O-AC, (D) : fraction n-BuOH.

✓ Anthocyanes

L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanes.

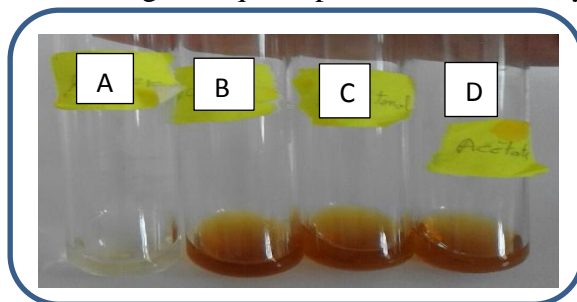


Figure 44 : Résultats de test des Anthocyanes. (A) : fraction éther de pétrole, (B) : fraction CHCl_3 , (C) : fraction n-BuOH, (D) : fraction Et-O-AC.

✓ Alcaloïdes

L'absence d'un précipité rouge-orangé indique un test négatif des alcaloïdes.

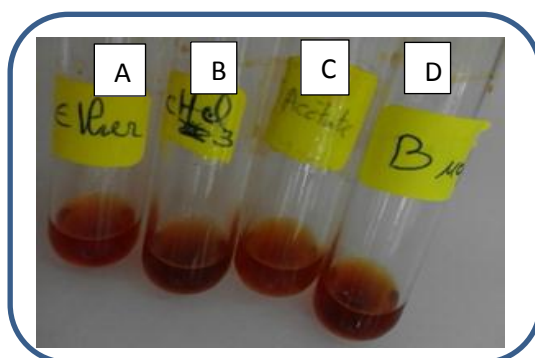


Figure 45 : Résultats de test des alcaloïdes. (A) : fraction éther de pétrole, (B) : fraction CHCl_3 , (C) : fraction Et-O-AC, (D) : fraction n-BuOH.

✓ Protéines

L'absence d'une couleur violet indique l'absence des protéines.

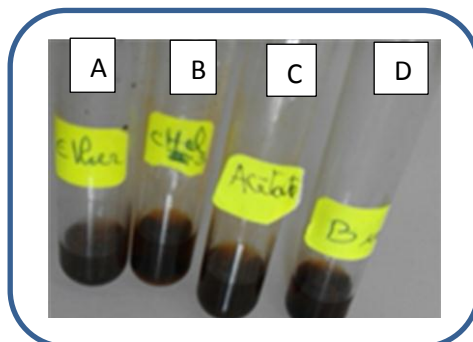


Figure 46 : Résultats de test des protéines. (A) : fraction éther de pétrole, (B) : fraction CHCl_3 , (C) : fraction Et-O-AC, (D) : fraction n-BuOH.

✓ Saponines

L'apparition d'une mousse persistante indique la présence des saponines.



Figure 47: Résultats de test des saponines, fraction éther de pétrole.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les quatre fractions d'*O.basilicum* sont reportés dans le **Tableau (IX)**.

Tableau IX : Screening phytochimique pour chaque fraction.

Métabolites secondaires	Réactions utilisées	Fractions			
		Ether de pétrole	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol
Flavonoïdes	HCl concentré +Mg	-	++	++	++
Tanins gallique	Chlorure de fer (FeCl ₃)	-	+++	+++	+++
Tanins catéchique	Réactif de Stianyl	-	++	++	++
Stérols	Chloroforme +	-	+++	++	+
Triterpènes	Anhydride acétique +H ₂ SO ₄ concentré	-	+	+	+++
Glycosides	Réactif de Fehling	-	+++	++	++
Stéroïdes	Anhydride acétyque+H ₂ SO ₄	-	-	-	++
Anthraquinones	NH ₄ OH dilué	-	++	++	++
Quinones libres	Dosage avec KOH	-	++	++	++
Coumarines	KOH dilué	-	++	++	+++

Anthocyanes	NH ₄ OH+H ₂ SO ₄	-	+	+	+
Alcaloïdes	Réactif de Wegner	-	-	-	-
Protéines	Réaction de biuret	-	-	-	-
Saponine	mousse	+++	-	-	-

Les résultats ont été évalués comme suit : (+++) : Fortement positif ; (++) : Moyennement positif ; (+) : Positif ; (-) : Négatif.

II.2.1.2. Discussion

D'après les résultats d'analyse phytochimique obtenu pour chaque fraction de partie aériens d'*O.basilicum L* présenté précédemment nous avons constaté que la plante étudiée est riche en flavonoïdes, tanins galliques, tanins catéchiques, quinones libres, stérols, glucosides et coumarines, les triterpènes, anthraquinones, anthocyanes, dans les fractions (chloroformes, acétate d'éthyle, n-butanol) et absent dans la fraction éther de pétrole.

Par contre les alcaloïdes et les protéines sont absents dans nos fractions. Les stéroïdes apparaissent uniquement dans la fraction n-BuOH. Les saponines n'existent que dans la fraction éther de pétrole.

Ce résultat est en accord avec ceux de plusieurs travaux ultérieurs qui montrent que la partie aérienne d'*O.basilicum L* est riche en composés actifs (**Phippen et Simon, 1998 ; Sakr et Wael., 2012 ; Adeola et al., 2012 ; Al-Mashri et al., 2013**).

Contrairement à ce qui est obtenu par **Karthika et al., (2017)** qui ont trouvé que la plante *O.basilicum L*, renferme aussi des alcaloïdes.

II.2.2. Chromatographique sur couche mince CCM

II.2.2.1. Résultat

Pour un essai d'analyse qualitative du contenu phénolique de nos différent fractions (EtOAc, n-buOH, CHCl₃) d'*O.basilicum L*, on a utilisé la chromatographique sur couche mince (CCM), qui est une méthode simple de séparation évidente à séparer les différents constituant d'un extrait végétal.

Après développement et l'évaporation du solvant de migration les tâches sont visualisées sous UV.

Les résultats sont montrés dans la figure et le tableau ci-dessus.

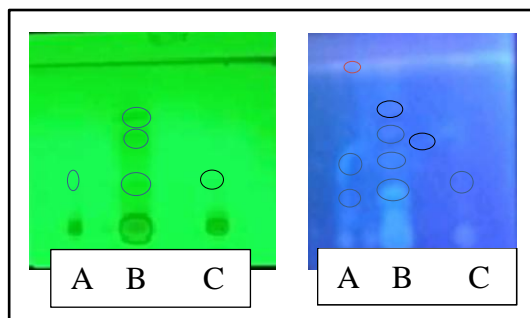


Figure 48 : Révélation de plaque CCM de gel de silice des trois fractions (A) :CHCl₃, (B) ACOEt et (C) BuOH de partie aérienne d'*O.basilicum L* sous lampe UV.

II.2.2.2. Discussion

Les plaques CCM obtenus sous les Lampe UV 254 et 357nm successivement montre que la plupart des produits aromatiques se trouvent dans la fraction ACOEt. Cependant, le rendement de la fraction n-BuOH est le plus élevé, ça nous permet de constaté que cette fraction contient les produits non cycliques comme les terpènes.

On observe aussi la présence d'un spot violet pour les rois fractions (couleur des flavonoïdes) et un spot rouge (ça peut être de la chlorophylle).

Une quantité importante de substances ne migre pas, cela nous amène à penser aux glycosides.

II.3. Analyse quantitative

Les composés phénoliques sont considérés comme des métabolites secondaires bioactifs, dotés de capacité antioxydant et antibactérienne, plus particulièrement les polyphénols totaux, les flavonoïdes. Ces composés ont fait le sujet de nombreuses études récentes dans le domaine de la thérapeutique. Pour ces raisons, des dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont été effectués pour les fractions préparés. On a utilisé la méthode spectroscopique, qui nous permet de déterminer la concentration des composés phénoliques et flavonoïdes, en utilisant les équations des régressions linéaires des courbes d'étalonnage.

II.3.1. Résultat

❖ Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (extrait de référence) à différentes concentrations.

La formule de la régression linéaire de cette courbe d'étalonnage est de : $y = 8,5929x + 0,0367$ avec un coefficient de corrélation R^2 égal à **0.9937**.

Avec :

Y : Valeur d'absorbance.

x : Concentration d'étalon en mg/ml.

R² : Coefficient de corrélation.

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans **la Figure (49)**.

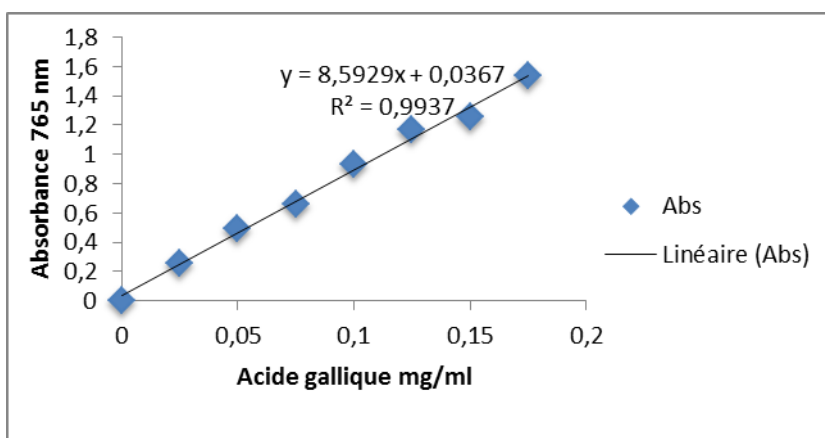


Figure 49 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La quantité des polyphénols totaux dans les trois fractions est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de fraction (mg Eq AG/g de fraction). Les valeurs obtenues sont présentés dans **le tableau (X)** :

Tableau X : Résultats du dosage des composés polyphénoliques.

Fraction	CHCl ₃	Et-O-AC	n-BuOH
Abs	1.120	1.737	1.582
Concentration (mg/ml)	0.126070	0.197873	0.179835
Concentration en Mg Eq AG /g de fraction	126.070	197.873	179.835

❖ Dosage des Flavonoïdes

Les analyses quantitatives des flavonoïdes, sont déterminées à partir de courbe d'étalonnage établies avec la quercétine (standard) avec différentes concentrations.

La formule de la régression linéaire de cette courbe d'étalonnage est de : $y = 21.14x - 0,0003$ avec un coefficient de corrélation R^2 égal à **0,998**.

La courbe d'étalonnage de quercétine est représentée dans **la Figure (50)**.

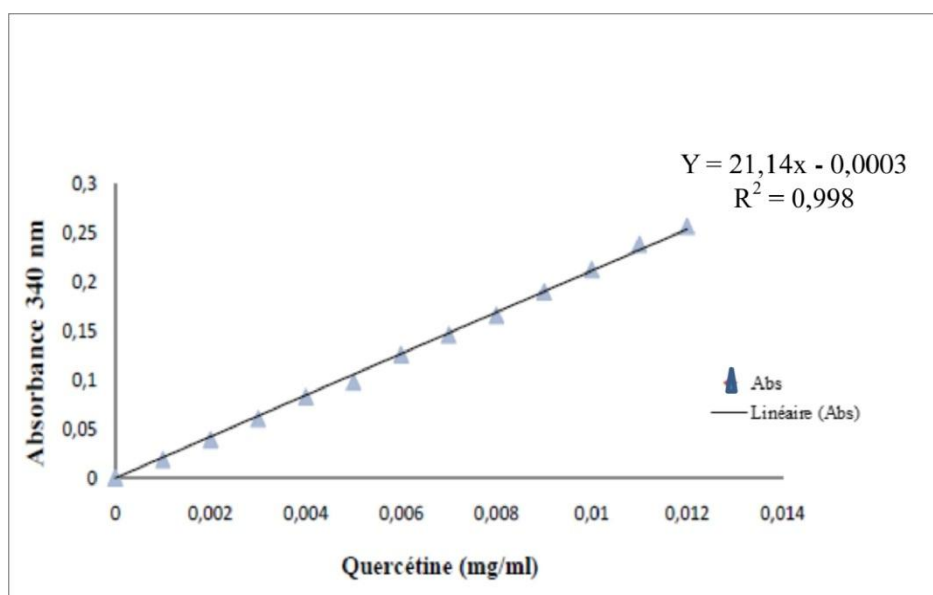


Figure 50 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les résultats de l'analyse spectrophotométrique des flavonoïdes dans les trois fractions sont représentés dans le **tableau (XI)** où les concentrations sont exprimées en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de fraction (mg Eq Qu/g de fraction).

Tableau XI : Résultats du dosage des flavonoïdes.

fraction	CHCl ₃	Et-O-AC	n-BuOH
Abs	0.388	0.4172	0.397
Concentration (mg/ml)	0.018340	0.019721	0.018766
Concentration en mg Eq Qu /g de fraction	18,340	19,721	18,766

Les résultats de dosage sont rassemblés dans la figure **la figure 51**.

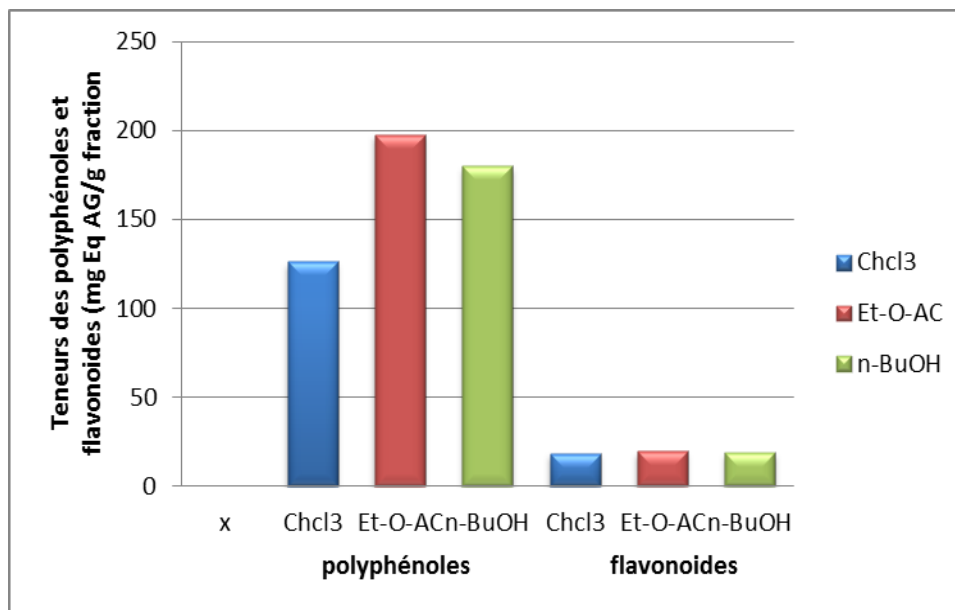


Figure 51 : Histogramme des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des fractions de partie aérienne d'*O.basilicum L.*

II.3.2. Discussion

Les résultats obtenus montrent que la partie aérienne d'*O.basilicum L* est riche en polyphénols avec une teneur en phénols totaux pour toutes les fractions qui varie entre 126 et 198 d'équivalent d'acide gallique par gramme de fraction. Nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Kaurinovic et al., (2011)** qui ont obtenus un taux de polyphénols (9.76 mg EGA/g) pour la fraction ACOEt, suivi par la fraction(n-BuOH) avec un taux (8.45 mg EGA/g) et ensuite puis la fraction(CHCl₃) avec un valeur de (4.21 mg mg E GA/g), et presque similaires à ceux trouvées par **Rezoug et al., (2019)** (226 E GA/g d'extract).

On remarque aussi que la teneur en flavonoïdes obtenus est considérables (varie entre 18 et 20 mg Eq Qu/g) et que les valeurs sont proches pour les trois fractions. Ces résultats sont légèrement différentes a ceux enregistrées par **Kaurinovic** (23.12 mg E Qu/g (ACOEt), 19.28 mg E Qu/g (n-BuOH) et 12.98 mg E Qu/g (CHCl₃)). Cependant, ils sont inférieurs à ceux enregistrés par **Rezoug** (213 mg E Qu/g de l'extract brut).

De même, la différence de la quantité en polyphénols et en flavonoïdes peut être due à plusieurs facteurs comme montrent diverses études. En effet, le contenu polyphénolique

varie qualitativement et quantitativement dans une plante, cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

- Facteurs climatiques et environnementaux : la situation géographique (**Javanmardi et al., 2002**), la sécheresse, le sol, l'agressions et les maladies, etc (**Bentabet et al., 2014**).
- Le patrimoine génétique (**Özcan et Chalchat, 2002**) et le stade de développement de la plante (**Bentabet et al., 2014**).
- La saison de récolte, le séchage, la durée de stockage de la plante et le traitement auquel elle est soumise (**Benedec et al., 2012**).
- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Bentabet et al., 2014**).

La richesse d'*O. basilicum L.* en composés polyphénoliques nous permet de confirmer les multiples utilisations traditionnelles de cette plante.

II.4. Activité antibactérienne

Les plantes contiennent de nombreux composés bioactifs doués d'une action antimicrobienne importante, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les terpanoïdes (**Rojas et al., 1992**).

Nous avons étudié *in vitro*, le pouvoir antibactérien des fractions de partie aérienne d'*O.basilicum L* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Mueller- Hinton). Cette méthode est intensivement employée pour étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles et les extraits de plantes. (**Gülçin et al., 2004**).

DMSO a été testé comme solvant, les résultats montrent que ce dernier est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes.

D'après **Bouharb et al. (2014)**, la sensibilité à l'extrait a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- ✓ Non sensible (-) pour les diamètres moins de 8 mm.
- ✓ Sensible (+) pour les diamètres de 8 à 14 mm.
- ✓ Très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19 mm.
- ✓ Extrêmement sensible (+++) pour des diamètres plus de 20 mm.

II.4.1. Pouvoir antimicrobienne des fractions

II.4.1.1. Résultat

Les résultats de l'activité antibactérienne des fractions de la plante médicinale étudiée sont estimés en termes de diamètre (mm) de la zone d'inhibition autour des disques contenant les fractions à tester vis-à-vis de six souches bactériennes. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau (XI)**.

Tableau XII : l'activité antibactérienne des fractions d'*O.basilicum L.*

φ (mm)	Fraction	Concentration des souches (mg/ml)	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
		chloroforme	SM	12.11	8.87	-
1/2			15.55	8.19	-	15.43
1/4			32.1	16.12	14.17	9.48
1/8			29.01	14.40	10.54	9.15
1/16			16.21	11.54	10.58	8.24
acétate d'éthyle		SM	10.42	15.39	12.20	8.26
		1/2	9.74	11.75	10.42	8.76
		1/4	-	10.70	13.53	10.84
		1/8	10.53	8.80	8.68	9.61
		1/16	9.34	-	10.54	10.51
n- butanol		SM	8.06	8.93	-	8.06
		1/2	9.07	9.23	-	9.11
		1/4	8.55	10.02	-	-
		1/8	9.75	11.03	-	-
		1/16	10.01	10.59	-	-

Les résultats exprimés dans le **Tableau (XI)** montrent que les espèces bactériennes étudiées présentent des degrés de sensibilité différents vis-à-vis des fractions testés.

On remarque que les souches bactériennes *E. coli* et *B. cereus* sont présentes comme les plus sensibles aux fractions d'*O.basilicum L* quel que soit la dose. Alors que les souches bactériennes *S. aureus* et *P. aeeuginosa* sont sensible aux fractions (chloroforme et acétate d'éthyle) mais sont résistant a fraction (n-butanol).

➤ **Pouvoir antibactérien d'*O.basilicum L* vis-à-vis *Escherichia coli***

L'effet antibactérien des trois fractions phénoliques d'*O.basilicum L* à été remarqué vis-à-vis d'*E.coli*. Leurs diamètres de zones d'inhibition varient de (12.11-32.1) mm, de (9.34 -10,53) mm et de (8.06-10.01) mm pour la fraction chloroformique, acétate d'éthyle et n-butanol respectivement. A une concentration de 25 mg / ml, la fraction chloroformique présente le meilleur effet antibactérienne avec la plus grande zone d'inhibition enregistrée contre *E. coli* de 32.1mm, mais cette activité disparaît avec la dose de 25 mg/ml pour la fraction n-butanol (**Figure 52**).

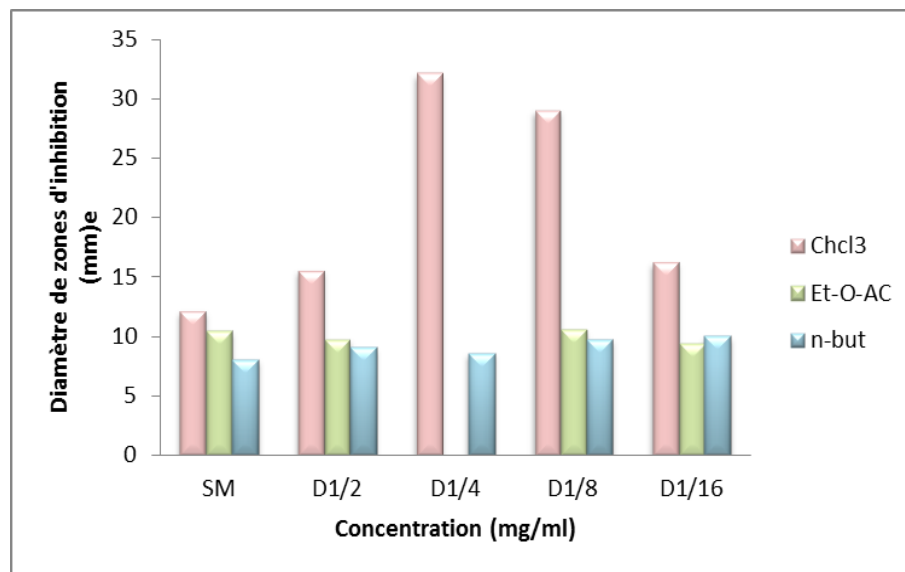


Figure 52: Le diamètre des zones d'inhibition d'*O.basilicum L* vis-à-vis d'*E. coli*.

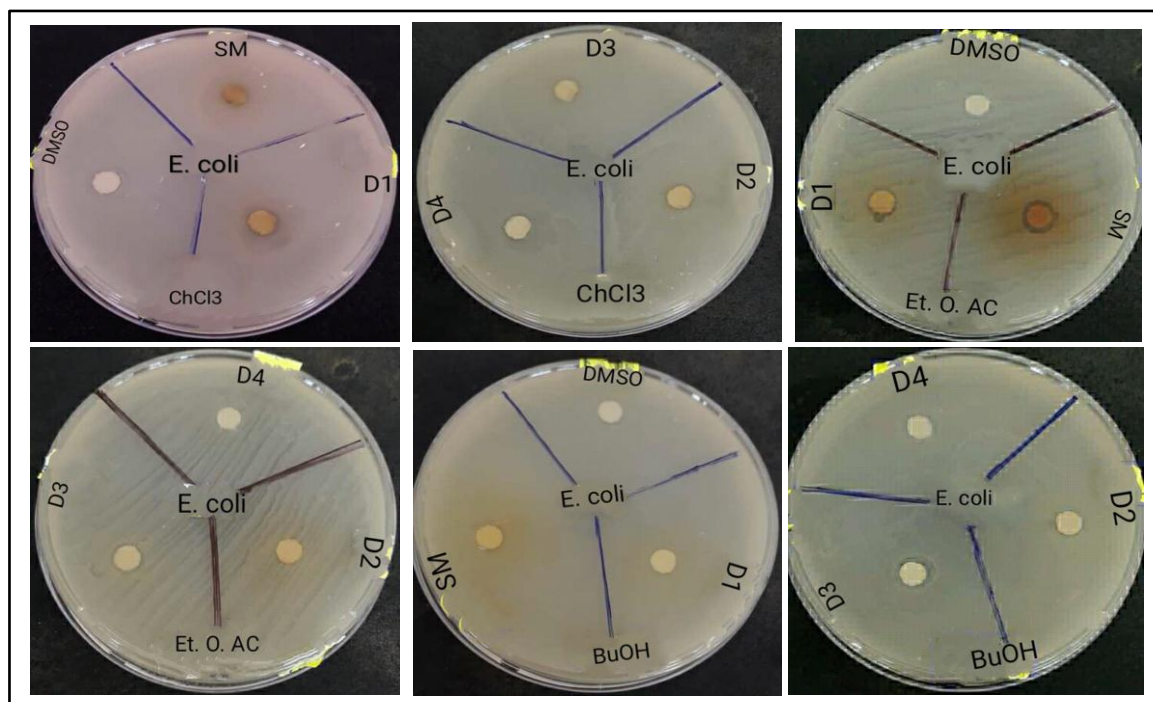


Figure 53 : Aspect des zones d'inhibition des fractions vis-à-vis *E.coli*.

➤ **Pouvoir antibactérien d'*O. basilicum L* vis-à-vis *Bacillus cereus***

La sensibilité de *Bacillus cereus* marque des diamètres d'inhibitions pour la fraction chloroformique varient entre 8.19 et 16.12 mm, pour la fraction acétate d'éthyle 8.80 et 15.39 mm et d'autre diamètres varient entre 8.93 et 11.03mm pour la fraction n-butanol.

La zone d'inhibition la plus large est de 16.12mm contre *B.cereus*, est enregistrée avec la fraction de chloroforme de dose de 25mg/ml. Cependant la fraction acétate d'éthyle a montré une zone d'inhibition 15.39 mm avec la dose de 100 mg/ml, mais cette activité disparaît avec la dose de 6.125mg/ml (**Figure 54**).

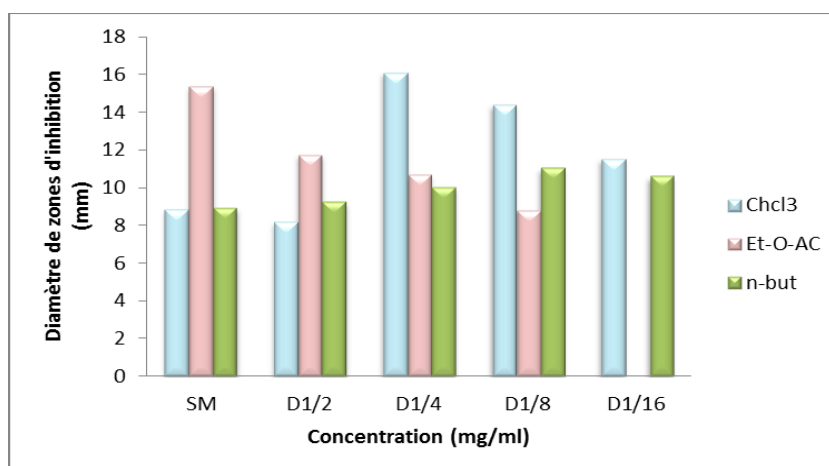


Figure 54: Le diamètre des zones d'inhibition d'*O.basilicum L* vis-à-vis de *B. cereus*.

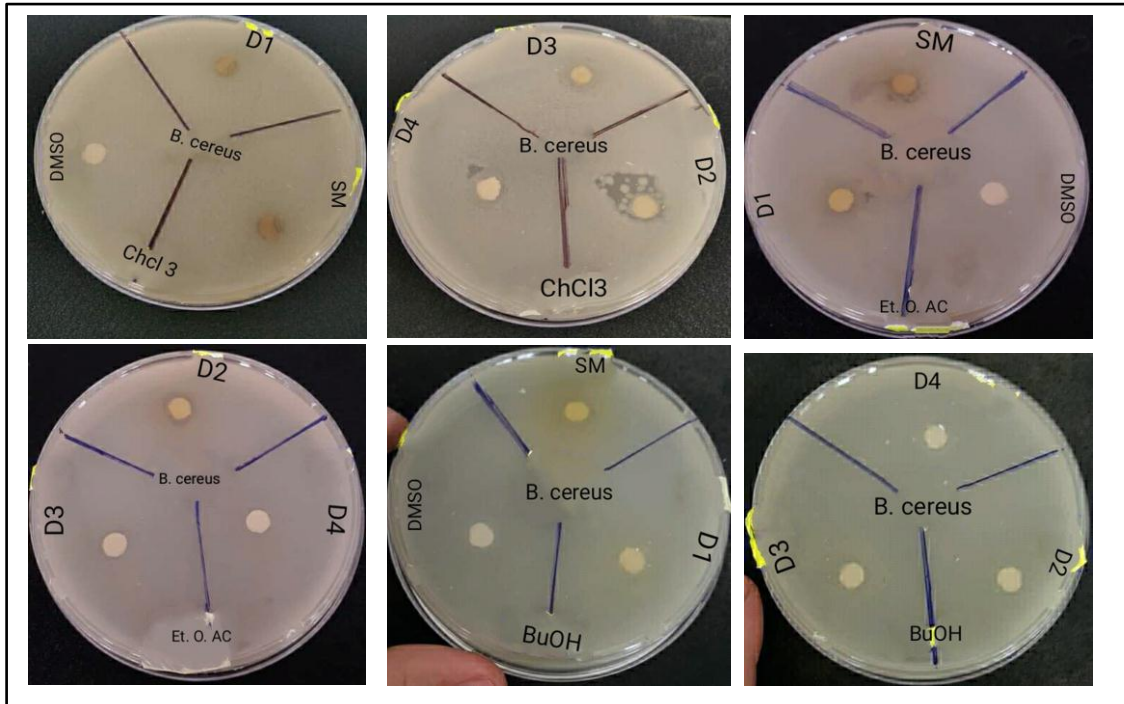


Figure 55 : Aspect des zones d'inhibition des fractions vis-à-vis *B. cereus*.

➤ Pouvoir antibactérien d'*O. basilicum L* vis-à-vis *Staphylococcus aureus*

L'effet antibactérien des fractions de partie aérienne d'*O. basilicum L* a été remarqué vis-à-vis de *S. aureus*. Leurs diamètres de zones d'inhibition varient de (10.54-14.17) mm pour la fraction chloroforme, cette activité disparaît avec les doses de 100mg/ml et de 50mg/ml, et de (8.58-13.53) pour la fraction acétate d'éthyle. Par contre la fraction n-butanol ne montre aucuns effets inhibiteurs contre *S. aureus* avec toutes les doses (Figure 56).

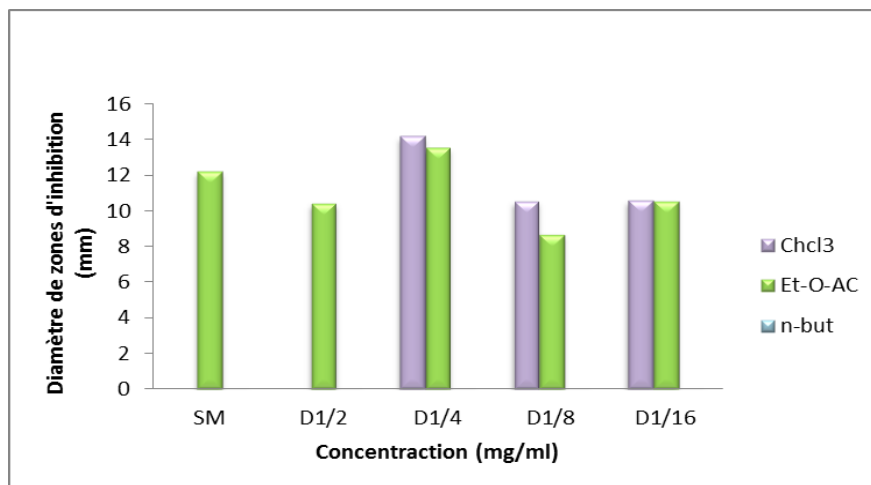


Figure 56 : Le diamètre des zones d'inhibition d'*O. basilicum L* vis-à-vis de *S. aureus*.

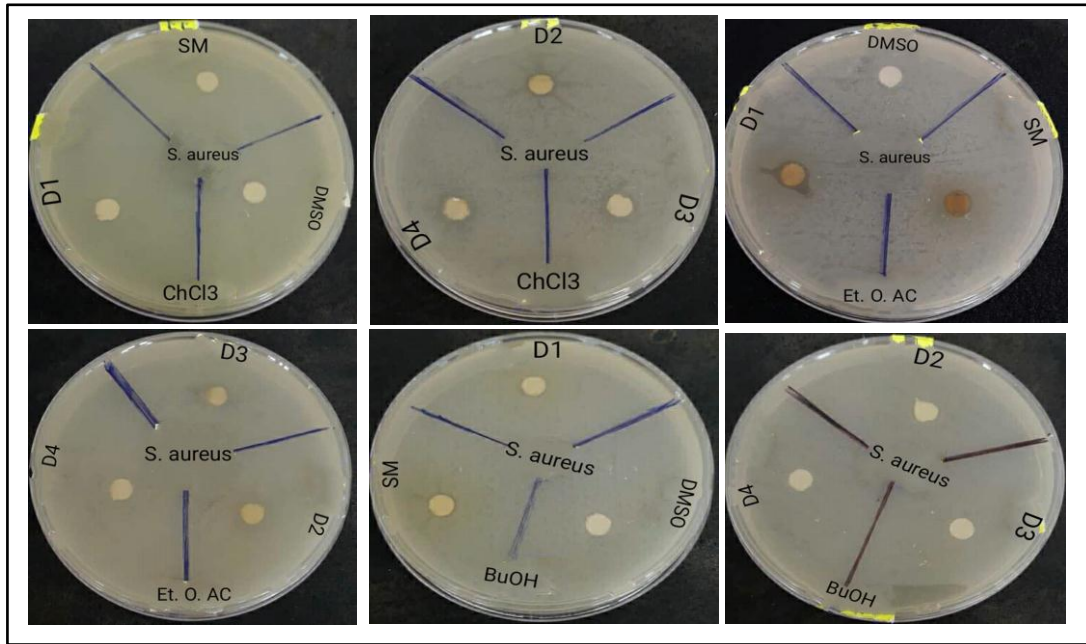


Figure 57 : Aspect des zones d'inhibition des fractions vis-à-vis *S.aureus*.

➤ **Pouvoir antibactérien d'*Ocimum basilicum L* vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa***

Les différentes concentrations de la fraction chloroforme de partie aérienne d'*O.basilicum L* affichent des effets inhibiteurs compris entre (8.24-16.95) mm avec un large zone d'inhibition de 16.95mm contre *P.aeruginosa* pour la dose 100mg/ml, ainsi que les diamètres d'inhibition de la fraction acétate d'éthyle varient entre (8.26-10.84) mm. Par contre la fraction n-batanol a montre des zone d'inhibition compris entre (8.06-9.11) avec les doses de 100mg/ml et de 50mg/ml, cette activité disparaît avec les autres doses (Figure 58).

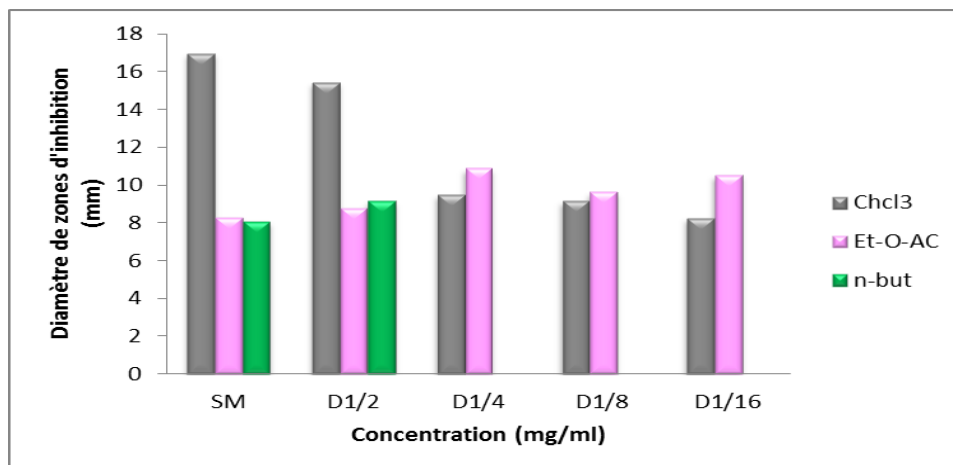


Figure 58 : Le diamètre des zones d'inhibition d'*O.basilicum L* vis-à-vis de *P. aeruginosa*.

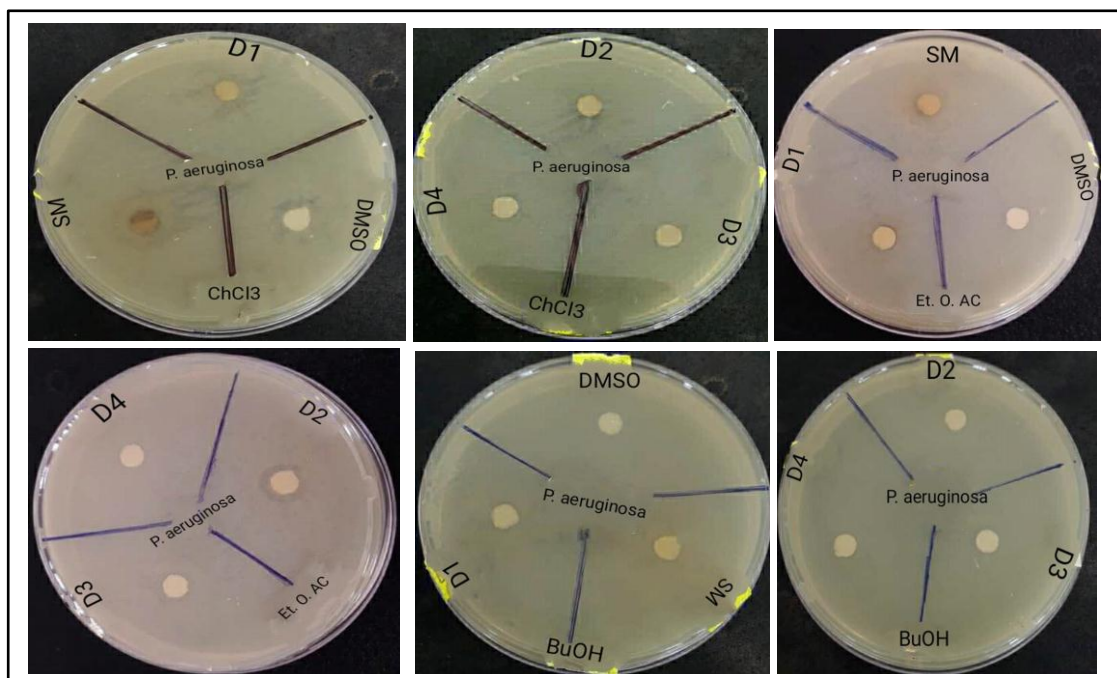


Figure 59: Aspect des zones d'inhibition des fractions vis-à-vis *P. aeruginosa*.

II.4.1.2. Discussion

Les résultats obtenus indiquent que les fractions sont présentent une certaine sensibilité vis-à-vis de tous les souches bactérienne testé avec des zones d'inhibition allant de (8.06 à 32.1) mm. La fraction chloroforme de partie aérienne d'*O.basilicum L* présente un pouvoir inhibiteur plus prononcé que les autres fractions vis-à-vis les quatre souches bactériennes testées. Cela peut être expliqué d'un part par sa teneur élevée en flavonoïdes et d'autres parts par la nature et la qualité de ces constituants phénoliques. En effet, la majorité des composés identifiés dans la plante d'*O.basilicum L* sont connus pour leurs effets antibactériennes.

Il est probable que ce résultat est due à une différence de la capacité de pénétration des composés actifs présentent dans les extraits. Chez les bactéries à Gram négatif, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace ; par contre les bactéries à Gram positif sont moins protégées contre les agents antibactériens (Belhamel, 2014).

L'étude de Karthika et al., (2017), a montré que l'extrait de basilic à différentes concentrations allant de 100, 200 et 300 µg/mL, inhibe la croissance de différentes souches bactérienne à savoir : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*.

D'après **Sanni et al., (2008)**, ils ont mentionnés que les extraits d'*O.basilicum L* avaient une activité antibiotique in vitro contre *S. aureus*, *Streptococcus spp*, *Salmonella spp*, *Shigella spp* et *P.aeruginosa* à fortes doses. Selon **Kaya et al., (2008)** indique que les extraits d'*O.basilicum L* possèdent une activité antibactérienne et qu'ils provoquent la lyse et d'éradiquer les bactéries en dégradant les parois cellulaires. Par la découverte et la purification de l'agent actif qui est présent dans l'extrait de *O. basilicum L*, il sera possible de découvrir de nouveaux médicaments naturels servant des agents chimio thérapeutiques pour le traitement des pathogènes nosocomiaux et pourrait contrôler les résistances aux antibiotiques.

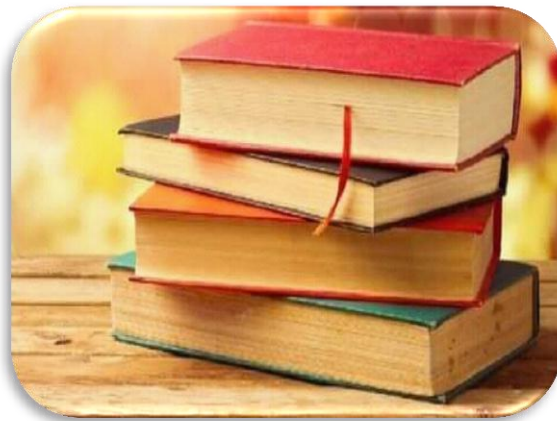
La toxicité des composés phénoliques vis-à-vis des microorganismes peut être due aux dommages au niveau de la membrane des cellules bactériennes (**Juven et Henys, 1972**), inhibition du métabolisme bactérien, la chélation des ions métalliques, la séquestration des substances nécessaires à la croissance des bactéries et les interactions avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes (**Cowan, 1999**).

L'efficacité antibactérienne d'une espèce végétale varie selon la zone géographique de la plante, la partie de la plante et la méthode d'extraction (**Özkan et al., 2009**).

En outre, la méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne, l'effet de la matrice biologique, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type des micro-organismes ciblés sont des facteurs pouvant largement influencer l'activité antibactérienne (**Cowan, 1999**).

Les activités antimicrobiennes des plantes ont été attribuées à des composants bioactifs tels que les alcaloïdes, les saponines, les tannins, les flavonoïdes, les stéroïdes et les anthraquinones (**Al-Ghamdi et al., 2020**).

Conclusion et perspectives



Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales et aromatiques représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs qualifiés de métabolites secondaires, ils possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique et activités biologiques (antioxydante et antibactérienne) des fractions d'*Ocimum basilicum L.* Cette plante a été choisie en raison de ses propriétés thérapeutiques.

L'extraction des substances bioactives de partie aérienne d'*O.basilicum L* a été effectuée par macération à froid, la détermination du rendement de l'extrait brut a montré une rentabilité égale à 20.69%. Les rendements des fractions d'*O.basilicum L* oscillent entre (0.192-1%). Cette variabilité notée entre les différentes fractions est largement liée à la méthode d'extraction appliquée. Le meilleur rendement est obtenu par la fraction n-butanol avec une valeur de 1%.

Qualitativement, l'évaluation préliminaire de la composition phytochimique de partie aérienne d'*O.basilicum L* a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires, notamment, flavonoïdes, tanins galliques, tanins catéchiques, quinones libres, stérols, glucosides et coumarines, triterpènes, anthraquinones, anthocyanes et saponines. Ces substances sont généralement responsables de l'activité biologique des extraits.

La Chromatographie sur couche mince nous a permis de révéler la présence des flavonoïdes.

Quantitativement, l'évaluation de la teneur en polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu et flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$ dans nos substrats végétaux révèlent leurs présences en quantités modérées. Leurs teneurs varient en fonction de l'organe végétal et la technique d'extraction. En effet, la fraction ACOEt a présenté la meilleure teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes avec une valeur de 197.873 mg E GA/g et 19,721mg Eq Qu/g.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur quatre souches bactériennes, selon la méthode de diffusion des disques, Les résultats indiquent la sensibilité variable et modérée des agents bactériens aux différentes fractions testées, des zones d'inhibition allant de 8.06

Conclusion et perspectives

à 32.1mm. A une concentration de 25mg/ml, les effets antibactériens les plus remarquables sont observés avec la fraction chloroformique vis-à-vis les souches à Gram négative *E.coli* (32.1 mm) et *P.aeruginosa* (19.95 mm), Néanmoins, *S.aureus* et *P.aeruginosa* sont révélées non sensible é la fraction n-butanol.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active et nécessite des études complémentaires approfondies. Ainsi, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- Analyser les fractions obtenues par des méthodes plus performantes telles que l'HPLC, CPG-SM et RMN, pour déterminer la composition exacte et les teneurs en principes chimiques des fractions de plante afin de confirmer les résultats obtenus.
- L'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne de plante et étudier d'autre activités biologiques.
- Élargir la gamme d'espèces bactériennes testées. Il est également intéressant d'utiliser des champignons et des virus.
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- Développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes, doués d'une activité antioxydante.

*Références
Bibliographiques*



Adeola SA., Folorunso OS., et Amisu KO., (2012). Antimicrobial Activity of *Ocimum basilicum* and its Inhibition on the Characterized and Partially Purified Extracellular Protease of *Salmonella typhimurium*. Res. J. Biol. Vol 2(5). P: 138-144.

Agisho H., Osie M., et Lambore T., (2014). Traditional Medicinal Plants Utilization, Management and Threats in Hadiya Zone, Ethiopia. *Journal of Medicinal Plants Studies*. Vol (2). P: 94-108.

Aït-Youcef M., (2006). « Plantes médicinales de Kabylie », Ed. Ibis Press, Paris. P : 350.

Al-Ghamdi AY., Abdalla MOM., et Fadlelmula AA., (2020). Phytochemical, Total phenolic contents, and antioxidant and antimicrobial activities of *Ocimum basilicum L.* Leaf Extract in AL-BAHA AREA, SAUDI ARABIA. *Int. J. Adv. Res.* 8(03): 526-533.

Alia B., Nasreen J., Ajjj A., Saima Naaz B., Shahida H., et SyedaH., (2012). Phytochemilal and Pharmacological Studies on *Ocimum bailicum linn* Review.(India). Vol (04) issue 23. P : 74.

Ali-Delille L., (2010). Les plantes médicinales d'Algérie. 2ème Edition. *Berti. Alger*.P:239.

Alexander J., Benford D., Cockburn A., et Cravadi JD., (2008). Tropane lkaloids from *datura sp* as undesirable substances in animal feed. *Scientific Opinion of the Panel on Contamination in the food Chain*. P: 1-55.

Al-Mashri AY., Khan MM., et Khan HS., (2013). Genetic diversity among omani basil (*Ocimum basilicum L.*) landraces using RAPD markers. *J. Agric. Res. Dev.* Vol 3(6).P: 94-97.

Amezouar F., Benaïssa M., Hsaine M., Badri W., Bourhim N., et Fougrach N., (2013). Contribution à la valorisation des ressources naturelles marocaines via une étude phytochimique et biologique des feuilles de la Bruyère arborescente (*Erica arborea L.*). *Gestion Environnementale des Produits Chimiques Proceedings GEPROC4*. P : 1-10.

Arabici O., et Bayram E., (2004). The effect of nitrogen and different plant density on some agronomic and technologic characteristic of *Ocimum basilicum L.* (Basil); *Asian Network for Scientific Information*. Vol: 3(4). P: 255-262.

B

Barata LE., Santos LS., Ferri PH., Phillipson JD., Paine A., et Croft SL., (2000). Antileishmanial activity of neolignans from *Virola* species and synthetic analogues. *Phytochemistry*. Vol : 55(6). P : 589-595.

Basli A., Chibane M. et Madani K., (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*. Vol (10). P : 2-9.

Bauer AW., Kirby WM., Sherris JC., et Turck M., (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *AM. J. Clin. Pathol.* Vol (45). P : 493-496.

Becker K., Harmsen D., Mellmann A., Meier, C., Schumann P., Peters G., et Von Eiff C., (2004). Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol: 42 (11). P: 4988-4995.

Behrooz AB., Tabatabaei Yazdi F., Mortazavi A., Zendeboodi F., Gholian MM., et Vasiee A., (2013). Effect of aqueous and ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* L. on food infection and intoxication microorganisms “*in vitro*”. *Journal of Paramedical Sciences (JPS)*. Vol.4, No.3 ISSN 2008-4978.

Bekkali F., Averbeck S., et Averbeck L., (2008). Review MI-Biological effects of essential oils. *Review Food and Chemical Toxicology*. Vol (46). P: 446-475.

Belhamel K., Meridja D., et Kheyar N., (2014). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products*. Vol 2(1).P : 23.

Références bibliographiques

BenarbaB., Belabid L., Righi K., Bekkar A., Elouissi M., Khaldi A. et Hamimed A., (2015). Ethnobotanical Study of Medicinal Plants used by Traditional Healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*. Vol(175). P: 626-637.

Benedec D., Pârvu A.E., Oniga I., Toiu A. et Tiperciuc B., (2007). Effects of *Ocimum basilicum* L. extract on experimental acute inflammation. *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Lasi*. Vol : 111(4). P : 1065-1069.

Benedec D., Vlase L., Hanganu D., et Oniga I., (2012). Antioxidant potential and polyphenolic content of Romanian *Ocimum basilicum*. *Nanomaterials and Biostructures*. 7(3).P: 1263-1270.

Benhamou D., Carrié AS., et Lecomte F., (2005). *Staphylococcus aureus* : place et impact dans la prise en charge des pneumopathies nosocomiales. *Rev Mal Respir*. Vol (22). P : 595-603.

Bentabet N., Boucherit-Otmani Z., et Boucherit K., (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Pharmacognosie*. P:1-8.

Bezanger L., Beauquesne L., Pinkas M., et Torckmeotroutin F., (1990). Plantes médicinales des régions tempérées ; Ed. Maloine.

Boggia R., Zunin P., Hysenaj V., Bottino A., et Comite A., (2015). Dehydration of Basil Leaves and Impact of Processing Composition. *Processing and Impact on Active Components in Food*. P : 645–653.

Boissier ER., Asselimean J., et Zalta JP., (1993) .les antibiotiques, structures et exemples de mode d'action .Herma .paris. P:20-57.

Boizot N., et Charpentier J.P., (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques*, INRA. P : 79-82.

Botineau M., (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs ; Ed. TEC et DOC, Lavoisier, Paris. P : 1021-1043.

Références bibliographiques

Bottine D.E., (2011). Evaluation De L'activité Antioxydante Et Antibacterienne D'une Plante Endémique Algérienne *Ampelodesma Mauritanica*. Thèse Magister. Annaba Université Badji Mokhtar. P : 90.

Bottone E.J., (2010). *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen. *Rev. April Clin. Microbiol*, 23(2), 382-398.

Bouharb H., El Badaoui K., Zair T., El amri J., Chakir S., et Alaoui T., (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences*.78.P: 6685-6693.

Bruneton J., (1993). *Pharmacognosie et Phytochimie*. Plantes médicinales. 2ème édition. Lavoisier Techniques Et Documentation, Paris.

Bruneton J., (1999). Pharmacognosie phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed. Lavoisier Tec & Doc. Paris. P : 53-484.

Bruneton J., (2009). Pharmacognosie -Phytochimie, plantes médicinales, 4ème Ed. Revue et augmentée, Tec & Doc -Éditions médicales internationales. Paris. P : 128-1243.



Chalchat J C., et Özcan M., (2008). Food Chem. Vol (110). P : 501–503.

Cheng G., Hao H., Dai M., Liu Z. et Yuan Z., (2013). Antibacterial action of quinolones: From target to network. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Vol (66). P: 555-562.

Chiang LC., Cheng PW., Chiang W., et Lin CC., (2005). Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Vol: 32(10):811. P: 6-43.

Chinnasamy S., Balakrishnan G., Kontham SV., Baddireddi SL., et Balakrishnan A., (2007). Potential anti-inflammatory properties of crude alcoholic extract of *Ocimum basilicum* L. in human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of health science*. Vol: 53(4)3 P: 500-505.

Références bibliographiques

Choi YM., Noh DO., Cho SY., Suh HJ., Kim KM., et Kim J. M., (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT- Food Science and Technology*. Vol (39). P: 756-761.

Cohen Y., et Jacquot C., (2001). Pharmacologie. 5ème Ed. Masson. Paris. P : 350.

Cowan MM., (1999). Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol (12). P: 564-582.

Croteau R., et Davis E., (2000). Enzymes de Cyclisation dans la Biosynthèses de Monoterpènes, Sesquiterpènes, *Biosynthèses*. Vol (209). P: 53-95.

Crozier A., Clifford MN., et Ashihara H., (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt. Black well Publishing Ltd.

D

Dabire C., Nebie RHC., Belanger A., Nacro M., et Sib FS., (2011). Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. Vol : 5(3). P : 1082-1095.

Daglia M., (2011). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*. Vol (23). P : 1-8.

Daglia M., (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*. Vol : 23(2).P : 174–181.

Daira N., Cherif Maazi M., et Cherfrou A., (2016). Contribution à L'Etude Phytochimique d'une Plante Médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) de l'Est Algérien. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. Vol (85).P: 276-290.

Dangles O., Stoeckel C., Wigand MC., Brouillard R., (1992). Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett.*, 33: 5227-30.

Dasgupta T., (2004). Chemomodulatory of efficacy of basil leaf (*Ocimum basilicum*) on drug metabolizing and antioxidant enzymes, and on carcinogen-induced skin and forestomach papillomagenesis. *Phytomedecine*. P:11.

Références bibliographiques

De Barros MP., Lemos M., Maistro EL., Leite MF., Sousa JPB., Bastos JK., et De Andraded SF., (2008). Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids found in Brazilian Green Propolis. *Journal of Ethno. pharmacology*. Vol (120).P: 372–377.

Delille L., (2007). « Les plantes médicinales d'Algérie », Ed. Berti. Alger. P : 47–48.

Diallo D., (2000). Ethno Pharmacological Survey of Medicinal Plants in Mali and Phytochemical Study of Four of Them: *Glinus oppositifolius* (Azoaceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetica* (Meliaceae). Thèse de Doctorat. Université de Lausanne, Suisse. P : 65-70.

Dif MM., Benchiha H., Mehdadi Z., Benali-Toumi F., Benyahia M., et Bouterfas K., (2015). Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie*. Vol : 13(5). P : 314-319.

Domenico T., Francesco C., Maria GS., Vincenza V., Mariateresa CD., Antonella S., Gabriela M., et Giuseppe B., (2005). Mechanisms of antibacterial action of Three Monoterpenes. *Antimicrobial Ag .Chemotherapy*. Vol (49). P : 2474-2478.

Donatien K., (2009). Enquête Ethnobotanique de Six Plantes Médicinales Maliennes, Extraction, Identification, Quantification de Polyphénols. Etude de Leur Activité Antioxydant. Thèse de Doctorat. Université Paul Verlaine de Metz. France. P: 21.

Dohou N., (2004). Approche Floristique, Ethnobotanique, Phytochimique et Etude de l'Activité Biologique de *Thymeleae lythroïdes*. Thèse de Doctorat. Université de Maroc. P: 59.

Douhou N., Yani K., Thahrouch S., Idrissi Hassani L. M., Badoc A., et Gmira N., (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, *Thynelaea lythroïdes*. *Bull.Soc. Pharm.Bordeaux*. Vol (142). P: 61-78.

Drobniewski F A., (1993). *Bacillus cereus* and related species. *Clin. Microbiol. Rev.* Vol: 6(4). P: 324.

Dudareva N., Andersson S., Orlova I., Gatto N., Reichelt M., Rhodes D., Boland W., et Gershenzon J., (2005). The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and

Références bibliographiques

sesquiterpene formation in snapdragon flowers. *Proceedings of the National Academy of sciences*. Vol: 102(3). P: 933–938.

Dupont F., et Guignard J L., (2012). Botanique des familles de plantes. 15ème Edition. Elsevier Masson SAS. P : 237-300.

E

Ekren S., Sönmez C., Özcalak E., Kurttas YSK., Bayram E., et Gürgülü H., (2012). The effect of different irrigation water levels on yield and quality characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum* L.). *Agricultural Water Management*. Vol (109). P : 155-161.

Elad Y., Fogel M., Silverman D., Biton S., Yitzhak S., Harari D., et Adler U., (2015). White mould of sweet basil: conditions influencing its development in greenhouses and cultural measures for disease management. *Plant Pathol* Vol (64). P : 951–960.

F

Fadili K., Zerkani H., Amalich S., et Zair T., (2017). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des feuilles et des fruits du *Capparis spinosa* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. 2429-5396. P:111.

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., et Boulaaba M., (2008). Resistant human pathogens (antimicrobial activity of ficus carica latex). *Pak. J. Pharm. Sci*. P: 53-58.

Farnsworth NR., Akerele O., Bingel AS., Soejarto DD., et Guo Z., (1986). place des plantes médicinales dans la thérapeutique, *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*, 64(2), 159-164.

G

Gamse T., (2002). Liquid - Liquid Extraction and Solid - Liquid Extraction. Institute of Thermal Process and Environmental Engineering Graz University of Technology. P : 80.

Références bibliographiques

Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martinez-Rodriguez A., et Pueyo E., (2008). Potential of phenolic compound for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*. Vol(19). P : 835-841.

Garibaldi A., Gullino ML., et Minuto G., (1997). Diseases of basil and their management. *Plant Dis*. Vol (81). P : 124–132.

Guentri-ayari S., (2019). Identification des métabolites secondaires d’*Hyoscyamus muticus* L.subsp. *falezlez* (Coss) Maire, *Solanaceae* de la région d’Adrar et étude de leurs activités antioxydante et antifongique. Thèse de doctorat. Université Houari Boumediene. P : 25-32.

Guignard JL., (2000). *Biochimie végétale*, 2ème édition. Ed Dunod. Paris. P : 169.

Guignard JL., et Dupont F., (2004). Botanique systématique moléculaire, 13ed MASSON, Belgique. P : 234-237.

Gülçin I., Kufreviöglu OI., Oktay M., et Buyukokuroglu ME., (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J. Ethnopharmacology*. 90. P: 205–215.

H

Hagerman AE., Riedl KM., Jones GA., Sovik KN., Ritchard NT., Hartzfeld PW., et Richel TL., (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. Agric. Food Chem.*, 46: 1887-92.

Hartmann T., (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Review. Phytochemistry*. Vol (68). P : 2831–2846.

Henedelle T., Sahpaz S., et Bailleul F., (2004). Polyphénols Végétaux, Sources, Utilisations Et Potentiel Dans La Lutte Contre Le Stress Oxydatif. *Phytothérapie*. Vol (1). P: 3-6.

Hesse M., (2002). Alkaloids, nature’s cruse or blessing? *Helvetica. Chimica. Acta*. Verlag and Wiley. P: 239.

Références bibliographiques

Hiltunen R., et Holm Y., (1999). (Essential Oil of Ocimum), Basil: the genus Ocimum, Harwood Academic Publishers, The Netherlands P: 77.

Hodgson JM., et Croft KD. (2010). Tea flavonoids and cardiovascular. Health *Molecular Aspects of Medicine*. Vol (31). P: 495–502.

Hopkins WG., (2003). Physiologie végétale. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier S. A. Paris. P : 514.

Hossain MA., Kabir MJ., Salehuddin SM., Rahman SM., Das AK., Singha SK., Alam MK., et Rahman A., (2010). Antibacterial properties of essential oils and methanol extracts of sweet basil *Ocimum basilicum* occurring in, Bangladesh. *Pharm Biol*;48(5):11-405.

Hubert R., (2007). Les plantes aromatique et huiles essentielles à Grasse, Quatrième partie : les Lamiacée, Les basilics’’*Ocimum ssp*’’, ‘’Botanique- culture-chimie-production et marché’’ ; Ed. L’Harmattan, France. P : 414.

Hussain AI., Anwar F., Sherazi STH., et Przybylski R., (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem*. Vol (108). P: 986-995.



Ibrahim IS., et Alim Zage AU., (2016). Phytochemistry of methanolic and aqueous extracts of *Eucalyptus camaldunensis* leaves, seeds and stem back. *International Journal of Advanced Academic Research | Sciences, Technology & Engineering | ISSN: 2488-9849* Vol (2). Issue 12.

Iranshahi M., Arfa P., Ramezani M., Jaafari MR., Sadeghian H., Bassarello C., et Pizza C., (2007). Sesquiterpene coumarins from *Ferula szowitsiana* and in vitro antileishmanial activity of 7-prenyloxycoumarins against promastigotes. *Phytochemistry*. Vol: 68(4). P: 554-561.

Ito C., Itoigawa M., Onoda S., Hosokawa A., Ruangrunsi N., Okuda T., Tokuda J., et Bruneton J., (2005). Chemical constituents of *Murraya siamensis*: three coumarins and their antitumor promoting effect. *Phytochemistry*. Paris. Vol: 66(5). P : 567-572.

J

Jeun JM., Annie F., et Chrystian JL., (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. P : 203-204.

Javanmardi J., Khalighi A., Kashi A., Bais HP., et Vivanco JM., (2002). Chemical Characterization of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Found in Local Accessions and Used in Traditional Medicines in Iran. *J. Agric. Food. Chem.*50. P: 5878-5883.

Juven B., et Henys Y., (1972). Studies on the mechanism of the antimicrobial action of oleuropein. *J. of Applied Bacteriology.* Vol (35). P: 559-567.

K

Kabera JN., Semana E., Mussa AR., et He X., (2014). Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* Vol (2). P: 377-392.

Karthika R., Meenatchi P., Sundaram R., et Purushothaman A., (2017). Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antibacterial Activities of Two Traditionally Used Indian Medicinal Plants. *Asian Journal of Biology.*Vol: 4(3). P: 1-11.

Kathirvel P., et Ravi S., (2012). Chemical composition of the essential oil from basil (*Ocimum basilicum* Linn.) and its *In vitro* cytotoxicity against HeLa and HEP-2 human cancer cell lines and NIH 3T3 mouse embryonic fibroblasts. *Nat Prod Res.* Vol : 26(12). P : 8-1112.

Kaurinovic B., Popovic M., Vlaisavljevic S., et Trivic S., (2011). Antioxydant capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. Extracts. *Molecules.* 16,7401-7414. P : 7403-7404.

Kaya I., Yiğit N., et Benli M., (2008). Antimicrobial Activity of Various Extracts of *Ocimum basilicum* L and Observation of The Inhibition Effect on Bacterial Cells by Use Scanning Electron Microscopy. *African Journal of Traditional. Complementary and Alternative Medicines.* Vol 5(4). P: 363-369.

Références bibliographiques

Khamouli O., et Grazza B., (2007). Détection et comparaison de composition chimique de plusieurs variétés de basilic « *Ocimum basilicum L.* » cultivées en trois régions différentes de sud d'Algérie. Mémoire d'Etudes Supérieures en Biologie. Université. kasdi Merbah. Ouargla.

Khan I., Ahmad K., Talha Khalil A., Khan J., Ali Khan Y., Shahab Saqib M., Naveed Umar M., et Ahmad H., (2015). Evaluation of antileishmanial, antibacterial and brine shrimp cytotoxic potential of crude methanolic extract of Herb *Ocimum basilicum* (Lamiaceae). *Journal of Traditional Chinese Medicine*.15 :35(3). P:316-322.

Klaas CA., Wagner G., Laufer S., Sosa S., Loggia RD., Bomme U., Pahl HL., et Merfort I., (2002). Studies on the anti-Inflammatory Activity of Phytopharmaceuticals prepared from *Arnica* flowers, *Planta. Med.* Vol (68). P: 385-391.

Kubata B., Nagamune K., Murakami N., Merkel P., Kabututu Z., Martin S K., et Ohnishi Kameyama M., (2005). Kola acuminata proanthocyanidins: a class of anti-trypanosomal compounds effective against *Trypanosoma brucei*. *International journal for parasitology*. Vol : 35(1). P: 91-103.

Küpeli E., Erdemoğlu N., Yeşilada E., et Şener B., (2003). Anti-inflammatory and antinociceptive activity of taxoids and lignans from the heartwood of *Taxus baccata L.* *Journal of Ethno. pharmacology*. Vol (89). P: 265 – 270.

Kwee EM., et Niemeyer ED., (2011). Variation phenolic composition and antioxidant properties among fifteen basil (*Ocimum basilicum L.*) cultivars. *Food Chem.* Vol (128). P: 1044–1050.

L

Lamy E., Rawel H., Schweigert FJ., Silva FC., Ferreira A., Costa AR., Antunes C., Almeida AM., Coelho AV., et Sales-Baptista E., (2011). The effect of tannins on Mediterranean ruminant ingestive behavior: the role of the oral cavity. *Molecules*. Vol (16). P: 2766-2784.

Lee SJ., Umamo K., Schibamoto T., et Lee KG., (2005). Identification of Volatils composants in basil (*Ocimum basilicum L*) And thyme Leaves (*thymus vulgaris L*) and their antioxidant properties – *Food Chemistry*; Vol (91). P : 131 -137.

Références bibliographiques

Lendvaib Zelles T., Rozsa B., et Vizie S., (2002). Vinca alkaloid enchanges morphological dynamics of dentric neocortical Layer 2/3 pyramidal cells. *Brain Research Bulletin*. Vol: 59 (4). P: 257-260.

Li Qing X., et Chiou Chang L., (2016). Basil (*Ocimum basilicum L*) Oils in « Essential oils in food preservation, flavor and safety» » edited by Preedy, Victor R. Elsevier. P: 231-238.

López M.Z et García Silverio L., (2017). An improved microscale method for extraction of phenolic acids from maize. *Plant Methods*. Vol(13). P: 81.

Lovegrove J.A., Stainer A., et Hobbs DA., (2017). Role of flavonoids and nitrates in cardiovascular health. *Proceedings of the Nutrition Society*. P: 1-13.



Macheix JJ., Fleuriet CJ., et Jay-Allemand C., (2005). Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes*. P : 4-37.

Mackee HS., (1994). Catalogue des plantes introduites et cultivées en Nouvelle-Calédonie. Deuxième édition. Flore de Nouvelle-Calédonie et Dépendances. *Muséum national d'Histoire naturelle*, Paris. Hors-série. P: 164.

Makoi J.H. J. R. et Ndakidemi P.A., (2007). Biological, ecological and agronomic significance of Plant phenolic compound in rhizosphere of the symbiotic legumes. *Afric. J. Biotech*. Vol : 6(12). P:1358-1368.

Malik MS., Sattar A., Khan SA., (1989). The fatty acids of indigenous resources from possible industrial applications. Part XVII: The fatty acid composition of the fixed oils of *Ocimum basilicum* and *Ocimum album seeds*. *Pakistan J Set Ind Res*. Vol (32). P: 207, 208.

Manachet C., Mazur A., et Scalbert A., (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*. Vol (16). P:1–8.

Références bibliographiques

Marc T., Gerard W., et Denis L., (2001). Classification des antiinflammatoires. Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4ème Edition. P: 426.

Martin S., et Andriantsitohaina R., (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*.51, P: 304-315.

Marwat SK., Rehman FU., Khan MS., Ghulam S., Naveed A., Ghulam M., et Usman K., (2011). Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of Sweet Basil- *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). *Asian Journal of Chemistry*. Pakistan. Vol.23, No.9, P: 3773-3782.

Mibindzou Mouellet A., (2005). Screening phtochimique de deux espèces de plantes : *Crotalia retusa* L (Papilionaceae) et *Hallea ciliata* Aubrev & Pellegrer (Rubiaceae) récoltées au Gabon. Thèse de Doctorat. Université de Bamako. Mali. P: 58-211.

Munier LR., (1968). La chromatographie sur couche mince : Principe et possibilités. *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles*. 16 (1-4). 12-34. P : 17.

Murray PR., Rosenthal KS. et Pfaller M.A., (2009). Medical Microbiology. Elsevier ed. Philadelphia. P: 960.

N

Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadi MS., et Ghorbani A., (2005). Labiatae Family in folk Medicine: Form Ethnobotanyto Pharmacology Iranian *Journal of Pharmaceutical Research*; Vol.2, P: 63-79.

Nauciel C., et Vildé JL., (2005). Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson. Paris. P : 5-10.

Ngom S., Diop M., Mbengue M., Kornprobst JM., et Samb A., (2014). Composition chimique et propriétés antibactériennes des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* et d'*Hyptis suaveolens* (L.) Poit récoltés dans la région de Dakar au Sénégal. *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10(4): 109-117.

Références bibliographiques

Niture SK., Rao US., et Srivenugopal KS., (2006). Chemopreventative strategies targeting the MGMT repair protein: Augmented expression in human lymphocytes and tumor cells by ethanolic and aqueous extracts of several Indian medicinal plants. *Int. J. Oncol* ; 29(5):1269-78.



Oloyede O., (2005). Chemical Profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pakistan Journal of Nutrition*. 4(6): 379-381.

Omulokoli E., Khan B., et Chhabra SC., (2000). Antiplasmodial activity of four kenyan medicinal plants. *J. Ethno. pharmacol*, 133-137.

Opalchenova G., et Obreshkova D., (2003). Comparative studies on the activity of basil—an essential oil from *Ocimum basilicum* L—against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. *Journal of Microbiological methods*, 54(1), 105-110.

Ouibrahim A., (2015). Evaluation of antibacterial activity of *Laurus Nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L., and *Ocimum Basilicum* L. from Northeast of Algeria. *African Journal Of Microbiology Research*. Vol. 7(42) P: 4968-4973.

Özcan M., et Chalchat JC., (2002). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. *Czech. J. Food. Sci.* 20. P: 223-228.

Özkan O., Aydın H., Bağcıgil AF., (2009). *Salvia verticillatave Phlomis pungens* in vitro evaluation de l'efficacité antibactérienne. *Journal de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Kafkas*, 15 (4).P: 587-590.



Papar AM., Hahn EJ., et Paek KY., (2007). Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*, 12: 607-621.

Patrick B., Jean L., et Michel S., (1988). *Bactériologie : Les bactéries des infections humaines*. 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. P: 100-274.

Références bibliographiques

Percival SL., (2004). *Microbiology of waterborne diseases*. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston. P : 480.

Phippen WB., et Simon JE., (1998). Anthocyanins in basil (*Ocimum basilicum* L.). J. Agr. Food. Chem.46. P : 1734-1738.

Pousset LJ., (2004). « Plantes médicinales d'Afrique : comment les reconnaître et les utiliser ? » ; Ed. La Calade, UE. P: 187-188.

Prasath SG., Bharathi S., et Subramanian S., (2019). Antioxidant Properties of *Ocimum basilicum* Leaves Extract: An *in vitro* study. *Der Pharmacia Lettre*. Vol 11(1). P: 33-41.

Pushpangadan P., et George V., (2012). Basil. *In: Handbook of Herbs and Spices*. Woodhead Publishing. P: 55-72.

R

Raven H., Evert RF., et Eichhorn SE., (2014). « Biologie végétale », 3e édition, De Boeck Supérieur, Rue des Minimes, 39 B-1000 Bruxelles. Paris. P: 27-31.

Reguieg L., (2011). Using medicinal plants in Algeria. *Am. J. Food. Nutr*, 1(3), 126-127.

Rezzoug M., Bakchiche B., Gherib A., Roberta A., Guido F., Kilinçarslan Ö., Mammadov R., et Bardaweel SK., (2019). Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. Vol 19. P : 1-10.

Riaz M., Qamars S., Choudhary FM., et Pack J., (1999). *Sci. Ind – Res*; Vol.6, P: 332.

Roberts CK., et Sindhu KK., (2009). Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*, 84: 705-712.

Robert D., et Catesson AM., (2000). Biologie végétale : caractéristiques et stratégie évolutives des plantes. Organisation végétative. *Wolters Kluwer France Edition*, Vol.2, P: 320.

Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., et Mata R., (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 35. P: 275-283.

Roux D., et Catier O., (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3^{ème} édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China. P: 141.



Sajjadi SF., (2006). Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L) from Iran. *DARU.*14(3). P: 128-130.

Sanni S., Onyeyili PA., et Sanni FS., (2008). Phytochemical Analysis, Elemental Determination and Some in vitro Antibacterial Activity of *Ocimum basilicum* L. Leaf Extracts. *Research Journal of Phytochemistry.* 2(2). P: 77-83.

Sakr SA., et Wael AM., (2012). Effect of leave extract of *Ocimum basilicum* on delta-methrin induced nephrotoxicity and oxidative stress in albino rats. *J. Appl. Pharm. Sci.*02 (05). P: 22-27

Scalbert A., (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry,* 30. P: 3875-3883.

Schauenberge P., (2006). Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes ; Ed. Ferdinand ; Paris. P : 396.

Sharkey TDHE., (1991). Stomatal Control Of Trace Gas Emissions. Trace Gas Emission Dy Plants. *Physiological Ecology. A Series Of Monographs, Texts, And Treatises.* Ed. Ca, Academic Press, San Diego. USA. P: 335-339.

Shasany AK., et Kole C., (2018). The *Ocimum* Genome, *Compendium of Plant Genomes.* ISSN 2199-4781. P: 1.

Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras AR., Simonic M., et Knez Z., (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry* 89. P: 191–198.

Références bibliographiques

Stalikas CD., (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and Flavonoids. Review.J. Sep. Sci. 3. P: 3268 – 3295.

Steven P., Rachel C., Martha E., Paul H., Jane S., et Peter WJ., (2004). *Microbiology of Waterborne Diseases*. Ed Elsevier Academic Press.

Stojković D., Petrović J., Soković M., Glamočlija J., Kukić-Marković J., et Petrović S., (2013). In situ antioxidant and antimicrobial activities of naturally occurring caffeic acid, p-coumaric acid and rutin, using food systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(13). P: 3205-3208.

Sullivan C., (2009). Herbes Basil (*Ocimum basilicum*). Hamilton College Seminar – Food for Thought: The Science Culture & Politics of food in springer.

Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L., et Zhang Y., (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem Toxicol.* **49**. P: 2689-2696.

Surville N., (1959). (Quelques types de plantes des principales familles Camerounaises) Office de la Recherche Scientifique et technique Outre-Mer. Institut de recherches scientifiques de Cameroun. Ed. J. & R. Sennac, Paris, France.

T

Taviano MF., Marino A., Trovato A., Bellinghieri V., Melchini A., Dugo P., et Cacciola F., (2013). *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sibth.& Sm.) Ball. “Berries” from Turkey: Comparative evaluation of phenolic profile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities. *Food and Chemical Toxicology*, 58. P: 22-29.

Trease E., et Evans W.C., (1987). *Pharmacognosie*, Billiaire Tindall. London 13th ed.

Treki AS., Merghem R., et Dehimat L., (2009). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée: *Thymus hirtus*. Sciences et Technologie. 29. P: 25-29.

Tsuchiya H., et Linuma M., (2000). Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophora flavanone G isolated from *Sophora exigua*, *Phytomedicine*. 7. P: 161-165.

U

Ulanowska K., Majchrzyk A., Moskot M., Jak bkiewicz-Banecka J. et WÂgrzyn G., (2007). Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*; 62. P: 132-135.

Uccella N., (2001). Olive biophenols : biomolecular characterization, distribution and phytoalexin histochemical localization in the drupes. *Trends Food Science and Technology*. P: 11, 315-327.

Uthurry C.A., Hevia D., et Gomez-Cordoves C. (2011). Role of honey polyphenols in health. *Journal of Api. Product and Api. Medical Science*. 3(4). P: 141-159.

V

Vermerris W., et Nicholson R., (2008). Phenolic Compound Biochemistry. 2éme Edition. *Springer*. P: 267.

Vijay P., Nivedita B., et Bellundagi A., (2013). Ethanobotany and Qualitative Phytochemical Analysis of Some Indian Medicinal Plants. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. 4. P: 59-63.

Vlase L., Daniela B., Daniela H., Grigore D., Ioan C., Bogdan S., Augustin CM., Radu SD., et Ioan T., (2014). Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities and Phenolic Profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Journal molecules*. Vol (19). P: 5490-5507.

W

Wu J., Liu Y., Tang L., Zhang F., et Chen F., (2011). A study on structural features in early flower development of *Jatropha curcas* L. and the classification of its inflorescences. *African J. Agric. Res.*6. P: 275-284.

Y

Références bibliographiques

Yves AB., Janat AMB., Boua BB., Fézan HT., et Ehouan EÉ., (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Sciences & Nature* Vol. 4 N°2. P: 217 – 225.



Ziegler J., et Facchini PJ., (2008). Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annu. Rev. Plant. Biol.* Vol (59). P: 735 – 769.

Site web

[1] : Réaliser une chromatographie sur couche mince-Maxicours. Disponible sur : <https://www.maxicours.com>.

[2] : Carte Chelroum El Aïd-ViaMichelin. Disponible sur : <https://www.viamichelin.fr>.

Annexe

Annexe

Annexe I: Préparation des solutions

- **Hydroxyde d'ammonium NH_4OH (1%) :**

NH_4OH1ml

Eau distillée.....10ml

- **Chlorure ferrique FeCl_3 (1%) :**

FeCl_31g

Eau distillée.....10ml

- **KOH :**

KOH.....1g

Eau distillée.....10ml

- **Réactif de stianyl :**

Formal déhyde.....1ml

HCL.....1ml

- **Folin-Ciocalteu :**

Folin-Ciocalteu10ml

Eau distillée.....100ml

- **Carbonate de sodium :**

Carbonate de sodium.....7.5g

Eau distillée.....100ml

- **Réactif de Wagner :**

Iodure de potassium.....2g

Iode.....1.27g

Eau distillé.....100ml

Annexe

- **Acide gallique :**

Acide gallique.....	1mg
Méthanol.....	10ml

Annexe II : Composition des milieux de culture

- **Gélose Muller-Hinton**

Mueller Hinton	38g
Eau distillée	1000ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

- **Bouillon nutritive**

Bouillon nutritive	5g
Eau distillée	1000ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

- **Gélose nutritive**

Gélose nutritive.....	5.75g
Eau distillée.....	250ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

- **Eau physiologie 0.9%**

Chlorure de Sodium	9g
Eau distillée	1000ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

Résumé

Résumé

Ocimum basilicum L connue sous le nom vernaculaire «Lahbeq» de la famille des Lamiacées, largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne. L'objectif de notre travail est l'étude phytochimique des fractions de partie aérienne de basilic et l'évaluation de l'activité antibactérienne.

L'extraction des composés phénoliques par macération a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute avec un rendement de 20,69%. La détermination du rendement des fractions a montré que les rendements varient considérablement selon les solvants d'extraction, dont la quel le meilleur rendement est enregistré par la fraction n-butanolique.

L'étude qualitative des fractions par screening phytochimique à révéler la présence de plusieurs groupes de métabolites secondaires, parmi lesquels, les flavonoïdes, les tanins, les stérols, les glycosides, les coumarines, les quinones libres, les triterpènes, les anthraquinones et les anthocyanes et les saponines. Les résultats de l'analyse par CCM ont révélés la présence des flavonoïdes. Alors que l'étude quantitative des phénols totaux, flavonoïdes a montré que la fraction acétate d'éthyle est riche en ces composés.

L'effet antimicrobien a été déterminé par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton réalisée sur quatre souches bactériennes référencées. Les résultats indiquent que la fraction chloroformique ayant une bonne pouvoir inhibitrices vis-à-vis les souches à Gram négative *E.coli* (32.1 mm) et *P.aeruginosa* (19.95) mm. Alors que, *S.aureus* et *P.aeruginosa* sont révélées non sensible é la fraction n-butanol.

Tous ces résultats mettent encourage la recherche de nouvelles molécules naturelles à caractère antioxydante et antibactérien dont le but de les investir dans les différentes industries : pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires,... etc.

Mots clés : *Ocimum basilicum* L, Fraction, Métabolites secondaires, Activité antibactérienne.

Abstract

Ocimum basilicum L known as the vernacular «Lahbeq» of the family Lamiaceae, widely used in traditional Algerian medicine. The objective of our work is the phytochemical study of airborne basil fractions and the evaluation of antibacterial activities.

Extraction of phenolic compounds by maceration resulted in a dry residue of crude extract with a yield of 20.69%. The determination of fraction yield has shown that yields vary considerably between extraction solvents, where the best yield is recorded by the n-butanol fraction.

Qualitative study of fractions by phytochemical screening to reveal the presence of several groups of secondary metabolites, among which, flavonoids, tannins, sterols, glycosides, coumarin and free quinones triterpens, anthraquinones, anthocyanins and saponins. The results of the CCM analysis revealed the presence of flavonoids. While the quantitative study of total phenols, flavonoids showed that the ethyl acetate fraction is rich in these compounds.

The antimicrobial effect was determined by the Mueller Hinton agar diffusion method on four referenced bacterial strains. The results indicate that the chloroformic fraction with a good inhibitory power vis-à-vis the Gram-negative strains *E.coli* (32.1 mm) and *P.aeruginosa* (19.95) mm. Whereas, *S.aureus* and *P.aeruginosa* are found not sensitive to the n-butanol fraction. All these results encourage the search for new natural molecules with antioxidant and antibacterial character whose purpose is to invest them in the different industries : pharmaceuticals, cosmetics, food,etc.

Key words : *Ocimum basilicum L*, fraction, secondary metabolites, Antibacterial activity.

الملخص

Ocimum basilicum L المعروف بالاسم العام "الحبق" من العائلة الشفوية، يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي الجزائري. الهدف من عملنا هو الدراسة الفيتوكيميائية النباتية لأجزاء الحبق الهوائية وتقييم نشاط المضاد للبكتيريا.

استخلاص المركبات الفينولية عن طريق النقع أعطت بقايا جافة من المستخلص الخام بعائد 20.69% وأظهر تحديد محصول المستخلصات أن المحصول يختلف اختلافاً كبيراً اعتماداً من مذيب الى اخر ، حيث تم تسجيل أفضل محصول بواسطة جزء n- بيوتانول.

كشفت الدراسة النوعية للمستخلصات عن طريق الفحص الفيتوكيميائي النباتي عن وجود عدة مجموعات من المستقلبات الثانوية ، من بينها مركبات الفلافونويد، العفص، الستيرويدات، الجليكوزيدات، الكوماري ، الكينونات الحر، التريتارين، الانتراكينو والانتوسيانين. أظهرت نتائج تحليل CCM وجود مركبات الفلافونويد. بينما أظهرت الدراسة الكمية لمجموع الفينولات، الفلافونويد أن جزء أسيتات الإيثيل غني بهذه المركبات.

تم تحديد التأثير المضاد للمكروبات بواسطة طريقة انتشار أجار Hinton Mueller التي أجريت على أربع سلالات بكتيرية مرجعية. أشارت النتائج إلى أن مستخلص الكلوروفورم قوة مثبطة جيدة ضد السلالات سالبة الجرام *E.coli* (32.1 مم) و *P.aeruginosa* (19.95 مم). بينما ثبت أن بكتيريا *S. aureus* و *P.aeruginosa* غير حساسة لشق n- بيوتانول.

كل هذه النتائج تشجع البحث في جزيئات طبيعية جديدة ذات طبيعة مضادة للأكسدة ومضادة للبكتيريا والهدف منها هو استثمارها في صناعات مختلفة: الأدوية ، مستحضرات التجميل ، الغذاء ، إلخ.

الكلمات المفتاحية: نبات الحبق، مستخلص، المستقلبات الثانوية ، نشاط مضاد للجراثيم.

Année universitaire : 2020/2021	Présenté par : LAHDJAZI Ghania TIKOUDANE Hamida
Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne de l'<i>Ocimum basilicum.L.</i>	
<p>Résumé</p> <p><i>Ocimum basilicum L</i> connue sous le nom vernaculaire «Lahbeq» de la famille des Lamiacées, largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne. L'objectif de notre travail est l'étude phytochimique des fractions de partie aérienne de basilic et l'évaluation de l'activité antibactérienne.</p> <p>L'extraction des composés phénoliques par macération a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute avec un rendement de 20,69%. La détermination du rendement des fractions a montré que les rendements varient considérablement selon les solvants d'extraction, dont la quel le meilleur rendement est enregistré par la fraction n-butanolique.</p> <p>L'étude qualitative des fractions par screening phytochimique à révéler la présence de plusieurs groupes de métabolites secondaires, parmi lesquels, les flavonoïdes, les tanins, les stérols, les glycosides, les coumarines, les quinones libres, les triterpènes, les anthraquinones et les anthocyanes, les saponines. Les résultats de l'analyse par CCM ont révélés la présence des flavonoïdes. Alors que l'étude quantitative des phénols totaux, flavonoïdes a montré que la fraction acétate d'éthyle est riche en ces composés.</p> <p>L'effet antimicrobien a été déterminé par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton réalisée sur quatre souches bactériennes référenciées. Les résultats indiquent que la fraction chloroformique ayant une bonne pouvoir inhibitrices vis-à-vis les souches à Gram négative <i>E.coli</i> (32.1 mm) et <i>P.aeruginosa</i> (19.95) mm. Alors que, <i>S.aureus</i> et <i>P.aeruginosa</i> sont révélées non sensible é la fraction n-butanol.</p> <p>Tous ces résultats mettent encourage la recherche de nouvelles molécules naturelles à caractère antioxydante et antibactérien dont le but de les investir dans les différentes industries : pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires,... etc.</p>	
Mots clés : <i>Ocimum basilicum L</i> , Fraction, Métabolites secondaires, Activité antibactérienne.	
<p>Jury d'évaluation :</p> <p>-Présidant : Dr. HadeF Saoussen (MCB- centre universitaire A.elHafidh Boussouf-Mila)</p> <p>-Examineur : Dr. Amimour Mouna (MCB- centre universitaire A.elHafidh Boussouf-Mila)</p> <p>-Promoteur : Dr. Merzouki soraya (MCB- centre universitaire A.elHafidh Boussouf-Mila)</p>	
Date de soutenance :	