

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Réf :.....

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 :

**Screening phytochimique et étude biologique d'une
plante médicinale de la flore algérienne (*Borago Officinalis*)**

Présenté par :

ANSRI Siham

DJENHI Ikram

Devant le jury :

Président : Dr. MERZOUKI Souriya (MCB) Centre universitaire de Mila

Examineur : Dr. HADEF Sawsen (MCB) Centre universitaire de Mila

Promoteur : Dr. AMIMOUR Mouna (MCB) Centre universitaire de Mila

Année Universitaire : 2020/2021

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Réf :.....

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 :

**Screening phytochimique et étude biologique d'une
plante médicinale de la flore algérienne (*Borago Officinalis*)**

Présenté par :

ANSRI Siham

DJENHI Ikram

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

Avant toutes choses, je remercie **Allah**, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force, volonté, la santé et la patience pour réaliser ce travail.

On tient à remercier très sincèrement notre promotrice de mémoire **M^{lle} Ammimour Mouna** pour l'honneur qu'elle nous a fait en dirigeant cette recherche, pour leur infinie gentillesse, patience, leur disponibilité constante et de mettre à notre disposition tous les moyens nécessaires pour la réussite de ce travail.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury:

Merzouki souriya

Hadef sawsen

A tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, par un geste, une parole, ou un conseil, on leur dit merci.

On remercie également

Le laboratoire d'analyse médicale **Mirouh** précisément le responsable de la paillasse de microbiologie **Imane** pour leur gentillesse, disponibilité, et de leur aide pour réussir notre travail

Tous nos enseignants du Centre Universitaire de Mila pour leur présence, leur aide et leurs conseils au cours de notre formation.

Dédicaces

Tout au début, je tiens à remercier le **Dieu** de m'avoir donné du courage et de patience afin de réaliser ce travail que je dédie aux personnes les plus chères au monde qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras.

Mes chers parents :

A ma très chère mère **Elatra** :

Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi et tes aides. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon père **Saleh** :

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices qui tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes sœurs : **Linda, Filissia, Lamia, Faten, Imane.**

A mon frère et sa femme : **Ibrahim, Amira**

A toute ma famille de près ou de loin.

A tous mes Amies : **Soumia, Zahira, Imane, Rihabe, Amira, Siham, Rayen, Chaima et Chahra.**



Ikram

Dédicaces

Tout au début, je tiens à remercier le DIEU de m'avoir donné du courage et de patience afin de réaliser ce travail que je dédie aux personnes les plus chères au monde qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras.

Mes chers parents :

A ma très chère mère **Khadidja** :

Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi et tes aides. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon père **Mohammed**:

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices qui tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A toute ma famille de près ou de loin.

A tous mes Amies : **Soumia, Zahira, Imane, Ikram, Chaima.**



Siham

Résumé

Notre travail vise à démontrer la richesse de *Borago Officinalis* en composés phénoliques et leur pouvoir antibactérienne. L'extraction a été effectuée en utilisant la macération par la solution hydrométhanolique (méthanol-eau) puis le fractionnement des extraits a été réalisée en utilisant l'extraction liquide-liquide (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol). Cette étape a été complétée par un screening chimique partiel suivie par le dosage des polyphénols et flavonoïdes. Alors que l'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé.

A partir du procédé de macération (100g de plante broyée), le rendement a été estimé à 16,44%, tandis que la séparation des extraits a donnée quatre extraits avec des rendements variables (éther de pétrole 0,240%, chloroforme 0.736%, acétate 0,212% et n. butanol 0.642%). L'analyse phytochimique montre que la bourrache contient des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tannins, des glucosides et peut de stérols.

- ✓ La teneur en polyphénols totaux des extraits (n-butanol, acétate d'éthyle, chloroforme) a été déterminée à l'aide d'un réactif de Folin Ciocalteu et a donné les valeurs suivants (274mgEAG/gE ; 112 mg EAG/gE ; 51 mg EAG/gE respectivement)
- ✓ La teneur en flavonoïdes des extraits (chloroforme, n- butanol, acétate d'éthyle) a été déterminée à l'aide d'un réactif de trichlorure d'aluminium et a donné les valeurs suivants (71 ,5mgEQ/gE ; 35,5mgEQ/gE ; 35,1mgEQ/gE).
- ✓ L'étude d'activité antibactérienne a noté que ceci ont montré des différents effets sur les souches testées, les zones d'inhibition variaient de (6.73mm-18mm). Où l'extrait n-butanol montre un grand effet d'inhibition (14mm-18mm) contre *Streptococcus* tandis que les deux extraits chloroforme et acétate d'éthyle ont un effet moyen d'inhibition de bactérie à une autre soit résistante ou sensible à des fortes concentrations (6.73mm-15.41mm).

Mots clés : *Borago Officinalis*, polyphénols, flavonoïdes, activité antibactérienne.

Abstract

Our work aims to demonstrate the richness of *Borago Officinalis* in phenolic compounds and their antibacterial power. The extraction was carried out using maceration with hydromethanolic solution (methanol-water) then the fractionation of the extracts was supported out using the liquid-liquid extraction (petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, n-butanol). This step was completed by a partial chemical screening followed by the determination of polyphenols and flavonoids. While the antibacterial activity of borage extracts was evaluated using the method diffusion in agar medium against the bacteria responsible for throat infection.

From the maceration process (100g of crushed plant) the yield was estimated at 16.44%, while the separation of the separation of the extracts gave four extracts with varying yields (petroleum ether 0.240%, chloroform 0.736%, acetate 0.212% and n-butanol 0.642%).

Phytochemical analysis shows that borage contains flavonoids, alkaloids, tannins, glycosides and few sterols.

- ✓ The total polyphenols content of the extracts (n-butanol, ethyl acetate, chloroform) was determined using a Folin Ciocalteu reagent and gave the following values ; (274mgEAG/gE;112mgEAG /gE ;51mgEAG/gE respectively)
- ✓ The flavonoide content of the extracts (chloroform, n- butanol, ethyl acetate) was detrminated using an aluminum trichloride reagent and gave the following values (71.5mgEQ /g E, 35.5mgEQ /g E, 35.1mgEQ/gE).
- ✓ The antibacterial activity study noted that this showed different effects on the tested strains, the inhibition zones varied from (6.73mm-18mm). where the n-butanol extract shows a large inhibition effect (14mm-18mm) against Streptococcus while the tow chloroform and ethyl acetate have a medium effects inhibition of bacteria to another resistant or sensitive to high concentrations (6.73mm-15.41mm).

Key word: *Borago Officinalis*, polyphenols, flavonoide, antibacterial activity

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تحديد المركبات الفينولية الموجودة في نبات لسان الثور *Borago Officinalis* ونشاطه ضد البكتيري. تم الاستخلاص بطريقة النقع باستخدام محلول مكون من مذيبين (الميثانول والماء) في حين فصل المستخلصات تم باستعمال طريقة الاستخلاص سائل-سائل (إثر البترول، الأسيتات، الكلوروفورم، البيثانول) ثم إجراء تحليل كيميائي للنبتة عن طريق اختبارات كيميائية. أما فيما يخص الفعالية البيولوجية فقمنا بدراسة النشاط ضد البكتيري لمستخلصات النبات ضد البكتيريا المتسببة في التهابات البلعوم والحنجرة.

ولقد تم الحصول على مستخلص خام من عملية النقع (100 غ من النبات المطحونة) والذي قدر مردوده ب 16.44%، أما فيما يخص فصل المستخلص الخام للنبتة نتج عنه أربع مستخلصات بمردودات متفاوتة (إثر البترول 0.240%، الكلوروفورم 0.736%، أسيتات 0.212%، البيثانول 0.642%).

أظهر الفحص الكيميائي النباتي إن نبات لسان الثور *Borago Officinalis* تحتوي على مادة الفلافونويد، القلويدات، والتانينات والجلوسيدات والقليل من الستيروول.

تم تحديد كمية الفينولات الكلية باستعمال محلول Folin Ciocalteu في المستخلصات الثلاثة (البيثانول، الأسيتات، الكلوروفورم) بقيم متفاوتة (274 ملغ/EAG غرام من المستخلص، 112 ملغ/EAG غرام من المستخلص، 51 ملغ/EAG غرام من المستخلص). على التوالي

أما كمية الفلافونولات باستعمال محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم في المستخلصات الثلاثة (الكلوروفورم، البيثانول، الأسيتات) بقيم متفاوتة (71.5 ملغ/EQ غرام من المستخلص، 35.5 ملغ/EQ غرام من المستخلص، 35.1 ملغ/EQ غرام من المستخلص) على التوالي.

أظهرت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الثلاثة لنبات لسان الثور تأثيرات مختلفة على السلالات التي تم اختبارها وتراوحت مناطق التنشيط ما بين (6.73 ملغ-18 ملغ) حيث أن مستخلص البيثانول له تأثير عالي على *Streptococcus* البكتيريا العقدية (14-18 ملغ)، أما الكلوروفورم والأسيتات فتأثيرهما متوسط من بكتيريا إلى أخرى منها المقاومة ومنها من تتأثر بتراكيز عالية (6.73-15.41 ملغ).

الكلمات المفتاحية: لسان الثور *Borago Officinalis*، الفينولات، الفلافونولات، نشاط مضاد البكتيريا

Table des matières

Introduction	1
Chapitre I : synthèse bibliographique	
I. les plantes médicinales.....	3
I.1. Généralités.....	3
I.2. l'efficacité des plantes entières.	3
II. Présentations de la plante étudiée.....	4
II.1. La famille de <i>Boraginaceae</i>	4
II.1.1 Utilisation traditionnel	4
II.1.2. La distribution géographique	4
II.2.Le genre <i>Borago</i>	5
II.3. L'espèce <i>Borago officinalis</i>.....	6
II.3.1.Description botanique.....	6
II.3.2. Nomenclature	7
II.3.3. Taxonomie	7
II.3.4. Ecologie.....	8
II.3.5. Mise en culture	8
II.3.6. Récolte	9
II.3.7. Propriétés chimiques.....	9
II.3.8. Histoire et usages traditionnels	10
II.3.9. Propriétés thérapeutiques.....	11
II.3.9.1.Effet bronchodilateur.....	11

II.3.9.2.Effet antiasthmatique.....	11
III. Les substances actives des plantes médicinales.....	12
III.1. les métabolites primaires.....	12
III.2. Les métabolites secondaires.....	13
III.2.1. Les composés phénoliques	14
III. 2.1.1. La biosynthèse des composé phénoliques	15
III.2.1.2. Rôles physiologiques.....	15
III. 2.1. 3. Rôles biologiques.....	16
III.2.1.4.Classification des composés phénoliques.....	17
a. Acides phénoliques.....	17
b. les coumarines	19
c. Les tannins.....	19
d. Les lignines	20
E. Les Stilbènes	21
F. les flavonoïdes	22
III.2.2. Les composés terpéniques	24
III.2.2.1. Terpénoïdes et les stéroïdes.....	24
III.2.2.2 .Stérols.....	25
III.2.2.3. Saponosides.....	25
III.2.3. Les composés azotés (les alcaloïdes).....	25
III.2.3.1. Définition	25
III.2.3 .2. Classification des alcaloïdes selon l'origine biosynthétique	26
III.2.3 .3. Rôles physiologiques	27

III.2.3 .4. Rôles biologiques.....	28
III.2.3 .5. Les alcaloïdes pyrrolizidiniques (AP).....	28
III.2.3 .6 .La toxicité des AP.....	29
IV. Activités antibactériennes	29
IV.1. Antibiotiques.....	29
IV.2. Définition de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	30
IV.3. Les méthodes de détermination de l'activité antibactérienne	30
IV.3.1 Aromatogramme.....	30
IV.3.2 Méthode de diffusion en puits	31
IV.3.3 Technique de micro-atmosphères	31
IV. 3.4 Méthode de dilution en bouillon et en gélose	31
<i>Chapitre II : Matériel et Méthodes</i>	
I. Matériels.....	33
I.1. Matériels non biologiques.....	33
I.2. Matériel biologique.....	34
I.2.1 .Séchage et conservation de la plante.....	34
I.2.2. Caractéristiques de poudre obtenue.....	34
II. Méthodes.....	35
II.1. Extraction par macération	36
II.2. Fractionnement des extraits par extraction liquide-liquide.....	37
II.2 .1.Principe	37
II.3. Détermination des rendements d'extraction.....	40
II.4. Analyse qualitative.....	40

➤ Définition du screening	41
➤ Les différents tests réalisés sur les extraits de notre plante	42
II.5. Analyse quantitative	44
II.5.1 .Dosage des polyphénols totaux (PPT) par colorimétrie (méthode de FCR).....	44
II. 5.2 .Dosage des flavonoïdes.....	47
II.6. Etude de l'activité antibactérienne des extraits	49
II.6.1. Les souches bactériennes testées.....	49
II.6.2. Principe	49
Chapitre III : Résultats et discussions	
I. Détermination des rendements d'extraction	52
I .1.Résultats et discussions	52
II. Analyse qualitative	54
II. 1. Résultats et discussions de screening	54
III. Analyse quantitative	62
III.1.Dosage des polyphénols totaux.....	62
III.1.1.Résultats et discussion	62
III.2.Dosage des flavonoïdes	64
III.2.1.Résultats et discussion.....	64
IV. Activité antibactérienne	65
IV.1.Résultats et discussions	66
Conclusion	70
Références bibliographique	

Annexes

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
N°1:	Classification botanique de <i>Borago Officinalis L</i>	8
N°2 :	Utilisation traditionnelle de la bourrache	10
N°3:	Activités biologiques des composés phénoliques	16
N°4:	Principaux acides hydroxy benzoïques	18
N°5:	Principaux acides hydroxycinnamique	18
N°6:	Principaux types de coumarines	19
N°7:	Liste des matériels non biologiques utilisés pendant la manipulation	33
N°8:	Groupes chimiques, réactifs d'identification et indicateurs utilisés	40
N°9:	Caractéristiques générales des bactéries testées	49
N°10:	Rendement de l'extrait Brut	52
N°11:	Résultats de rendement des extraits	52
N°12:	Résultats de screening phytochimique	54
N°13:	Valeur de (DO) de chaque extrait	62
N°14:	La quantité des PPT de chaque extrait	63
N°15:	Valeur de (DO) de chaque extrait	64
N°16:	La quantité des flavonoïdes de chaque extrait	64
N°17:	Résultat de la sensibilité aux extraits de <i>Borago Officinalis</i>	68

Liste des figures

Figure	Titre	Page
N°01:	Distribution géographique de la famille de <i>Boraginaceae</i>	5
N°02:	<i>Borago Officinalis</i> , bourrache	6
N°03:	Vues des différentes parties de La bourrache	7
N°04:	Les métabolites primaires des plantes	12
N°05:	Principaux groupes des métabolites secondaires des végétaux	14
N°06:	Structure chimique des polyphénols	15
N°07:	Différentes classes des polyphénols	17
N°08:	Structure des principales classes de tanins	20
N°09:	Principaux monomères constituant la lignine	21
N°10:	Structure de base des Stilbènes (trans ou cis)	22
N°11:	Structure de base d'un flavonoïde	23
N°12:	Les classes des flavonoïdes	24
N°13:	Noyau stérol	25
N°14:	Principaux types structuraux	27
N°15:	Noyau pyrrolizidine	29
N°16:	Aspect de poudres des feuilles et tiges de la bourrache	34
N°17:	Schéma général des différentes étapes du travail	35
N°18:	Macération et filtration de mélange hydr-méthanolique	36
N°19:	Evaporation de l'extrait hydrométhanolique	36
N°20:	Texture de l'extrait	37
N°21:	Décantation par l'éther de pétrole	37
N°22:	Relation classe chimique/solvant	38
N°23:	Résultat totale de la décantation	38

N°24:	Résumé des étapes de fractionnement de l'extrait brut	39
N°25:	Structure de l'acide gallique	45
N°26:	Différentes étapes du dosage des polyphénols totaux (PPT)	46
N°27:	Dosage des polyphénols totaux	46
N°28:	Préparation et lecture de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique	47
N°29:	Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes	48
N°30:	Schéma représentatif du protocole expérimental de dosage des flavonoïdes.	48
N°31:	Le rendement des extraits de <i>Borago Officinalis</i>	53
N°32:	Résultat du screening phytochimique des Alcaloïdes	55
N°33:	Résultat du screening phytochimique des Flavonoïdes	55
N°34:	Résultat du screening phytochimique des Anthraquinones	56
N°35:	Résultat du screening phytochimique des Coumarines	56
N°36:	Résultat du screening phytochimique des stéroïdes	57
N°37:	Résultat du screening phytochimique des Quinones libers	57
N°38:	Résultat du screening phytochimique des Protéines	58
N°39:	Résultat du screening phytochimique des Tannin galliques	58
N°40:	Résultat du screening phytochimique des Tannin chatéchiques	59
N°41:	Résultat du screening phytochimique des Stérols	59
N°42:	Résultat du screening phytochimique des Glucides	60
N°43:	Résultat du screening phytochimique des Saponosides	60
N°44:	Résultat du screening phytochimique des Anthocyanes	61
N°45:	Teneurs en polyphénols totaux des extraits étudiés	63
N°46:	Teneurs en flavonoïdes des extraits étudiés	65

N°47:	Exemples de la résistance des a : <i>E. Coli</i> /b : <i>Salmonella</i> /c : <i>Bacillus</i> aux trois extraits de bourrache.	66
N°48:	Exemple sur les zones d'inhibition obtenues, cas de solution mère des extraits de <i>Borago Officinalis</i>	67

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

AC : Acide

Ac OEt : Acétate d'éthyle

AP : Alcaloïdes pyrrolizidiniques

CHCl₃ : Chloroforme.

CuSO₄ : Sulfate de cuivre

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

DO : Densité optique

E.CHCl₃ : Extrait Chloroformique

E. coli : *Escherichia coli*

E.de pétrole : Ether de pétrole

FCR : Folin Ciocalteu

FeCl₃ : Chlorure ferrique

g : gramme

H₂SO₄ : Acide sulfurique

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique

H₃PMo₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique

HCL : Acide chlorhydrique

MH : Miller-Hinton.

mg : Milligramme

ml : Millilitre.

mm : Millimètre

MeOH: Méthanol

Mo₈O₂₃ : Molybdène

NaOH : Hydroxyde de sodium.

n- **BuOH** : n-Butanol

NH₄OH : Hydroxyde Ammonium

PPT : Polyphénols Totaux

R : Rendement

W₈O₂₃ : Tungstène



Introduction

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et de soigner toutes sortes des maladies (**Lee ,2004**). Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 81% de l'humanité a recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (**WHO, 2015**).Qu'elles se présentent sous la forme de tisanes, d'huiles essentielles ou de gélules.

En effet, l'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est rapportée dans les littératures antiques arabe, chinoise, égyptienne, hindou, grecque, romaine (**Anonyme, 1974**). En Afrique, le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres et nos parents de façon empirique. Pour cela les produits d'origine naturelle prennent de plus en plus une place importante dans l'industrie pharmaceutique et agronomique. En effet, un certain nombre de produits chimiques issus de la synthèse organique nécessite une pharmacovigilance en raison de leurs effets indésirables.

Afin d'apporter une justification scientifique quant à l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales (**Nacoulma, 1996**) plusieurs investigations phytochimiques ont été faites, tandis que, selon certains auteurs les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques (**Rollinger et al, 2004**). Parmi elles, les propriétés antimicrobiennes sont connues depuis l'antiquité pour lutter contre les infections antibiorésistantes et se soigner grâce à la phytothérapie et à l'aromathérapie (**OMS, 2015**). Aussi un nombre croissant des rapports confirment que beaucoup des fruits et légumes peuvent offrir une protection contre certaines maladies chroniques causées par le stress oxydatif (**Sun et al, 2009 ; Bouchouka, 2016**).

Dans l'espoir de valoriser les médicinales utilisées dans la région de *Mila*. Nous avons engagé à étudier la plante : ***Borago officinalis***, cette plante utilisée dans notre région, comme un remède des infections des amygdales (gorge).

Dont, ***Borago officinalis*** ou la **bourrache** est une plante médicinale qui a différents usages dans les domaines pharmaceutiques et industriels. Parmi les effets thérapeutiques de cette plante : action anti-inflammatoire en application local, fortifiant le cœur et réduisant

la palpitation liée à la fièvre, effet bénéfique contre la toux. Cette plante est connue comme plante haute dans les régions méditerranéennes (**Asadi et al, 2014**).

C'est pourquoi nous sommes intéressés à l'étude de *Borago officinalis* a pour objectif de confirmer l'hypothèse populaire qui dit : « que la bourrache a un effet thérapeutique contre les infections des amygdales (gorge) » et de démontrer la richesse de notre plante en métabolites secondaires et à déterminer leurs propriétés pharmacologiques particulièrement antibactériens.

Notre travail sera présenté en deux parties :

- Nous allons en premier temps présenter quelques connaissances dans la partie bibliographique sur: les plantes médicinales, les caractéristiques botaniques de la plante étudiée, leurs compositions chimiques, les métabolites secondaires, les activités biologiques antibactériennes.
- La partie expérimentale englobe deux aspects, dont le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur la caractérisation par screening phytochimique des différents métabolites secondaires. Il porte également sur le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Le second aspect est consacré à une évaluation de l'activité antibactérienne afin de déterminer l'efficacité de ces extraits contre quelques souches bactériennes notamment qui sont responsables des infections de la gorge.
- Le mémoire est achevé par une conclusion.



Chapitre I

Synthèse Bibliographique

I. Les plantes médicinales

I.1. Généralités

Depuis longtemps l'utilisation des plantes médicinales était connue pour améliorer et guérir la santé de l'homme (**Lazli et al ,2018**) soit dans l'alimentation ou comme des médicaments. Ces derniers à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques (**Dibong et al, 2011**).

Le recours à la médecine à base des plantes est profondément ancré dans notre culture. Parallèlement, toutes les cultures et les civilisations de l'antiquité à nos jours dépendent entièrement ou partiellement de la phytothérapie en raison de leur efficacité, accessibilité, disponibilité et acceptabilité (**Akharaiyi et Boboye, 2010**).

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques. (**Paul et Jean, 2001**)

I.2 l'efficacité des plantes entières

L'activité d'un végétal est communément rattachée à la présence du principe actif majoritaire qu'elle renferme. La phytothérapie, à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi «totum». Le terme de "totum" désigne l'ensemble des constituants de la plante supposés actifs, agissant en synergie et par complémentarité pour moduler, modérer ou renforcer l'activité de la drogue. Il est plus efficace que le principe actif isolé et souvent en tempère les effets secondaires. La plante dans son totum présente des potentialités d'action très variées, pour un résultat plus sûr, plus complet sur le terrain du malade (**Jean-Yves Chabrier, 2010 ; Paul et Jean, 2001**)

II. Présentations de la plante étudiée

II.1. La famille de *Boraginaceae*

Les *Boraginaceae* sont des angiospermes, comprenant 1600 espèces réparties en 110 genres, on y trouve des herbes annuelles, arbustes et arbres. Les feuilles sont souvent entières, simples, alternées et ex-stipulées, possèdent des tiges avec des poils rigides qui donnent une sensation rugueuse. Les cellules des feuilles possèdent des cristaux d'oxalate de calcium. Les fleurs, qui sont le plus souvent hermaphrodites, ont un calice à lobes imbriqués et une corolle tubuleuse campanulée, divisée en 5 lobes relativement réduits et munis d'écailles ou de poils au centre (**Bremer et al, 2003; Benamer, 2016**).

La classe des alcaloïdes pyrrolizidiniques constitue un marqueur chimio-taxonomique important des *Boraginaceae* car on le retrouve quasi systématiquement dans les genres qui forment cette grande famille (**Gandini, 2016**).

II.1.1. Utilisation traditionnelle

Les différentes parties (feuilles, fleurs et racines) de plusieurs plantes de la famille de *Boraginaceae* sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter : les blessures, les maladies de la peau (soulagement des brûlures), de la fièvre, des douleurs thoraciques, abdominales et articulaires, l'hypotension, inflammation des yeux, infection de l'oreille, arthrite. Elles présentent également des activités antispasmodiques, antibactériennes, antihelminthique, antihémorragique, antiseptique, diurétique, cataplasme aux plaies courantes et aux maladies vénériennes, etc.... (**Tiwari, 2008 ; Attard et Pacioni, 2012 ; Joshi et al, 2016**)

II .1.2. La distribution géographique

Les *Boraginaceae* ont une distribution cosmopolite. Les genres d'arbres sont pantropicales et subtropicale, tandis que les genres d'herbacées sont distribués dans le monde entier bien que particulièrement abondants dans la région méditerranéenne et en Asie tempérée chaude. Ils se produisent dans un large éventail d'habitats à partir du niveau de la mer à plus de 4000m d'altitude (**Heywood et al, 2007**).

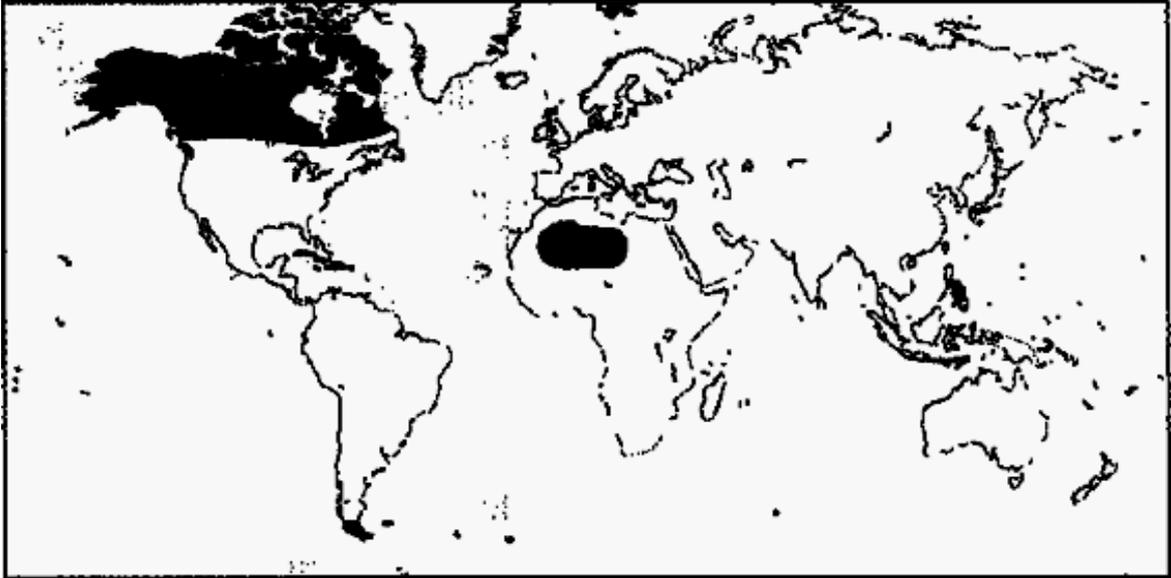


Figure 1 : La distribution géographique de la famille de *Boraginaceae*

(Heywood et al, 2007)

II.2. Le genre *Borago*

La bourache appartient au genre *Borago* vient du latin *cor ago* qui signifie « je stimule le cœur ». (Dufresne et al, 2010).

Le genre *Borago* est un petit genre botanique contenant seulement cinq espèces végétales dicotylédones appartenant à la famille des Boraginacées. Il est divisé en deux sous-genres: le sous-genre *Borago* caractérisé par des plantes herbacées dressées aux fleurs en forme de roue (*Borago Officinalis*, *Borago Trabutii*, *Borago Longifolia*) et le sous-genre *Buglossites* contenant des plantes prostrées aux fleurs lumineuses en forme de cloche (*Borago Pygmea*, *Borago Morisiana*).

Son espèce principale, *Borago Officinalis*, cultivée à des fins médicinales, s'est naturalisée dans le monde entier. On la trouve à l'état sauvage ainsi que dans de nombreux jardins, car elle est robuste, peu exigeante et se reproduit facilement.

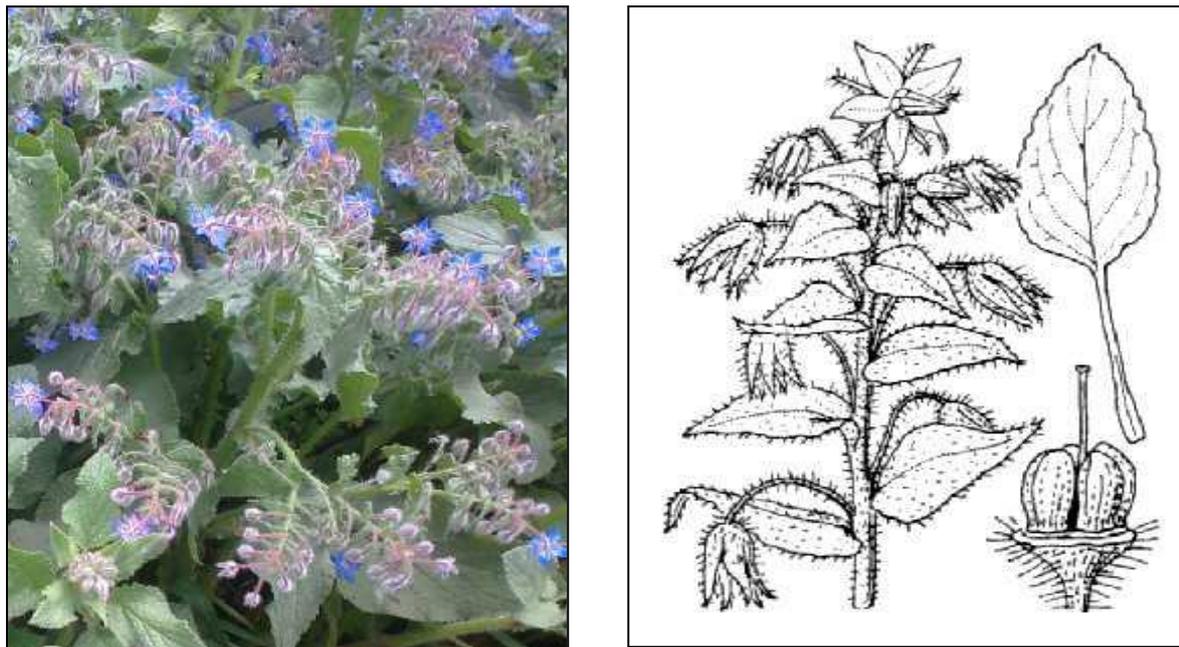


Figure 2. *Borago Officinalis*, Bourrache (Milcent, 2011)

II.3.L'espèce *Borago Officinalis*

II.3.1. Description botanique

La bourrache est une plante annuelle de 20 à 70 cm de hauteur, entièrement couverte de poils raides et piquants, ayant une tige épaisse, creuse, arrondie et striée longitudinalement. Les larges feuilles alternes portent de longs poils hérissés sur toute leur surface, ce qui est propre à la famille des boraginacées. Les parties vertes de la plante dégagent une forte odeur de concombre. Elle produit en abondance de petites fleurs en forme d'étoiles passant du violet au bleu ciel, puis au rose lorsqu'elles commencent à décliner. Celles-ci sont comestibles, mais doivent être détachées du calice velu à cinq sépales et des akènes regroupés en quatre graines au centre de la fleur. Le fruit est formé d'akènes verruqueux. La floraison s'étale généralement de Mars à Mai. Les graines brunes noirâtres dépourvues d'albumen parviennent à maturité de façon graduelle. Les fleurs sont autostériles et la pollinisation doit être assurée par les insectes.

Cette plante commune, endémique, est très répandue en lisière de forêt, sur les bords des chemins et dans les décombres. Il s'agit d'une plante à comportement héliophile, mais appartenant à une espèce qui supporte un demi-ombrage. Elle « aime » les sols assez

riches en bases au pH proche de la neutralité et ayant de bonnes réserves en eau (Beloued, 1998 ; Dufresne et al, 2010).



Figure 3 : Vues des différentes parties de La bourrache

II.3.2. Nomenclature

Nom latin : *Borago Officinalis*

Nom français : Bourrache

Nom anglais : *Borage*

Autres noms : Bourrage, Langue De Bœuf, Boursette, Pain Des Abeilles, Herbe A La Suée

Arabe : خبز النحل , بوشناف , الححم المخزني

Gujarati: Gaozaban

Hindi: Gojiva

Urdu: Gaozaban1 (Mayank et al , 2010)

II. 3.3. Taxonomie

Borago Officinalis L. de la famille des *Boraginaceae* est connu sous le nom de bourrache prend la position systématique illustrée dans le Tableau 1 (Griffiths et al, 1996 ; Mayank et al, 2010).

Tableau1: Classification botanique de *Borago Officinalis L.*

Règne	<i>Plantae</i>
Super division	<i>Spermatophyta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Boraginaceae</i>
Genre	<i>Borago L.</i>
Espèce	<i>Borago Officinalis L.</i>

II.3.4. Ecologie

C'est une plante avec une haute résistance au froid qui peut bien pousser dans des sols humides avec un bon drainage, des endroits herbeux et en pleine exposition au soleil. Elle ne peut pas tolérer les sols secs pauvres mais les conditions de croissance peuvent être meilleures dans des conditions appropriées. Elle peut également mieux pousser dans les terres exposées à un soleil modéré. Un soleil intense peut changer l'état de la plante en rosette. Cette plante peut pousser dans chaque type de sol et dans une plage de pH allant de 4,5 à 8,2. Le pH approprié pour cette plante est de 6,6. Il a été rapporté que la bourrache peut être facilement cultivée dans des sols moyens ou lourds avec de l'eau salée. En ce qui concerne son potentiel élevé de prise de sodium et de chlore, il convient probablement pour modifier les sols salés (Asadi et al, 2014).

II.3.5. Mise en culture

Cette plante est reproduite par semis et chaque graine pèse entre 17 et 19 g. La période de culture appropriée pour cette plante est au début du printemps, et elle peut également être cultivée en automne et à la fin de l'hiver. Les chercheurs ont montré que le semis précoce augmente les performances des semences par rapport au semis tardif.

L'engrais azoté augmente la longueur de la plante et l'efficacité de la production puisque les rameaux fleuris sont médicinaux, il est nécessaire de les ramasser, puis de les sécher et de les emballer selon les principes corrects. (Zargari, 1997; Ghassemi-Golezani et al, 2013 ; Mhamdi et al, 2010).

II.3.6. Récolte

La récolte s'effectue à la main, avec des gants, en coupant les parties supérieures de la tige, ce qui permet l'apparition des nouvelles ramilles. Elle est mise à sécher en couches fines, d'abord au soleil pour la faire flétrir, puis à l'ombre ou dans un séchoir à une température maximale de 40 °C. (De Borée ,2012)

II.3.7. Propriétés chimiques

L'herbe de bourrache contient 11% de mucilage, ce qui donne du glucose, du galactose et de l'arabinose comme principaux sucres, lorsqu'elle est hydrolysée. (Asadi et al, 2014)

Les tiges, ainsi que les feuilles, contiennent des mucilages. La plante contient également des flavonoïdes, des tanins, des hétérosides cyanogénétiques ; les feuilles sont riches en alcaloïdes pyrrolizidiniques (Attention, ces derniers sont hépatotoxiques). (Mayank et al, 2010).

a) tige, feuilles et fleurs

La fleur est riche en substances minérales (acide silicique et ses sels) et en mucilage neutre tel que le galacto-arabinoglucane. Des dérivés flavoniques et des anthocyanidols sont également présents.

Les tiges et feuilles renferment du mucilage, des acides-phénols tels que l'acide rosmarinique et chlorogénique. De faibles quantités d'alcaloïdes pyrrolizidiniques ont été isolées à partir des tiges, feuilles et graines. (Asadi et al, 2014)

b) Graine

Les graines permettent d'obtenir une huile grasse après extraction ou pression suivie d'un raffinage. Cette huile est riche en acides gras comme l'acide palmitique, palmitoleique, stéarique, oléique, linoléique, l' α -linoléique, γ -linoléique (évalue

pour ses bienfaits dans le traitement de l'eczéma atopique et de l'arthrite rhumatoïde) ou encore l'acide arachidonique. (Asadi et al, 2014).

II.3.8. Histoire et usages traditionnels

La plante serait d'origine africaine et serait apparue au Moyen Age. Des documents historiques montrent que les peuples des tribus Nord-Africaines l'ont transféré en Espagne puis dans d'autres régions. Cependant, la plupart des chercheurs disent que cette plante est originaire des régions méditerranéennes. Le nom bourrache est interprété de plusieurs façons ; selon l'arabe *Abou Rach* (père de la sueur), qui fait référence à ses propriétés sudorifiques. En latin, *Burra* signifie « étoffe à poils longs » et se rapporte à l'aspect velu de la plante (Dufresne et al, 2010 ; Jesus Cardenas, 2017).

Tableau 2 : utilisation traditionnelle de la bourrache.

<i>Borago Officinalis</i>	
Partie de la plante	Utilisation traditionnel
Fleurs	<p>-Selon John Gerard, la bourrache rendre l'homme gai et joyeux.il dit que « un sirop fabriqué avec des fleurs de bourrache reconforte le cœur, chasse la mélancolie, apaise l'individu agité ou lunatique ».</p> <p>-Elles présentent un intérêt dans le traitement de l'acné, de l'eczéma, des furonculoses, de l'urticaire ou des brûlures.</p> <p>-Elles ont un actif adoucissant et hydratant pour l'entretien des peaux sèches ou sensibles et possèdent des propriétés purifiantes et tonifiantes et des propriétés régénérantes, raffermissantes et restructurantes. (prévention du vieillissement et de l'apparition de ridules) (Lisa L, 2017).</p>
feuilles	<p>-Elles sont utilisées en cuisine pour agrémenter les salades et améliorer le transit intestinal, grâce aux mucilages qu'elles contiennent. (Jesus Cardenas, 2017).</p> <p>-Les feuilles de décoction sont également utilisées pour la bronchite, la toux et les infections causées par la grippe et les rhumes. aussi pour la plaie pansement. (Sokolov, 1990).</p>

Fleur, feuille et tige	<p>-Un extrait est utilisé comme antipyrétique et diurétique et pour le cœur et maladie respiratoire, problème d'estomac, troubles rénaux, rhumatismes et dépression (Sokolov, 1990).</p> <p>-Elles sont utilisées également, en médecine vétérinaire, pour soigner les maladies inflammatoires et pulmonaires des porcs et des bovins. (Lisa L, 2017).</p>
graine	<p>-L'huile de graine est reconnue pour sa propriété emménagogue ainsi que son effet fortifiant. Elle peut être utilisée en diététique comme complément alimentaire et anti-inflammatoire et cicatrisant ainsi que des propriétés anti-ichtyosiques.</p> <p>(Lisa L., 2017)</p>

II. 3.9. Propriétés thérapeutiques

La bourrache est indiquée dans le traitement de différentes pathologies respiratoires (Rhinopharyngite, Grippe, Toux, Asthme)

II.3.9. 1. Effet bronchodilatateur :

Elle est principalement utilisée au cours des affections bronchiques aiguës et permet de favoriser l'élimination rénale de l'eau. Une étude a été menée sur des lapins afin de confirmer la propriété décontractante de la bourrache. Les résultats ont montré que les effets de la Bourrache étaient comparables à ceux du vérapamil (Isoptine) (**Anwarul et al ,2006**). Donc cette plante présente un intérêt pour la vasodilatation des vaisseaux et donc peut être utilisée pour certaines maladies respiratoires, en outre une autre étude a été menée en interviewant différents habitants de village près d'Izmir (en Turquie). Dans ces villages, la bourrache est utilisée traditionnellement comme fébrifuge, sédatif et expectorant à raison d'une décoction 3 à 4 fois par jour pendant 1 semaine. (**Ilker et al ,2009**).

II.3.9. 2. Effet antiasthmatique:

Les chercheurs ont montré qu'une supplémentation en huile de bourrache (2g/ jour) chez un patient asthmatique permet d'améliorer sa respiration grâce à

l'action de l'acide linoléique et de l'acide stéaridonique qui diminuent l'inflammation bronchique. (Ziboh et al, 2004 ; Kazani et al, 2014)

III. Les substances actives des plantes médicinales

Les végétaux sont des organismes autotrophes qui peuvent synthétiser un grand nombre des molécules organiques complexe par la photosynthèse. Ce phénomène se déroule au niveau de protoplasme des cellules végétales qui donne des produits appelée : Les métabolites qui sont des molécules issus du métabolisme des végétaux .on distinguent deux sortes :

- Métabolites primaires.
- Métabolites secondaires.

III.1. les métabolites primaires :

Les plantes photosynthétiques convertissent le dioxyde de carbone (CO_2) en métabolites primaires qui sont nécessaires pour leur vitalité. Les métabolites primaires sont des molécules impliquées directement dans les grandes voies du métabolisme basal de la cellule c'est-à-dire indispensables à la survie de la cellule ou d'organisme. Ils sont divisés en trois groupes; les glucides, les lipides et les acides aminés (Konedes, 2009; Badiaga M, 2012).

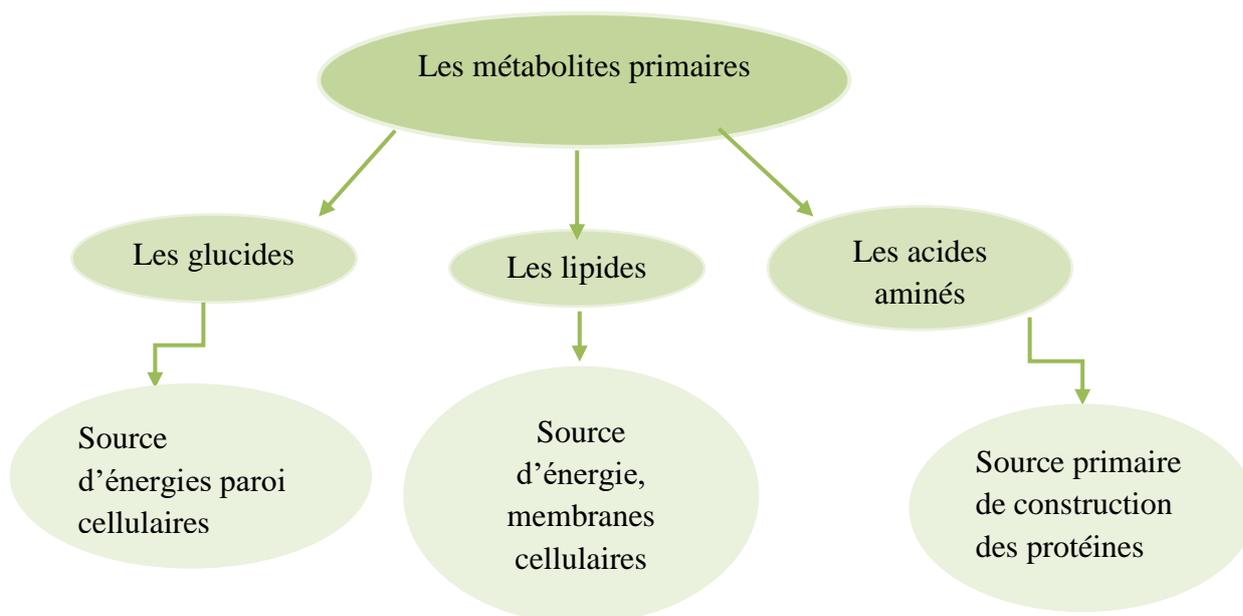


Figure 4 : Les métabolites primaires des plantes.

III.2. Les métabolites secondaires

Le terme «métabolite secondaire» est utilisé pour décrire une large gamme des composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes. Cependant, ils sont nécessaires à l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interaction plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (**Attou, 2011**). Dont plus de 200.000 structures ont été définies (**Hartmann, 2007**) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ils constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer dans de nombreuses recherches pour des propriétés antioxydants, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Epifano et al, 2007**) ils présentent une énorme valeur économique en particulier pour l'industrie pharmaceutique et en cosmétique (**West, 2010**).

Le métabolisme secondaire des plantes est lié au métabolisme primaire par cinq voies métaboliques principales: la voie de l'acide shikimique, de l'acide malonique, de l'acide mevalonique, des acides aminés et du glycéraldéhyde-3-phosphate (G3P) via la voie des pentoses phosphates (**Eltouassi, 2004**).

Ces métabolites secondaires sont classés selon leur structure chimique; on les résume en trois grandes catégories : les composés phénoliques, les isoprénoides et les composés azotés.

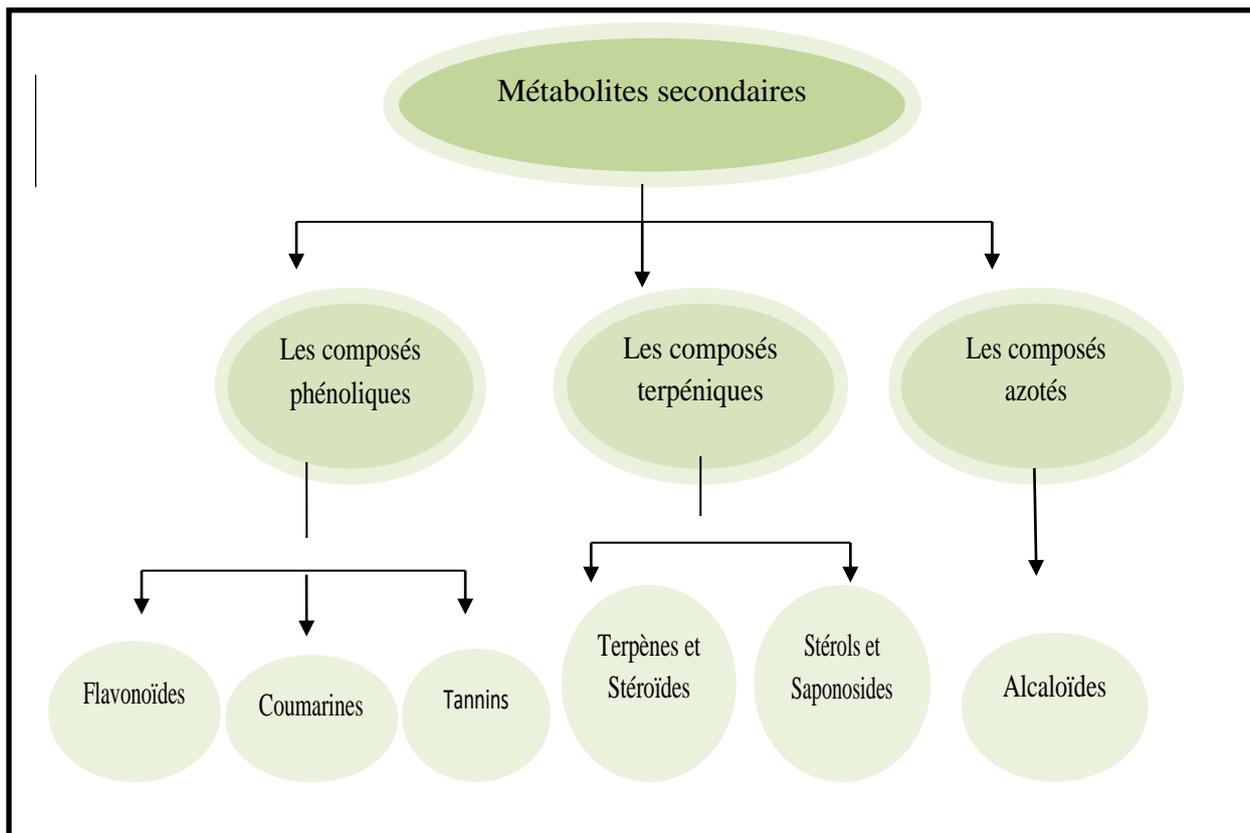


Figure5 : Principaux groupes des métabolites secondaires des végétaux

III.2.1. Les composées phénoliques :

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules. Ils n'ont été définis qu'au début des années 1980 pour caractériser une classe de plusieurs milliers de molécules bioactives présentes dans les plantes (**Bertin E, 2014**).

Ils se caractérisent par la présence d'au moins un noyau benzénique (cycle aromatique à 6 carbones) sur lequel sont présents un ou plusieurs groupements hydroxyles ($-OH$), libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Krief, 2003**)

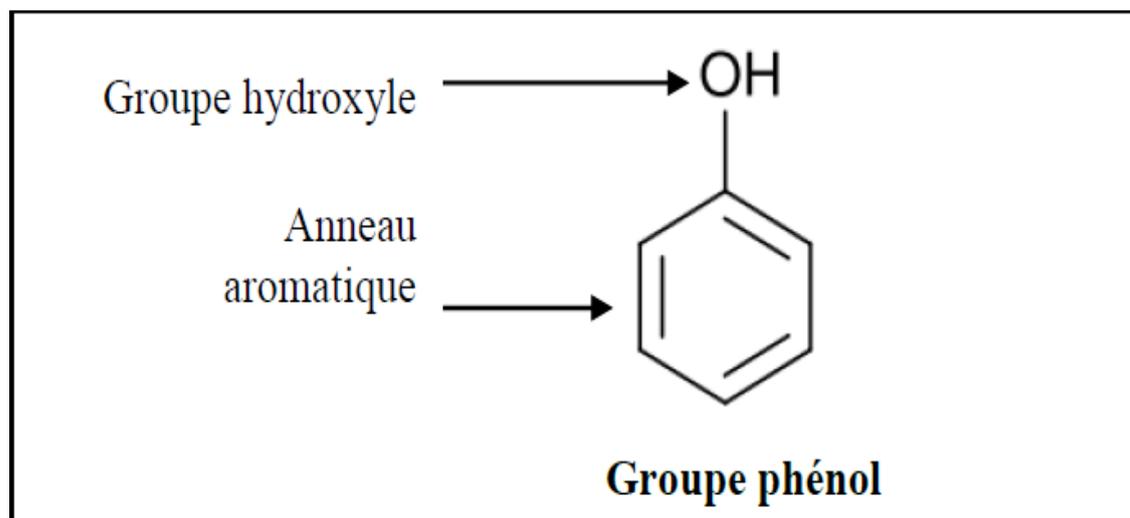


Figure 6 : Structure chimique des polyphénols (Sobiesiak, 2017).

III.2.1.1. La biosynthèse des composé phénoliques :

Les composés phénoliques sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse :

- ✓ La première est la voie de shikimate qui est la plus courante, conduit des oses aux aminoacides aromatiques (Phe, Tyr et Trp) puis par désamination de ces derniers aux acides cinnamiques et à des très nombreux dérivés : acides benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines, etc.... (Walker, 2010 ; Verdu, 2013 ; Bruneton, 2009).
- ✓ La deuxième voie est celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (poly acétates) de longueur variable menant par cyclisation (réaction de Claisen ou condensation n aldolique) à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones.

En outre, la diversité structurale des composés polyphénolique due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes. (Martin et al, 2002)

III.2.1.2 .Rôles physiologiques

- ✓ Ce sont des pigments permettant la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles ;

- ✓ Les composés phénoliques sont impliqués dans les réactions de défense contre les agents pathogènes ou le rayonnement UV.
- ✓ Ils sont engagés dans les processus de germination, floraison, tubérisation et la croissance racinaire.
- ✓ Le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance
- ✓ Composés de défense en repoussant certains insectes et prédateurs par leur goût désagréable (Kebili Z, 2016 ; Abedini A, 2014).

III.2.1. 3 .Rôles biologiques

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leur multitude propriétés biologiques. Le tableau sous-dessous résume activités biologiques des composés phénoliques.

Tableau 3: activités biologiques des composés phénoliques. (Bruneton 1999 ;Hennebelle, 2006 in Bougandoura, 2010).

Polyphénols	Activités
Acides phénols (cinnamique et benzoïques)	Antibactérienne- antifongiques – antioxydants
Coumarines	Protectrices vasculaires et antiœdémateuses
Flavonoïdes	Anti tumorales - anticarcinogènes - anti-inflammatoires -Hypotenseurs et diurétiques -antioxydants
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effet stabilisants sur les collagènes antioxydants – antitumorales – antifongiques - anti-inflammatoires
Tanins gallique et chatéchiques	Antioxydants
Lignines	Anti-inflammatoires, analgésiques

III.2.1.4. Classification des composés phénoliques

La grande diversité de ces micro constituants alimentaires a abouti à leur subdivision en catégories (deux grandes catégories : flavonoïdes et non flavonoïdes, elles-mêmes subdivisées en sous-catégories. . .)

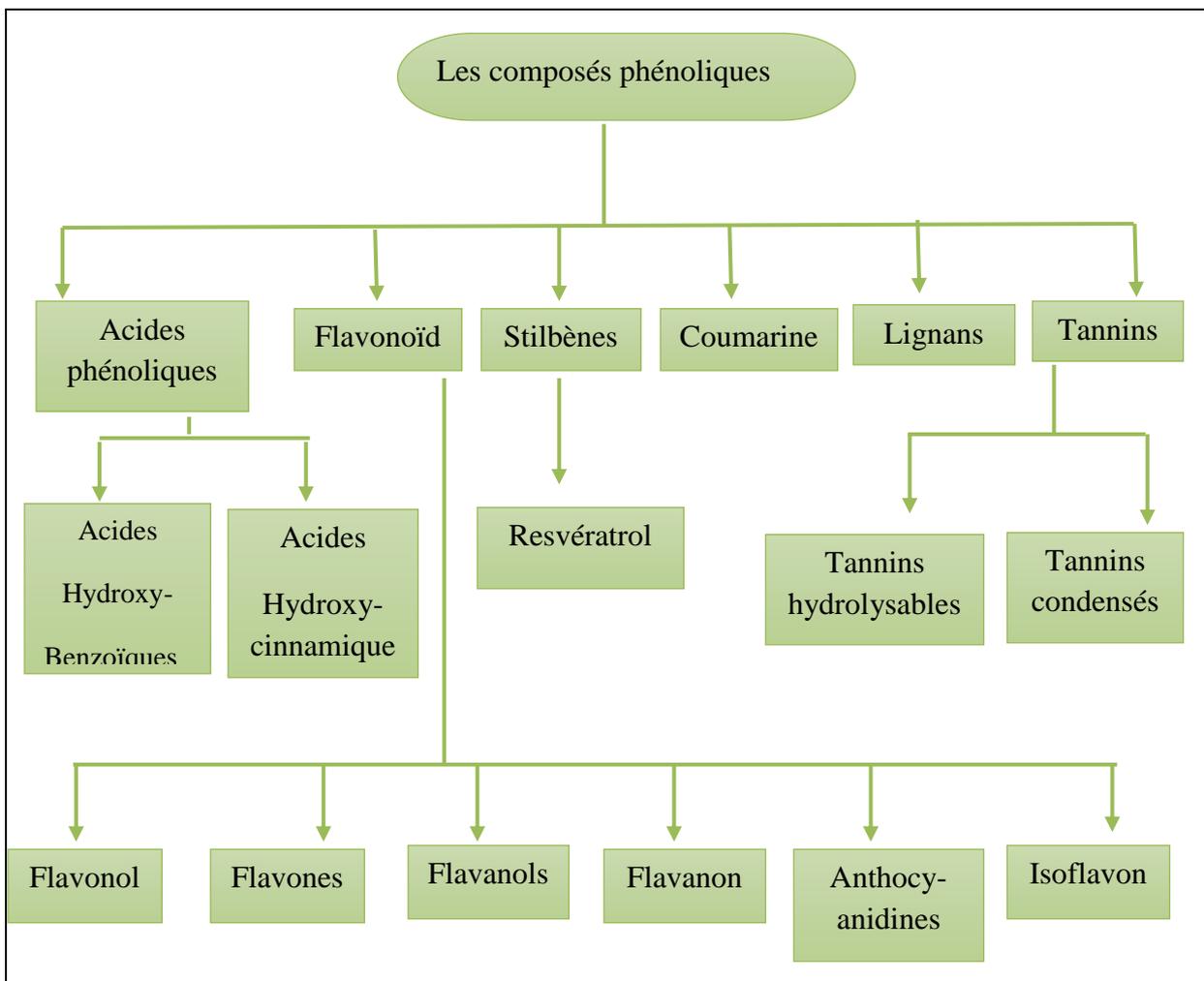


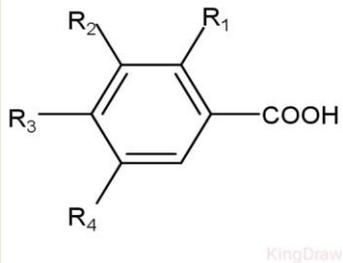
Figure7: Différentes classes des polyphénols (Watson, 2018)

a. Acides phénoliques

Un acide phénolique ou acide-phénol est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les acides phénoliques sont divisés en deux classes:

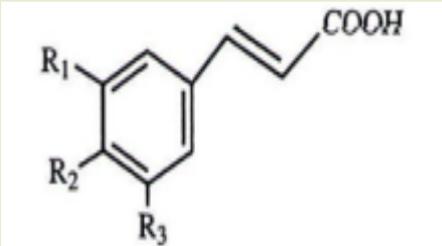
- ✓ Les acides Hydroxy benzoïques : sont dérivés de l'acide benzoïque (dérivent par hydroxylation de l'acide benzoïque) et ont une formule de base de type C6-C1.

Tableau 4: Principaux acides hydroxy benzoïques (Manach et al, 2004 ; Tsao, 2010)

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide <i>p</i> -hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatéchique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

- ✓ Les acides hydroxy cinnamiques : sont des dérivés appartiennent à la famille des phénylpropanoïdes qui représentent une classe très importante dont la structure de base (C6- C3) provient de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxy cinnamiques sont l'acide caféique, *p*-coumarique, ferulique et l'acide sinapique. (Bijalwan et al, 2016).

Tableau 5 : principaux acides hydroxycinnamique (Goodwin et Mercer, 1990 ; Macheix et al, 2005)

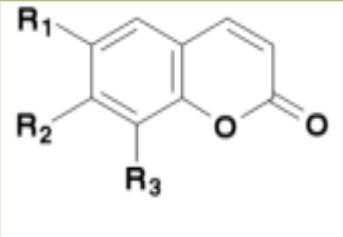
Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acides hydroxy cinnamiques
	H	OH	H	Acides <i>p</i> -coumarique
	OH	OH	H	Acides caféique
	OCH ₃	OH	H	Acides ferulique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique

b. les coumarines :

Les coumarines fut isolée de la fève tonka (*Coumarouna odorata*) pour la première fois par Vogel en 1820 (Makhloufi ,2010).

Elles sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo- α -pyrone (C6-C3), issues de la formation d'un cycle fermé à partir de l'acide hydroxycinnamique. Elles se trouvent soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres comme les hétérosides et les glycosides. Dans la cellule, les coumarines sont principalement présent se forme glycosylée. Cette glycosylation serait une forme de stockage qui permet d'éviter les effets toxiques des coumarines (Guignard J, 2000 ; Paume ,2009).

Tableau 6 : principaux types de coumarines (Richter ,1993 ; Hopkins, 2003).

Structure	R6	R7	Coumarines
	H	OH	Ombelliférone
	OH	OH	Aesculétine
	OCH ₃	OH	Scopolétine ou Scopolétol

c. Les tannins

Les tanins constituent une famille complexe de principes actifs qui se répartissent dans toutes les parties des végétaux (écorces, racines, feuilles, les fruits, etc.), ce qui leur donne un gout amer désagréable et le rend immangeables pour le bétail. Ces substances peuvent être utilisées pour tanner le cuir ou encore à des fins thérapeutiques pour traiter la diarrhée ou les irritations cutanées.

Leur structure chimique comporte toujours une partie polyphénolique, il existe deux catégories de tanins, d'origine biosynthétiques différentes; les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Pascale et Véronique, 2006 ; Guignard J, 1996).

- **Les tanins hydrolysables:**

Les tanins hydrolysables sont des esters du glucose et d'acides phénols qui sont l'acide gallique (tanins galliques) et l'acide ellagiques (tanins ellagiques) (Lucchesi M. E, 2005).

- **Les tanins condensés (tannins catéchiques)**

Les tanins, non hydrolysables sont des polymères de flavonols et de proanthocyanidols qui donnent par ébullition avec les acides minéraux dilués des composés insolubles amorphes et de couleurs rouges appelés phlobaphènes ou rouge de tanins (Lucchesi M. E, 2005).

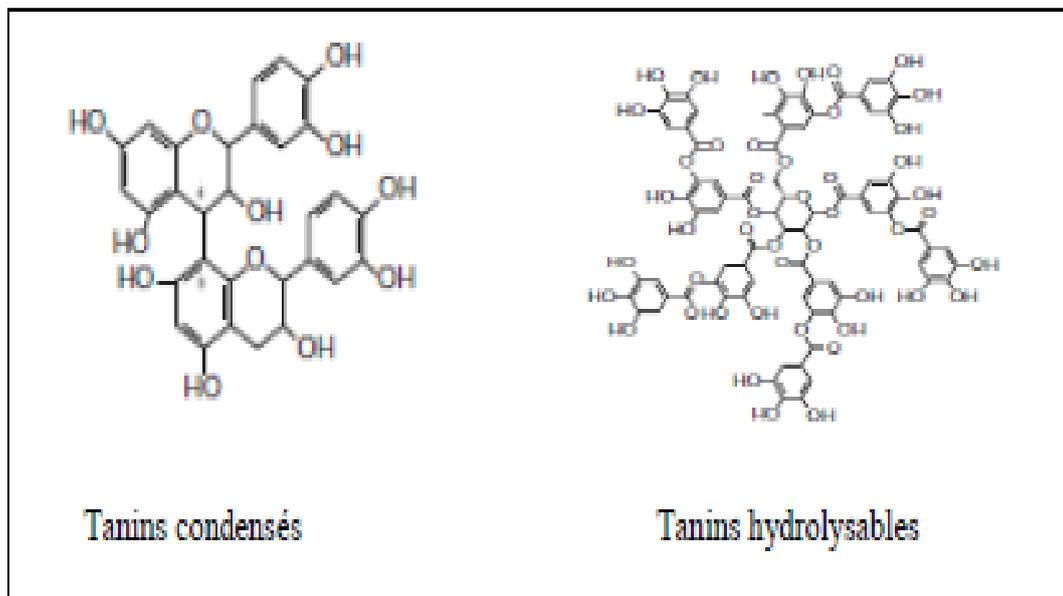


Figure 8 : Structure des principales classes de tanins (Lucchesi M. E, 2005).

d. Les lignines :

Le mot lignine est dérivé en latin de *lignum* signifiant « bois ». La lignine est localisée dans les parois cellulaires et plus spécialement dans les parois secondaires des éléments conducteurs, contribuant à la résistance mécanique et à la rigidité des tiges lignifiées (Hopkins, 2003 ; Macheix et al, 2005)

Ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe qui sont les alcools *p*- coumarylique, coniférylique et sinapylique.

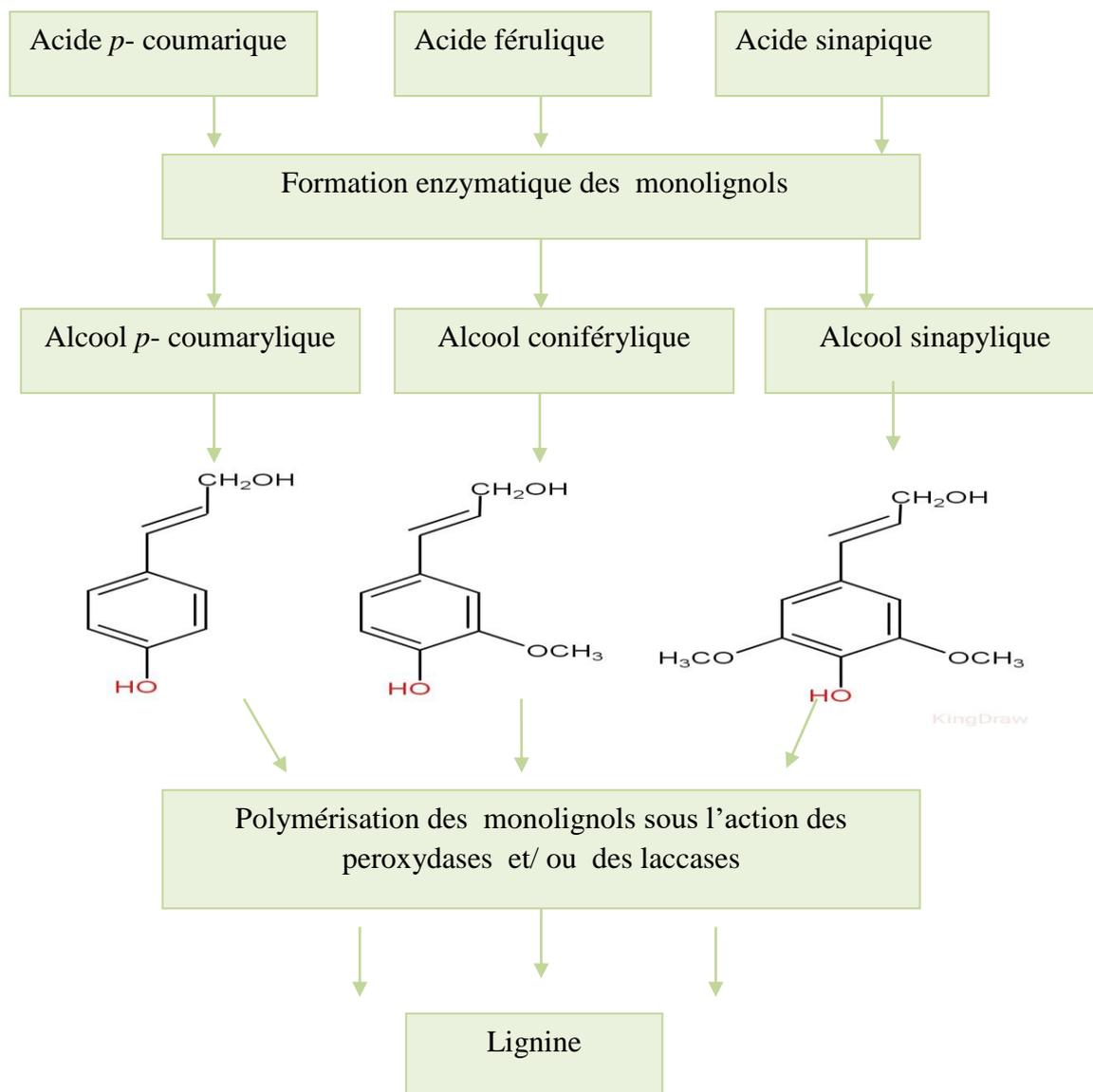


Figure 9 : Principaux monomères constituant la lignine (Macheix et al, 2005)

E. Les Stilbènes :

Les Stilbènes ou les stilbénoides sont des polyphénols naturels se rencontrent dans de nombreux végétaux supérieurs, sous forme libres ou hétérosides et parfois polymères. Ce sont des composés formés à partir d'une structure C6-C2-C6 comportant deux noyaux benzéniques liés par un pont méthylène. Les stilbénoides possèdent plusieurs activités biologiques: antimicrobiennes, anti tumorale, antiangiogénique, et anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique.

Le principal Stilbène alimentaire est le Resvératrol, en particulier le *trans*-resvératrol et son glucoside, ont acquis une attention mondiale importante en raison de sa propriété bénéfique pour la santé comme anti cancérogènes et anti tumorales (Akinwumi et al, 2018 ; Galiniak et al , 2019).

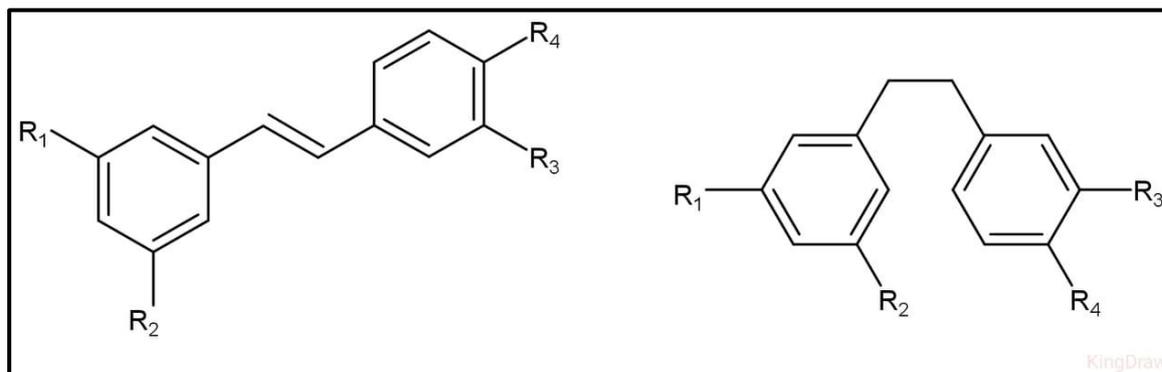


Figure 10 : Structure de base des Stilbènes (trans ou cis) (Collin et Crouzet, 2011)

F. Les flavonoïdes :

- **Définition :**

Les flavonoïdes représentent une classe des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Elles constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Elles constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Ils sont formés par une structure C6-C3-C6 présentent un squelette de base comprenant 15 atomes de carbones constitué de deux noyaux aromatiques benzéniques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 qui forment un hétérocycle oxygéné (C). (Ghedira K, 2005).

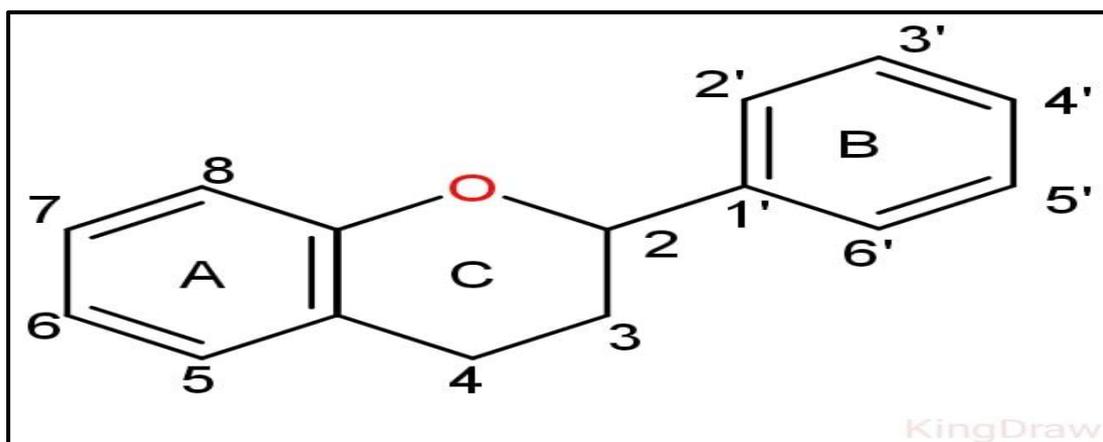


Figure 11 : structure de base d'un flavonoïde (Balasundram et al, 2006)

- **Classification :**

Les flavonoïdes sont classés en fonction du degré d'oxydation du noyau pyranique central. On les distingue aussi par le nombre et la position des groupements hydroxyles et par l'existence ou non de substituant sur la génine. Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structurel de base. Selon la position de la liaison entre le noyau B et l'hétérocycle C, on distingue :

- ✓ Dans la position 2 : le flavonoïde est appelé flavane.
- ✓ Dans la position 3 : le flavonoïde est désigné par le terme isoflavane.
- ✓ Si la position 4 du flavane porte un groupement carbonyle, la molécule est appelée flavanone ;
- ✓ Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est en plus insaturée, le composé est nommé flavone.
- ✓ Si le squelette précédent est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle. Il est désigné par le nom de flavonol (Abedini A, 2014).
- ✓ Anthocyanidines : Ce sont les pigments les plus répandus chez les plantes vasculaires. Ils sont responsables de la coloration rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette de la plupart des fleurs et des fruits. Leur structure de base est caractérisée par un noyau «flavylium » généralement glycosylée en position C3 ; les génines sont alors dits anthocyanidols et les hétérosides appelés anthocyanosides. Les anthocyanes se différencient par leur degré

d'hydroxylation et de méthylation, et par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. (Sahli R, 2017)

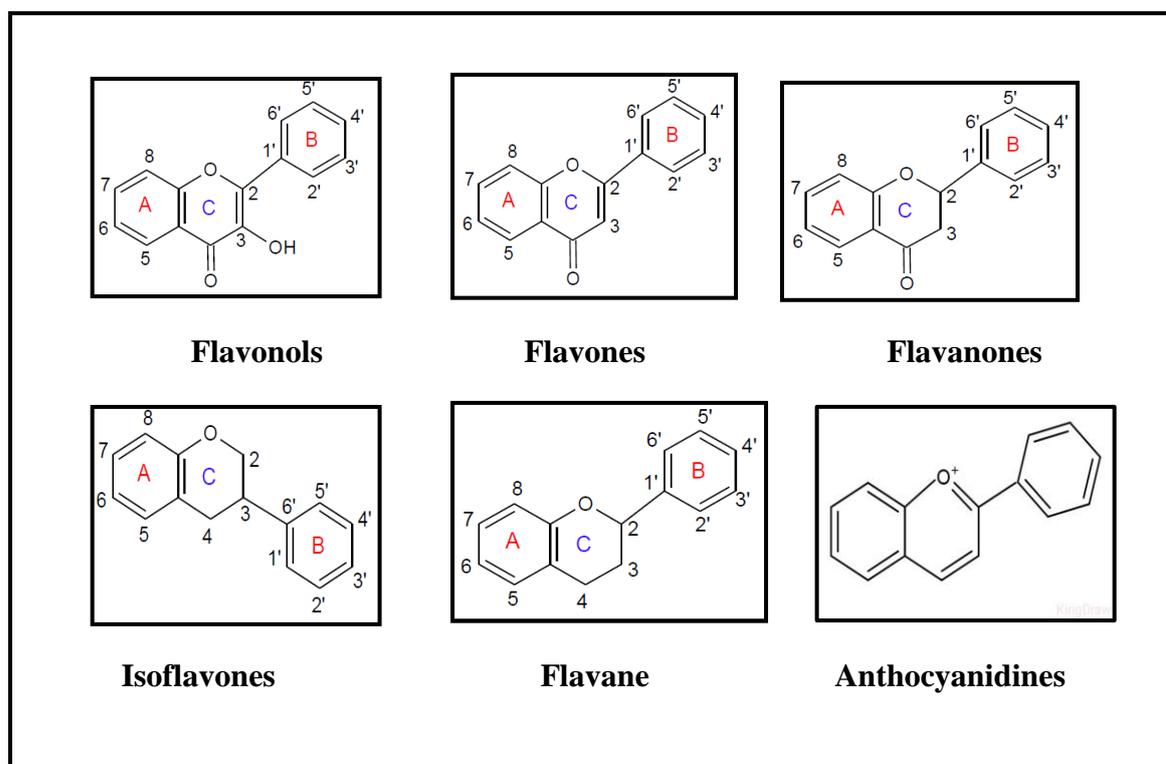


Figure 12 : Les classes des flavonoïdes

III.2.2. Les composés terpéniques

III.2.2.1. Terpénoïdes et les stéroïdes

Les terpénoïdes et les stéroïdes constituent probablement la plus large classe des composés secondaires. Les terpènes ont pour origine biosynthétique l'acétyl COA ou le malonyl COA (Tyler et al, 1988).

Les terpénoïdes et les stéroïdes sont issus à partir des mêmes précurseurs, et formées de l'assemblage d'unités à 5 carbones ramifiées du 2-méthylbutadiène (polymères de l'isoprène). Le nombre d'unités isopréniques définit les différentes classes de terpènes: monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), triterpènes (C30) et tétraterpènes (C40). Les monoterpènes et les sesquiterpènes se rencontrent également dans les huiles essentielles. La cyclisation et la glycosylation des monoterpènes constituent les iridoïdes (Hoffmann, 2003).

III.2.2.2. Stérols

Les stérols sont des stéroïdes dérivant des triterpènes, formant ainsi tout un groupe d'alcools solides. Ils sont également un constituant essentiel des membranes cellulaires. On les trouve aussi bien chez les animaux que dans les végétaux.

Les stérols comportent au niveau de leurs structures un hydroxyle en position C-3 d'orientation β , une double liaison entre les atomes de carbone C-5 et C-6 ainsi qu'une chaîne latérale rattachée au sommet C-17 du noyau polycyclique dérivé du phénanthrène.

Tous les stérols ont en commun le même noyau (Figure.13) et ils diffèrent par la chaîne latérale. (Aichi M, 1977).

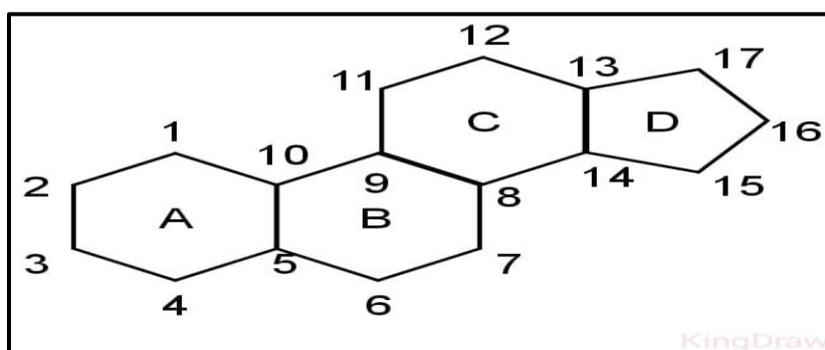


Figure 13: Noyau Stérol

III.2.2.3. Saponosides

Les saponines (sapo veut dire « savon » en latin), sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans de nombreuses plantes et quelques organismes marins, généralement connues comme des composés tensio-actifs non volatils qui sont principalement distribués dans le règne végétal. Structurellement les saponines peuvent être classées en deux groupes selon la nature de la génine, saponine stéroïdique et saponine triterpénique. (Vinckene et al, 2007).

III.2.3. Les composés azotés (les alcaloïdes)

III.2.3.1. Définition :

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotes et basiques de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique). Ils sont synthétisés à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane (Bhat et al, 2005). Il existe cependant un grand nombre d'alcaloïdes qui n'ont pas forcément un acide aminé comme précurseur. Dans ces cas-là, l'atome d'azote est incorporé à un

stade avancé de la biosynthèse par réactions d'amination sur des intermédiaires aldéhydes ou cétones (**Hesse, 2002**). On les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool. Ils ont un goût amer et certains sont fortement toxique (**Wichtl et al, 2003**).

On peut classer les alcaloïdes selon :

- ✓ Leurs activités biologiques.
- ✓ Leurs structures chimiques
- ✓ Leurs voies de biosynthèses

III.2.3 .2. Classification des alcaloïdes selon l'origine biosynthétique :

- ✓ **Les alcaloïdes vrais** : existent sous forme de sels, correspond à des substances formées à partir d'un acide aminé, leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et elles possèdent une activité pharmacologiques significative.
- ✓ **Les pseudo-alcaloïdes** : présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés. Il s'agit dans la majorité des cas connus d'isoprénoides et l'on parle alors d'alcaloïdes terpéniques. On connaît également des substances azotées hétérocycliques issues du métabolisme de l'acétate.
- ✓ **Les proto-alcaloïdes** : ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. (**Bruneton, 2009**).

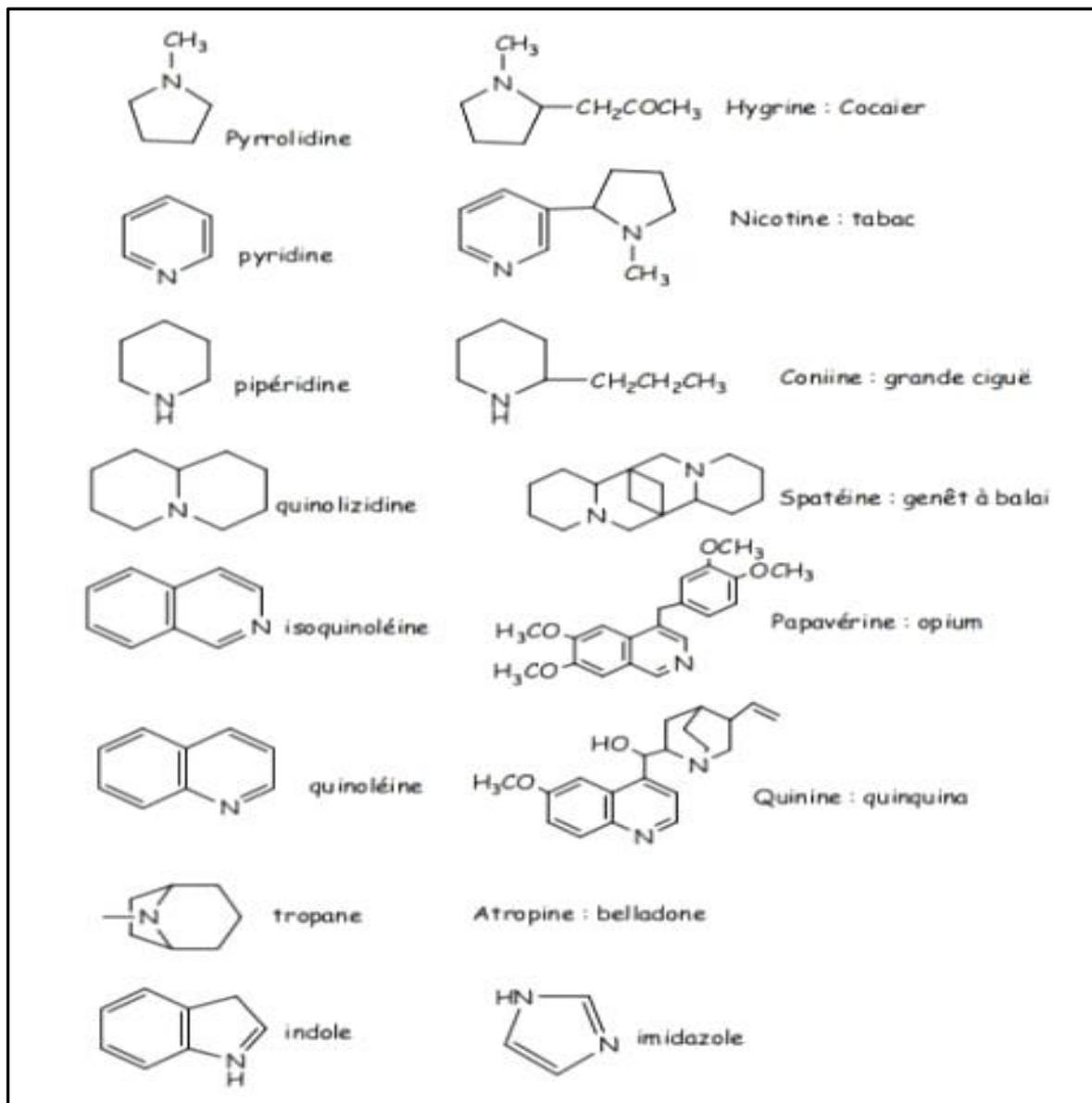


Figure 14: Principaux types structuraux

III.2.3 .3. Rôles physiologiques

Le rôle des alcaloïdes dans les végétaux est encore largement inconnu mais Certaines théories prédisent que :

- ✓ Certains alcaloïdes interviennent dans les relations (plantes / prédateurs) en protégeant les premières contre l'agression des seconds.
- ✓ Ils sont impliqués dans la défense des plantes contre l'attaque des herbivores et des microorganismes, (exp : la nicotine empêche la croissance des larves du tabac).
- ✓ Ils protègent les plantes contre les dommages provoqués par la lumière UV.

- ✓ Ils constituent aussi une réserve de substances capables de fournir l'azote ou d'autres fragments nécessaires au développement de la plante. **(Badiaga M, 2012).**

III.2.3 .4. Rôles biologiques

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés :

- ✓ Au niveau de système nerveux centrale qu'ils soient dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (caféine).
- ✓ Au niveau de système nerveux autonome : sympathomimétiques (éphédrine), inhibiteurs des cholinestérases (pilocarpine, galanthamine)
- ✓ Anesthésiques locaux (cocaïne), antipyrétique (quinidine), anti-tumoraux (ellipticine), anti-paludiques (quinine)...etc. **(Kebili Z, 2016).**

III.2.3 .5. Les alcaloïdes pyrrolizidiniques (AP)

Les alcaloïdes de pyrrolizidine sont des toxines naturellement présentes dans une grande variété d'espèces végétales et affectent la faune sauvage, les animaux d'élevage et les humains. Les AP et leurs oxydes azotés forment un grand groupe de métabolites secondaires produits par certaines plantes qui peuvent devenir hépatotoxiques Certains d'entre eux se sont révélés génotoxiques et cancérigènes **(Lanzelotti, 2011).**

Ces alcaloïdes sont caractérisés par une structure pyrrolizidine qui correspond à l'association de deux cycles pyrroles La diversification chimique se fait par des ramifications, sur la position 1 et 7 du noyau pyrrolizidine. La plupart de ces alcaloïdes sont des esters formés entre des aminoalcools et un ou deux acides carboxyliques aliphatiques. Les aminoalcools dérivés de la pyrrolizidine sont appelés des nécines. Les acides estérifiant ces nécines sont des acides aliphatiques pouvant compter jusqu'à 10 carbones et sont nommés acides néciques **(Gandini, 2016).**

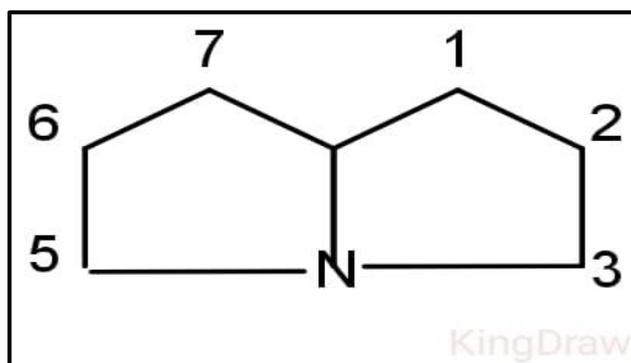


Figure 15: Noyau pyrrolizidine

III.2.3 .6 .La toxicité des AP

Pour être toxique, la substance doit présenter une in-saturation entre la position 1 et 2 de l'hétérocycle et une estérification spécifique du groupe hydroxyle attaché à la nécine. Compte tenu de toutes les combinaisons chimiques possibles de ces structures, il pourrait y avoir plus de 600 molécules différentes d'alcaloïdes pyrrolizidiniques et jusqu'à présent plus de 350 ont été identifiées dans les plantes du monde entier. (Gandini, 2016).

IV. Activités antibactériennes

Les infections microbiennes ont été la principale cause de maladies tout au long de l'histoire de l'humanité. Avec l'introduction des antibiotiques, on pensait que ce problème devait disparaître. Alors que l'utilisation répandue et parfois inappropriée de ces agents, ainsi que leur utilisation extensive comme activateurs de croissance dans l'alimentation animale ont poussé les bactéries à développer des mécanismes de résistance leur permettant de survivre avec succès au cours des 50 dernières années en face d'un assaut continu d'antimicrobiens (Davies, 1994; Dzidic et al, 2008).

L'émergence de bactéries multirésistantes est un phénomène de préoccupation pour le clinicien et l'industrie pharmaceutique, car il est la principale cause de défaillance dans le traitement des maladies infectieuses (Davies, 1994). Cette situation incite de chercher de nouvelles sources de substances antimicrobiennes.

IV.1. Antibiotiques

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle, semi-synthétique ou synthétique, capable à faible dose de tuer ou d'inhiber spécifiquement la croissance du

germe par un mécanisme particulier jouant sur ses mécanismes vitaux (**Okusa Ndjolo, 2012**).

Selon la structure chimique, les antibiotiques peuvent exercer leurs effets selon différents modes:

- Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi: β -lactamines, glycopeptides.
- Antibiotiques altérant la membrane plasmique: polymixines, daptomycine.
- Antibiotiques inhibant la synthèse protéique (généralement par fixation sur les ribosomes): tétracyclines, chloramphénicol.
- Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques: rifampicine, etc. (**Dzidic et al, 2008**).

IV.2. Définition de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un composé vis-à-vis d'une espèce bactérienne est la plus petite concentration de ce composé qui empêche tout développement de la bactérie donnée. (**Nicolas et Daniel, 1998 ; Nejjah et al, 2006**). La CMI correspondent à des valeurs proches du $\mu\text{g/ml}$: dans tous les cas plus la CMI est faible, plus l'antibactérien est actif. (**Nicolas et Daniel, 1998**)

IV.3. Les méthodes de détermination de l'activité antibactérienne :

L'examen des données bibliographiques fait apparaître la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des extraits (Aromatogramme, Méthode de diffusion en puits, Technique de micro-atmosphères, Méthodes de dilutions en bouillon et en gélose). Les différents protocoles peuvent être classés

- selon le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'extrait, soit liquide soit solide.
- selon la nature du contact avec le germe : diffusion sur disque, ou dispersion dans un émulsionnant (**Pibiri, 2006**).

IV.3.1 .Aromatogramme

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériens et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (**Pibiri, 2006**). L'aromatogramme se réfère à la diffusion d'un agent

antimicrobien d'une concentration spécifique à partir de disques dans le milieu de culture solide, qui a été ensemencé avec l'inoculum. La méthode est basée sur la détermination d'une zone d'inhibition proportionnelle à la sensibilité bactérienne à l'antimicrobien présent dans le disque. La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu de culture ensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration de l'antimicrobien devient si diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée (**Manuel terrestre de l'OIE, 2008**). Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (**Pibiri, 2006**).

La méthode des disques est facile à mettre en œuvre, reproductible et ne nécessite pas d'équipement onéreux (**Manuel terrestre de l'OIE, 2008**).

IV.3.2 .Méthode de diffusion en puits

Proposé par Cooper et Woodman en 1946, reprise par Shroder et Messing (1949), elle mesure une diffusion radiale de l'extrait à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition clair et facilement mesurable à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne. Elle consiste à découper un tronc circulaire vertical dans la gélose et d'y verser une solution d'extrait de concentration connu (**Hellal, 2011**).

IV.3.3 .Technique de micro-atmosphères

Le protocole des micro-atmosphères est techniquement proche de celui des aromagrammes. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné. Dans cette technique, le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. Cette technique permet de mettre en évidence la diffusion des composants volatils des huiles essentielles à l'intérieur d'une boîte de Pétri (**Pibiri, 2006**).

IV.3.4 .Méthode de dilution en bouillon et en gélose

C'est une méthode de référence qui peut réalisée en milieu liquide ou en milieu solide. Le principe de cette méthode consiste à : Différentes concentrations

d'antibactériens sont incorporées dans le milieu nutritif. La suspension de germes est ensuiteensemencée. C'est une méthode longue et ne permet d'étudier qu'un seul antibactérien à la fois. Elle permet de déterminer la CMI qui correspond selon Chabbert(1972) « à la première concentration qui inhibe la croissance par apport au témoin sans antibactérien » (**Bouhrara, 2016**).



Chapitre II
Matériel & Méthodes

Matériels et Méthodes

Notre travail a porté sur screening phytochimique et l'évaluation des activités antibactériennes et antioxydante de la partie aérienne (tiges et feuilles sans fleurs) de la plante bourache (*Borago Officinalis*).

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de Biochimie, Département des Sciences Biologiques (Faculté SNV-ST) de Mila ainsi qu'au niveau du laboratoire d'analyses médicales Mirouh (ferdjiwa. Mila)

I. Matériels

I.1. Matériels non biologiques

L'ensemble de matériel non biologique utilisé pour réaliser cette étude est résumé dans le tableau suivant:

Tableau 7 : Liste des matériels non biologiques utilisés pendant la manipulation

Appareils	Réactifs et produits chimiques
-Bain Marie (memert)	-Méthanol, Ether de pétrole,
-Agitateur magnétique	Chloroforme, Acétate d'éthyle, Butanol,
-Rotavapeur (buchi)	Acétone, eau distillé
-Hotte chimique	-Hydroxyde d'ammonium
-Balance analytique (kern (ALJ220-4NM))	-Acide Sulfurique - CuSO ₄
-Etuve (memert)	réactif de Fehling - NaOH
-Autoclave	-Anhydride Acétique - Hcl
-Spectrophotomètre UV-VIS (JENWAY 7305)	- Chlorure ferrique
-Lampe UV	- Iodure de potassium
	-Iode -Acide gallique
	-Carbonate de sodium
	-Réactif de Folin-Ciocalteau
	-Trichlorure de Fer
	-Ammoniaque
	-L'eau physiologique
	-Milieu Muller-Hinton
	-Milieu Gélose nutritive

I.2. Matériel biologique

Le matériel végétal, exploité dans cette étude, est constitué par les tiges, les feuilles de *Borago Officinalis* qui a été récoltée (au mois de décembre 2021) dans la région de Rouached de la wilaya de Mila.

I.2.1 Séchage et conservation de la plante

La partie aérienne de la plante sélectionnée (feuilles- tiges) sont nettoyées, séchées à l'air libre, à température ambiante et à l'abri de la lumière pour mieux conservé les molécules sensible à la chaleur pendant (la période de séchage), puis broyées à l'aide d'un mortier.

I.2.2. Caractéristiques de poudre obtenue

Les parties d'intérêts ont été broyées mécaniquement afin d'obtenir une poudre moyennement fine ayant une couleur verdâtre foncée (**Figure 16**).



Figure 16 : Aspect de poudres des feuilles et tiges de la bourrache.

II. Méthodes

Les différentes étapes réalisées pendant notre travail sont résumées dans le diagramme Suivant (**Figure 17**) :

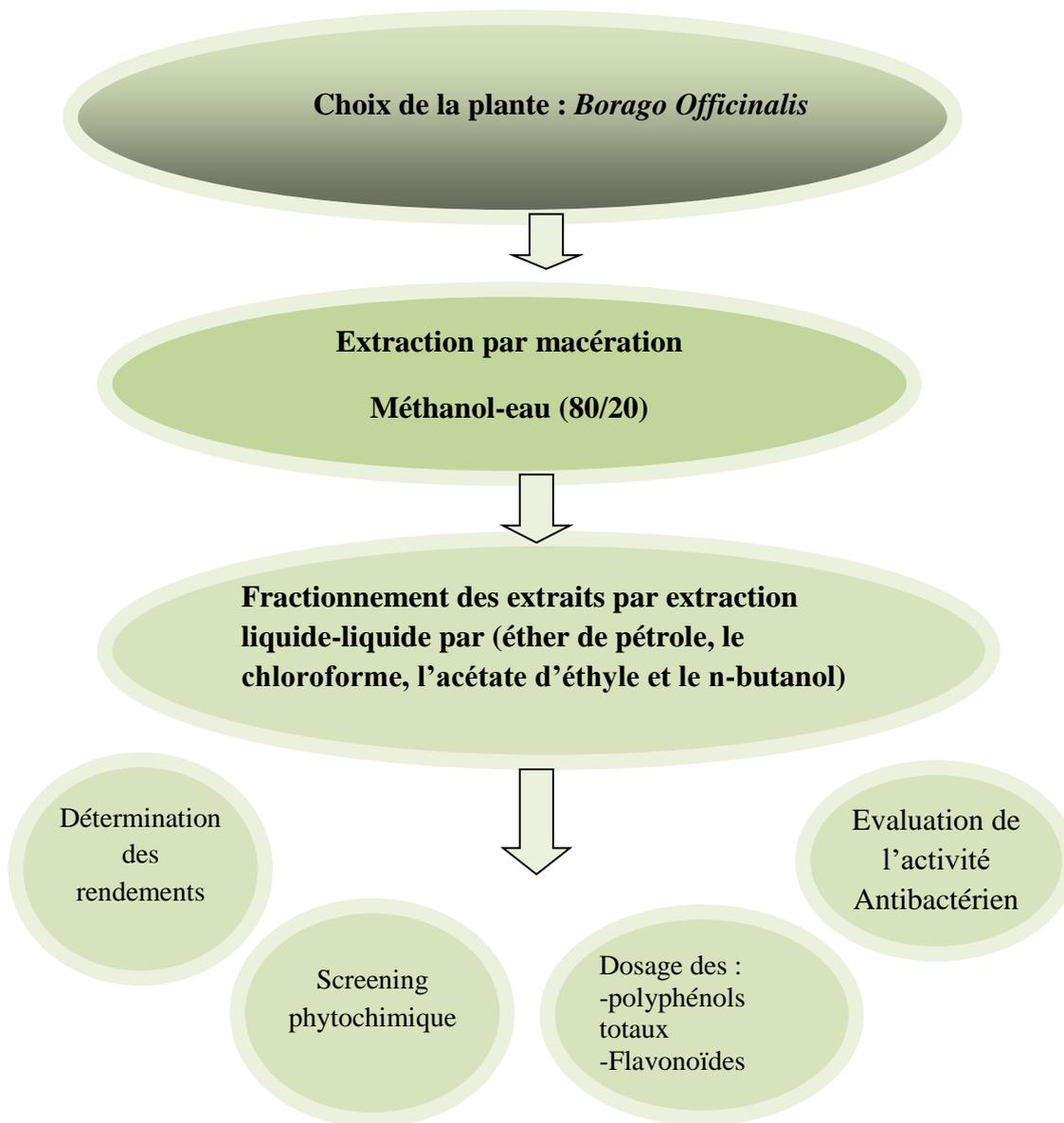


Figure 17 : Schéma général des différentes étapes du travail.

II.1. Extraction par macération

Parmi les différentes techniques d'extraction, nous avons utilisé l'extraction par Macération, qui a été réalisée selon la méthode de (Bruneton, 1993) avec une légère modification. **100 g** de la drogue végétale de la plante (feuilles et tige) et **462 ml** d'un mélange de solvant méthanol-eau (80/20) sont introduits dans un erlenmeyer de 1 litre. L'extraction est réalisée à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 48 heures. La filtration est réalisée à l'aide d'un entonnoir et un coton pour récupérer l'extrait dans un erlenmeyer et le filtre dans l'entonnoir (**Figure 18**).

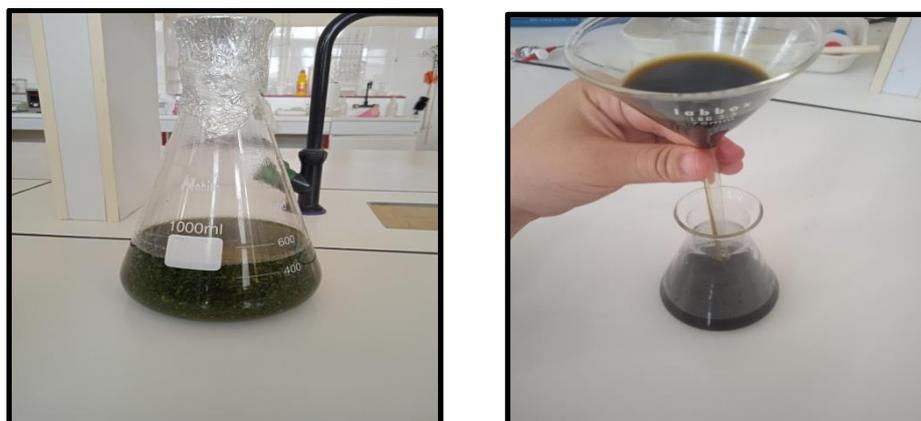


Figure 18 : Macération et filtration de mélange hydr-méthanolique

La macération est répétée 3 fois la durée de chaque macération 24 heures, en utilisant le même mélange méthanol-eau (le volume de solvant utilisé pour la deuxième la troisième macération 200ml et pour la quatrième 160ml)

Donc les extraits hydro- méthanoliques de chaque macération (**Vt 1022ml**) ont été soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rotavapeur à 40°C.



Figure 19 : Evaporation de l'extrait hydrométhanolique

- Après l'évaporation de l'extrait hydrométhanolique on obtienne un extrait sec concentré de texture crémeuse (figure 20). Ce dernier est dilué avec de l'eau distillée. La solution obtenue est laissée au repos à froid pendant une nuit pour décantée, cette décantation permet le dépôt de la chlorophylle, des cires, du sable, etc....

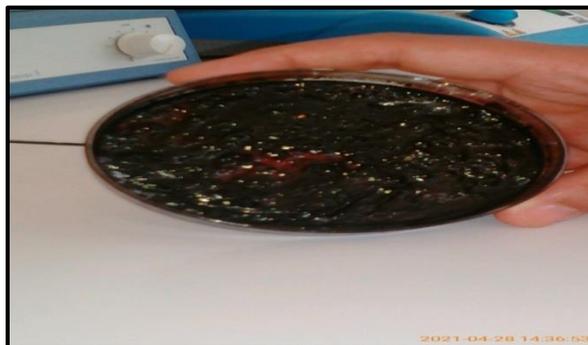


Figure 20 : Texture de l'extrait

II.2. Fractionnement des extraits par extraction liquide-liquide

Après filtration, la phase aqueuse obtenue est soumise à des extractions successives liquide-liquide dans une ampoule à décanter en utilisant chaque fois 100 ml des solvants non miscibles à l'eau et de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et enfin le n-butanol (**Figure 21**).

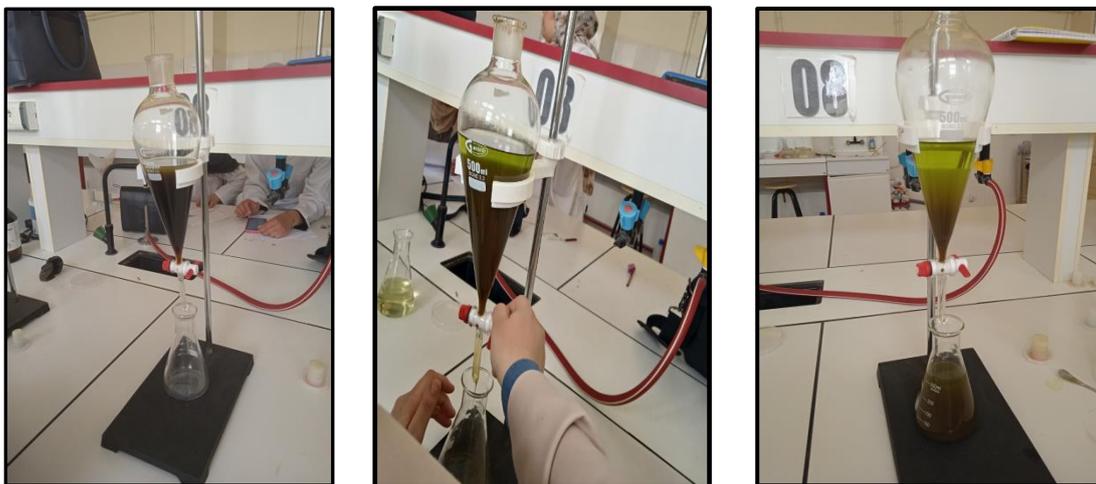


Figure 21 : Décantation par l'éther de pétrole

II.2.1. Le principe

L'utilisation des solvants à polarités différentes permet de séparer les composés de la Plante selon leur degré de solubilité dans les solvants d'extractions (**Figure 22**).

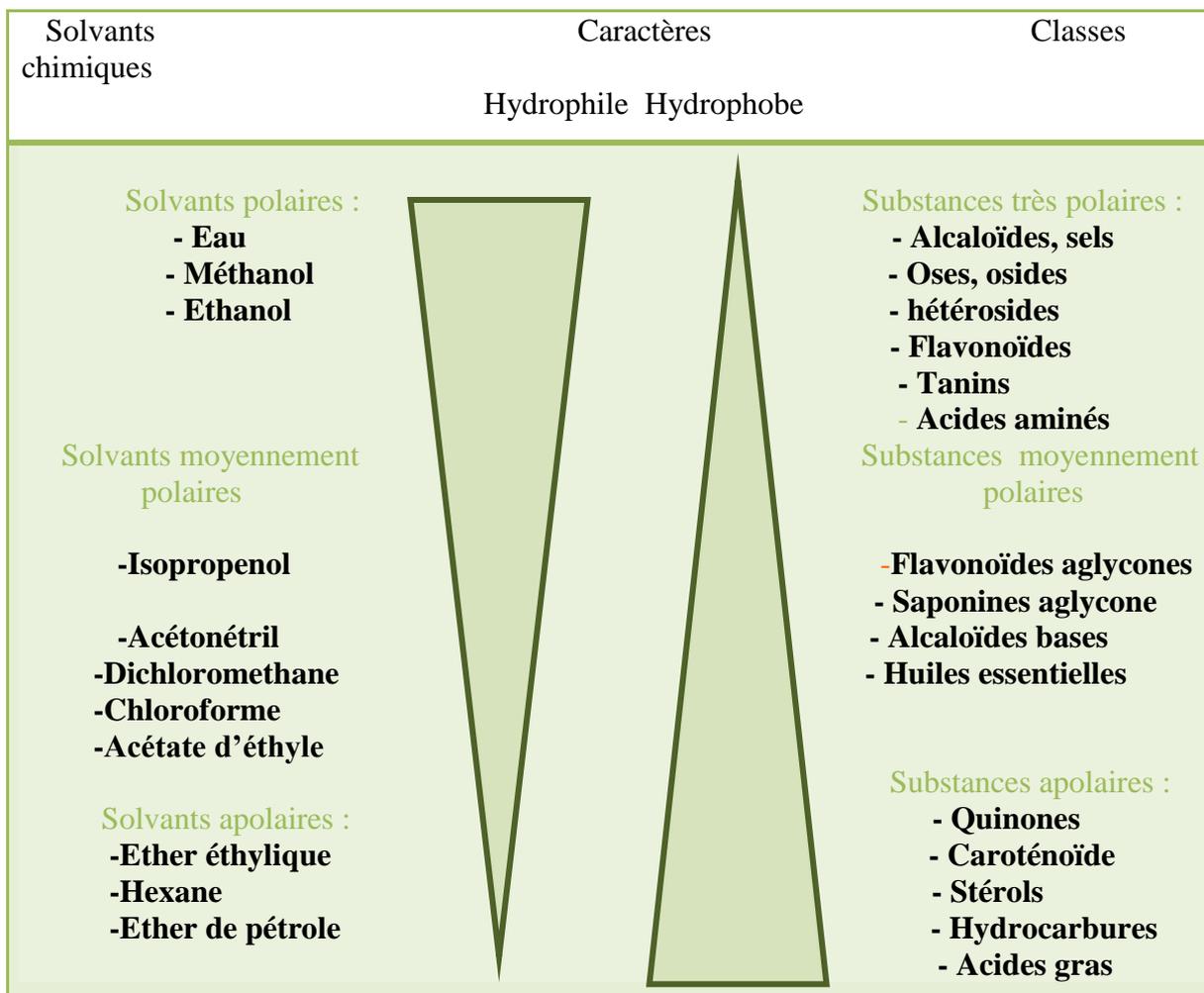


Figure 22 : Relation classe chimique/solvant.

Donc, en plus de la fraction hydro-métanolique (F0), quatre fractions sont obtenues : la fraction d'éther d'éthyle (F1), la fraction chloroformique (F2), la fraction d'acétate d'éthyle (F3) et la fraction butanolique (F4). Les extraits sont conservés jusqu'à utilisation à froid.



Figure 23: Résultat totale de la décantation.

Les quatre fractions obtenues ont été concentrées sous pression à une température n'excédant pas 40°C et les extraits secs obtenus sont pesés.

La Figure 24, résume les étapes de fractionnement de l'extrait brut.

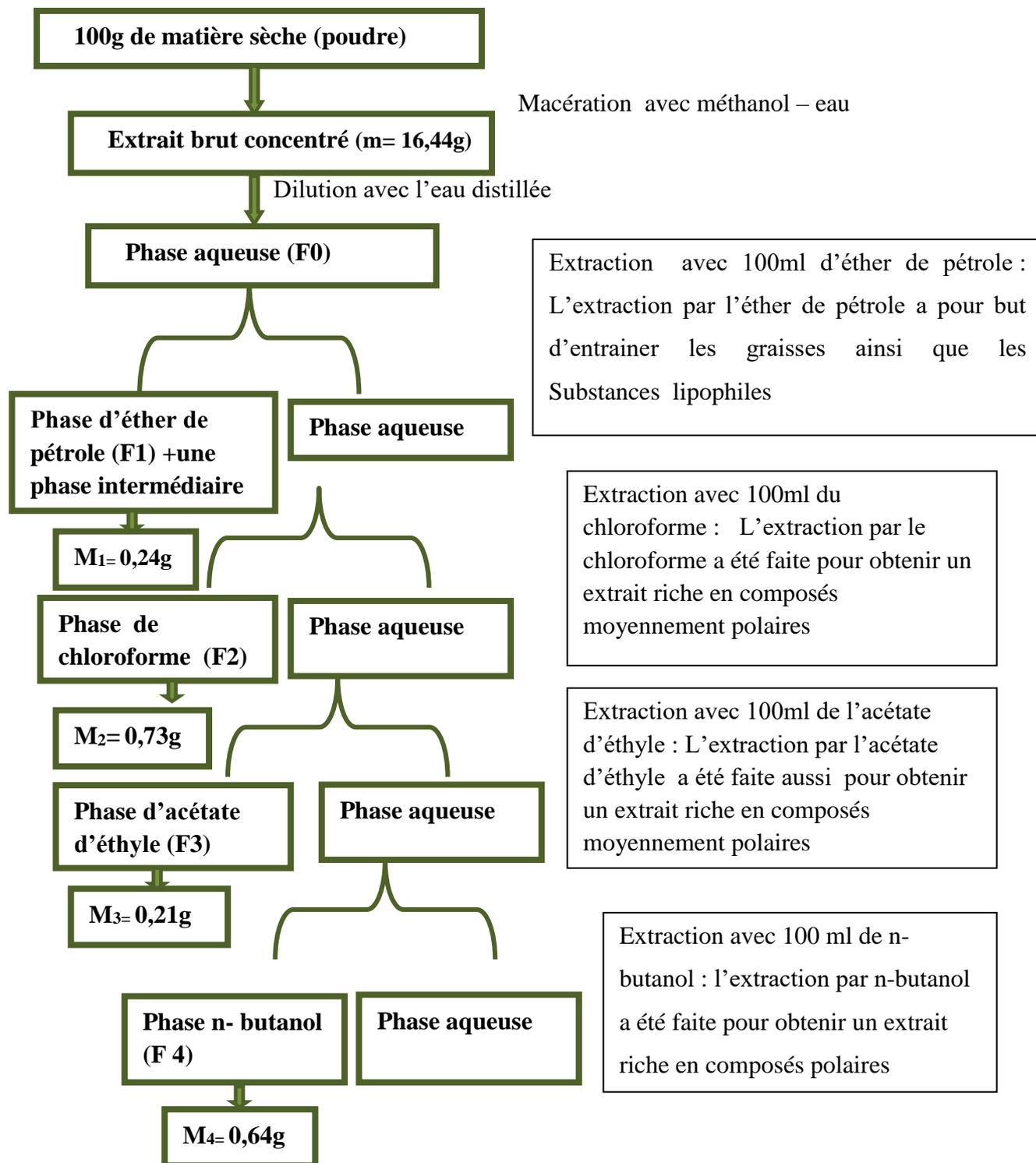


Figure 24: Résumé des étapes de fractionnement de l'extrait brut.

II.3. Détermination des rendements d'extraction

Le rendement des différents extraits obtenus est défini comme étant le rapport entre la masse des extraits bruts à l'état sec et celle de la matière végétale utilisée, il est calculé comme suit :

$$\text{Rendement (\%)} = [(p_1 - p_0) / p] \times 100$$

Avec :

- P : poids de l'extrait brut sec (g) ;
- P₀ : poids de ballon vide (g) ;
- P₁ : poids de ballon après évaporation totale de l'extrait (g).

II.4. Analyse qualitative

Cette analyse nous permet, en utilisant les réactifs spécifiques de chaque famille de composés sur la présence ou l'absence des groupes chimiques contenus dans la plante par des réactions de coloration ou de précipitation, cette méthode appelée screening.

Tableau 8 rassemble les différents tests réalisés :

Tableau 8 : Groupes chimiques, réactifs d'identification et indicateurs utilisés.

Groupe chimique	Réactifs d'identification	Indicateur
Alcaloïdes	-Réactif de Wagner	précipité rouge-orangé ou brun rougeâtre
Flavonoïdes	-Hcl (2%) - chlorure ferrique (FeCl ₃)1%	coloration verdâtre
Anthraquinones	-NH ₄ OH (10%)	apparition d'un anneau rouge
coumarines	-NaOH (10%)	apparition d'une couleur jaune
Stéroïdes	-anhydride acétique -H ₂ SO ₄ []	L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert
Quinones libers	-NaOH (1%)	L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violète
Protéines	- NaOH (2%) -CuSO ₄	L'apparition d'une coloration violette
Tannins	-Eau distillée	L'apparition d'une coloration bleu-noir

galliques	- (FeCl ₃)1%	
Tannins catéchiques	-formole -Hcl []	coloration brun verdâtre
Stérols	-chloroforme (CHCl ₃) -anhydride acétique - acide sulfurique (H ₂ SO ₄) []	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
Glucides	-Eau distillée - réactif de Fehling -chauffage à 70°C	précipitation rouge brique
saponosides	-agitation de l'extrait Aqueux	Apparition d'une mousse persistante
Anthocyanes	-hydroxyde d'ammonium (NH ₄ OH), ou -acide sulfurique	rouge en milieu acide et bleu violacée en milieu basique

➤ Définition du screening

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. 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 terpènesetc. (Lendvai et al, 2002).

Le criblage phytochimiques est réalisé tant sur les phases aqueuses qu'organiques par des réactions usuelles à l'aide des réactifs de caractérisation classiques (Bruneton, 2009).

➤ **Les différents tests réalisés sur les extraits de notre plante sont :**

1. Test des Alcaloïdes

Le test a été réalisé par des réactions de précipitation avec le réactif de Wagner, 1ml de l'extrait 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).

2. Test des Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux, 2ml de chaque Extrait a été traités avec quelques gouttes d'HCl à 2%, et quelques gouttes de FeCl₃ à 1%. L'apparition de la coloration verdâtre indique la présence des flavonoïdes (Koffi et al, 2009).

3. Test des Anthraquinones

Pour la détection des anthraquinones, à 1ml d'extrait ont été ajoutés à 0,5 ml de NH₄OH à 10%. Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence des anthraquinones (Oloyede, 2005).

4. Test des Coumarines

Les coumarines ont été mises en évidence par la réaction du cycle laconique. 2ml de chaque extrait végétal a été mis dans un tube à essai. Ensuite, 3ml de NaOH (10%) sont ajoutés. Après l'agitation du mélange, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarine (Diallo, 2000; Daira et al, 2016).

5. Test des Stéroïdes

Dans un tube à essai, 1ml d'anhydride acétique a été mélangés avec 1ml de l'extrait végétal. 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. Test des Quinones libres

Un volume de 2ml de chaque extrait est mis dans un tube à essai, puis y sont ajoutés quelques gouttes de NaOH à 1%. L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violette indique la présence des quinones libres (Dohou, 2004 ; Oloyede, 2005).

7. Test des Protéines

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

8. Test des tannins

Les tannoïdes (tannins hydrolysables- tannins gallique et tannins ellagiques) et les Tannins variés (tannins non hydrolysables ou condensés –tannins chatéchiens) sont des polymères de polyphénols. (Trease et al, 1987 ; Douhou et al , 2003)

8.1 Tannin gallique

Les tannins gallique ont été mis en évidence par la réaction de 1ml de chaque extrait avec 2 ml d'eau distillée sont additionnées 2 ou 3 gouttes de la solution de chlorure ferrique FeCl_3 1% permet de détecter la présence ou non de tannins galliques. L'apparition d'une coloration bleu-noir indique la présence de tannins galliques.

8.2 Tannins chatéchiens

Les tannins chatéchiens ont été mis en évidence par la réaction de 1ml de chaque extrait avec 1 ml de formole, puis 0,5ml HCL. L'apparition d'une coloration brun verdâtre indique la présence de tannins chatéchiens.

9. Test de stérols

Les Stérols ont été mis en évidence par l'ajout de 1ml de CHCl_3 à 1ml de l'extrait analysé dans un bécher. Ensuite 1ml d'anhydride acétique, ajouter 1ml de l'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré au fond de bécher 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 (Mouellet et al , 2005).

10. Test de glucides

Les glucides ont été mis en évidence par le réactif de Fehling. Leur présence indiquée par une précipitation rouge brique qui s'accroît par l'addition de 1ml de l'extrait avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling a été chauffé à 70°C dans un bain marie (Trease et Evans, 1987).

11. Test des Saponosides

Les saponines ont été mises en évidence par le test de la mousse. 2 g de la poudre de bourache sont bien mélangés avec 80ml d'eau distillé pendant quelques minutes, ensuite le mélange filtré et agité. La formation d'une mousse persistante après 15mn à une hauteur d'au moins un centimètre indique la présence des saponines (Badiaga M, 2012).

12. Test des anthocyanes

Le test consiste à ajouter 1ml d'extrait aqueux, 1ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) en milieu basique puis 1ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) en milieu acide. La présence d'anthocyanes indique une coloration rouge en milieu acide et bleu violacée en milieu basique (Mouellet et al, 2005).

II.5. Analyse quantitative

II.5.1 Dosage des polyphénols totaux (PPT) par colorimétrie (méthode de Folin Ciocalteu)

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé au niveau des laboratoires de biologie de l'université Abd El Hafid Boussouf (Mila) ;

La teneur en polyphénols totaux des quatre extraits de la bourache, est déterminée par le dosage spectrophotométrie selon la méthode du Folin-Ciocalteu.

A. Principe

Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est un acide de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique

($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène(W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}).

La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**)

Le phénol standard utilisé dans cette méthode et l'acide gallique (**Figure 25**)

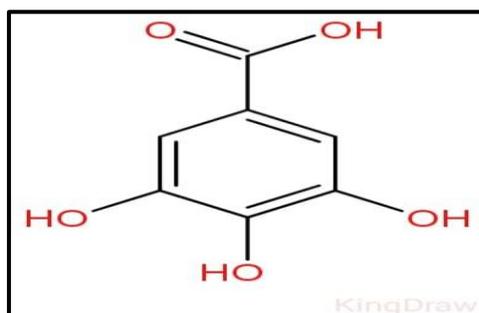


Figure25 : Structure de l'acide gallique

Les étapes suivies sont :

- **Préparation de carbonate de sodium [Na_2CO_3] à 7,5% :**
7,5 g de Na_2CO_3 sont dissouts dans 100ml d'eau distillé.
- **Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10fois :**
1 ml de la solution FCR (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée (9ml).
- **Préparation des extraits de la plante :**
Une masse de 1 mg d'extrait sec est dissoute dans un volume de 1 ml de Méthanol.
- 1 ml de chaque extrait ont été pipetés dans un tube à essai, mélange avec 5ml de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois dans l'eau distillée. Puis laisser 15 min avant d'ajouter 3,75ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5%), agite le mélange à l'aide d'un vortex.
- Après une incubation du mélange réactionnel pendant 2 heures de temps à température ambiante et à l'obscurité, puis l'absorbance est mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre UV-VIS (JENWAY 7305spectrophotomètre réalisé au niveau des laboratoires de science et de technologie d'hydrauliques du centre universitaire Abd el Hafid Boussouf Mila) le blanc est préparé en parallèle de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (constitué de

(FCR), de Na_2CO_3 (7,5%) et méthanol) (Singleton et al, 1965 ; Muller et al, 2010).

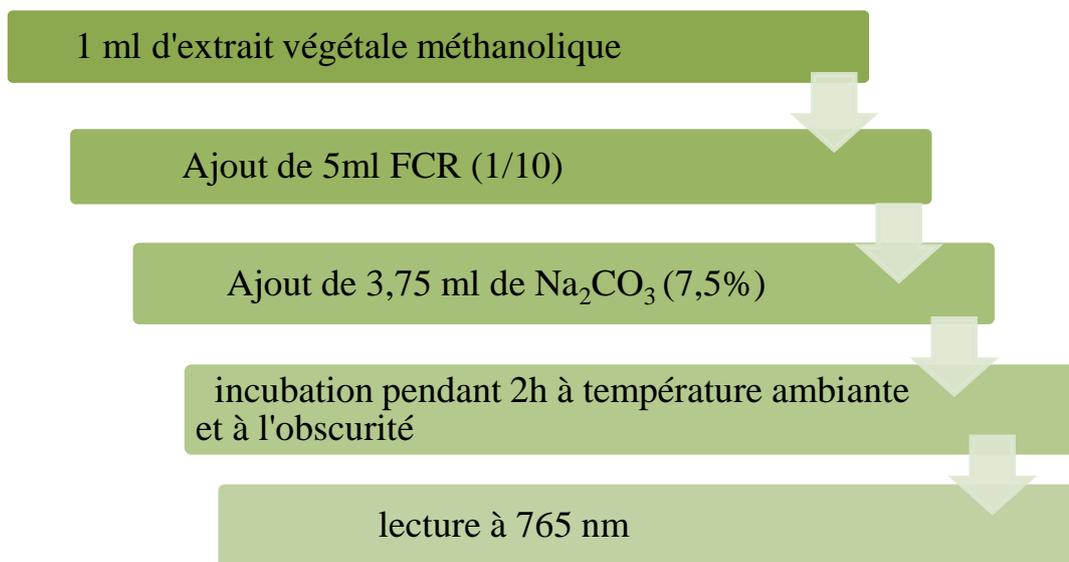


Figure 26 : Différentes étapes du dosage des polyphénols totaux (PPT)



Figure 27 : Dosage des polyphénols totaux (photo personnelle, 2021)

➤ **Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique**

On prend 2 mg de l'acide gallique et on le dissout dans 10 ml de Méthanol pour obtenir la solution S_1 (0,2 mg / ml). Les dilutions ont été préparées dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage.

C'est à dire 1 ml de chaque dilution sont transférés dans une tube avec 5ml FCR et 3,75 de Na_2CO_3 (7,5%), le blanc est préparé en parallèle de la même

manière remplaçant l'acide gallique par le solvant utilisé, après une incubation de 2 heures l'absorbance est mesurée à 765 nm par spectrophotomètre. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme poids sec (mg EAG/g).

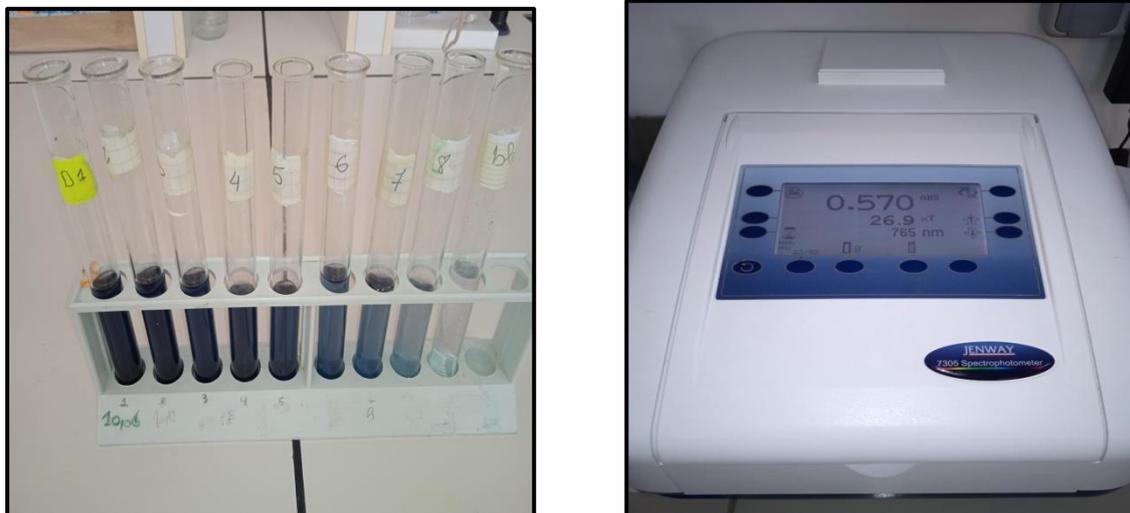


Figure 28 : Préparation et lecture de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

II.5.2 Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits.

Les flavonoïdes contiennent certains groupements structuraux susceptibles de former par chélation des complexes jaunâtres avec les métaux notamment le fer et l'aluminium. L'ion méthanolique intervenant dans la formation de complexe sous forme de Mn^+ s'uni à des oxygènes de la molécule phénolique comme donneur d'électrons (Ribereau, 1968).

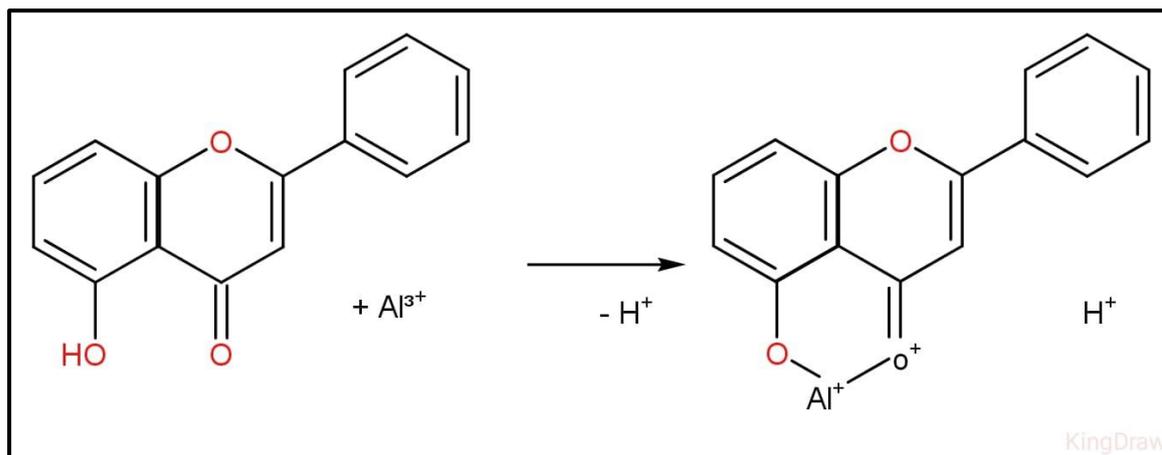


Figure 29 : Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes
(Ribereau, 1968)

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium AlCl_3 de (Lamaison et Carnet, 1990) avec des modifications.

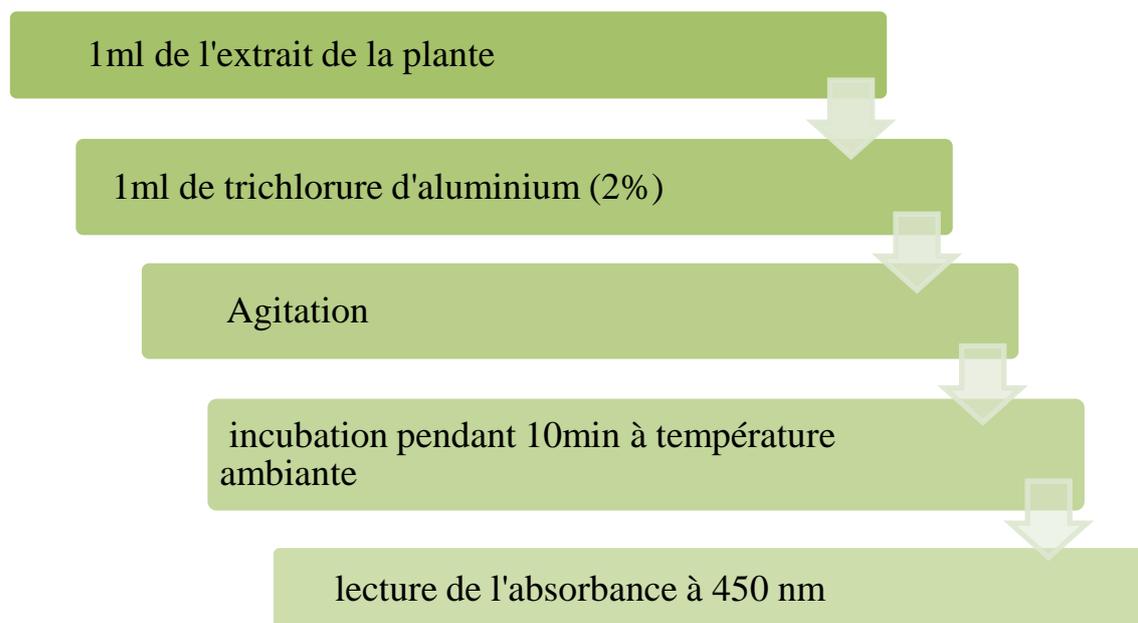


Figure 30 : Schéma représentatif du protocole expérimental de dosage des flavonoïdes.
(Lamaison et Carnet, 1990)

II.6. Etude de l'activité antibactérienne des extraits

II.6.1. Les souches bactériennes testées :

Le nombre des souches bactériennes testées lors de notre étude est 7 souches qui sont fournies par le laboratoire d'analyses médicales Mirouh ferdjiwa Mila.

Quelques caractéristiques générales de ces bactéries sont présentées dans le **Tableau 9**.

Tableau 9 : Caractéristiques générales des bactéries testées. (Abedini A, 2014).

Nom de la souche	Gram	Famille
<i>Escherichia Coli</i>	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	Négatif	<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>Staphylococcus Coagulant</i> (-)	Positif	<i>Staphylococcaceae</i>
<i>Salmonella</i>	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Bacillus</i>	Positif	<i>Bacillaceae</i>
<i>Streptococcus Sp</i>	Positif	<i>Streptococcaceae</i>
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Positif	<i>Micrococcaceae</i>

II.6.2. Principe

Test d'antibiogramme C'est une technique très utilisée en bactériologie médicale, appelée également la méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Plus le diamètre de la zone d'inhibition crée autour de la colonie bactérienne est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique ; par contre plus il est petit, plus la bactérie est résistante (Herouini, 2015).

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits de la plante étudiée, on a utilisé la méthode d'antibiogramme et on remplacé les disques d'antibiotiques par des disques de papier Wattman (humecté par les extraits), les étapes suivies sont :

➤ **Préparation des disques :**

Les disques sont fabriqués à partir de papier Wattman n° 3 avec un diamètre de 6 mm par l'emporte-pièce. Ensuite, ces disques sont mis dans des mini boîtes de pétri, stérilisés à l'autoclave, puis stockés à une température ambiante.

➤ **Stérilisation du matériel :**

L'eau physiologie, les milieux de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation de la suspension bactérienne et les disques en papier Wattman sont enrobés dans du papier aluminium et ont été stérilisés à l'autoclave.

➤ **Revivification et repiquage des germes :**

Après stérilisation de la zone de travail, les différentes espèces bactériennes ont été repiquées sur gélose nutritive en boîtes de Pétri (90 mm) par la méthode des stries, puis incubées à 37°C pendant 24h afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation d'inoculum.

➤ **Préparation des dilutions :**

Afin d'obtenir différentes concentrations des extraits de la bourache, nous avons diluée les extraits purs dans le DMSO. Ce choix a été fait, parce que, le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, qui ont prouvé que le DMSO n'a aucun pouvoir antimicrobien puissant.

Les extraits de : éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 100 mg/ 1ml (100mg d'extrait/1ml de DMSO).

- ✓ d1 : 0,5 d'extrait de SM avec 0,5 de DMSO.
- ✓ d2 : 0,5 d'extrait de d1 avec 0,5 de DMSO.
- ✓ d3 : 0,5 d'extrait de d2 avec 0,5 de DMSO.
- ✓ d4 : 0,5 d'extrait de d3 avec 0,5 de DMSO.

La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de Pétri stériles. L'épaisseur de la gélose est de 4 mm répartie uniformément dans les boîtes (en flambant à chaque fois la bouche du flacon avant et après chaque utilisation, dans la zone stérile). Ces dernières doivent être séchées avant l'ensemencement.

➤ **Préparation de l'inoculum bactérien :**

Une parcelle de la colonie cible obtenu après revivification a été prélevée à l'aide d'une once de platine puis homogénéisée avec 9 ml d'eau physiologique stérile dans un tube à essai. Des dilutions sont effectuées dans la même solution, jusqu'à avoir une densité microbienne de 10^8 UFC/ml (DO= 0,08 à 0,1 pour une longueur d'onde $\lambda = 625$ nm).

➤ **Ensemencement :**

Les milieux de cultures préalablement préparés, sont ensemencés par étalement à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne déjà préparée. L'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur les milieux.

➤ **Imbibition des disques :**

Les disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre stériles, ont été chargés de l'extrait à tester (SM, d1, d2, d3, d4). En parallèle, on a utilisé des disques imprégnés de DMSO qui vont servir de témoin négatif.

➤ **Antibiogramme :**

Les boîtes de Pétri ensemencées et à l'aide d'une pince stérile, on a déposé après séchage, les disques contenant les différentes concentrations des extraits étudiés. Du même un disque témoin imprégné du DMSO a été déposé dans les mêmes conditions. Chacune dans sa zone.

➤ **Incubation et lecture :**

Les boîtes de pétri sont fermées et transférées à l'étuve pour l'incubation à 37°C pendant 24 heures. L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque (à l'aide d'un pied à coulisse). Un extrait est considéré actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour de disque dont le diamètre est supérieur à 8 mm et à l'inférieur du la quelle aucune croissance n'est observée.



Chapitre III

Résultats & Discussions

I. Détermination des rendements d'extraction

La préparation des extraits à partir de la partie aérienne (feuilles et tiges) de *Borago Officinalis* a été effectuée par la méthode de macération à la température ambiante par une solution hydrométhanolique (méthanol 80% et l'eau distillée 20%) et l'affrontement par la suite des solvants à polarité croissante (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle, n- BuOH) (fractionnement des extraits).

Cette méthode permis d'obtenir quatre extraits dont le rendement calculé selon la relation suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = [(p_1 - p_0) / p] \times 100$$

– P : poids la matière végétale initial (g).

– P₀ : poids de ballon vide (g).

– P₁ : poids de ballon après évaporation totale de l'extrait (g).

I.1 Résultats et discussion:

Les valeurs obtenues sont représentées dans les tableaux suivant (Tab.10et 11) et Fig31.

Tableau 10: Rendement de l'extrait brut

Extrait	Rendement (g /100g de plante fraiche)
Extrait brut	$[(176,76-160,32) / 100] \times 100 = 16,44\%$

Tableau11 : Résultats de rendement des extraits

Extraits	Rendement (g /100g d'extrait brut)
Ether de pétrole	$[(179,26-179,02) / 100] \times 100 = 0.24\%$
Chloroforme	$[(179,756-179,02) / 100] \times 100 = 0.736\%$
Acétate d'éthyle	$[(179,232-179,02) / 100] \times 100 = 0.212\%$
n-butanol	$[(179,662-179,02) / 100] \times 100 = 0.642\%$

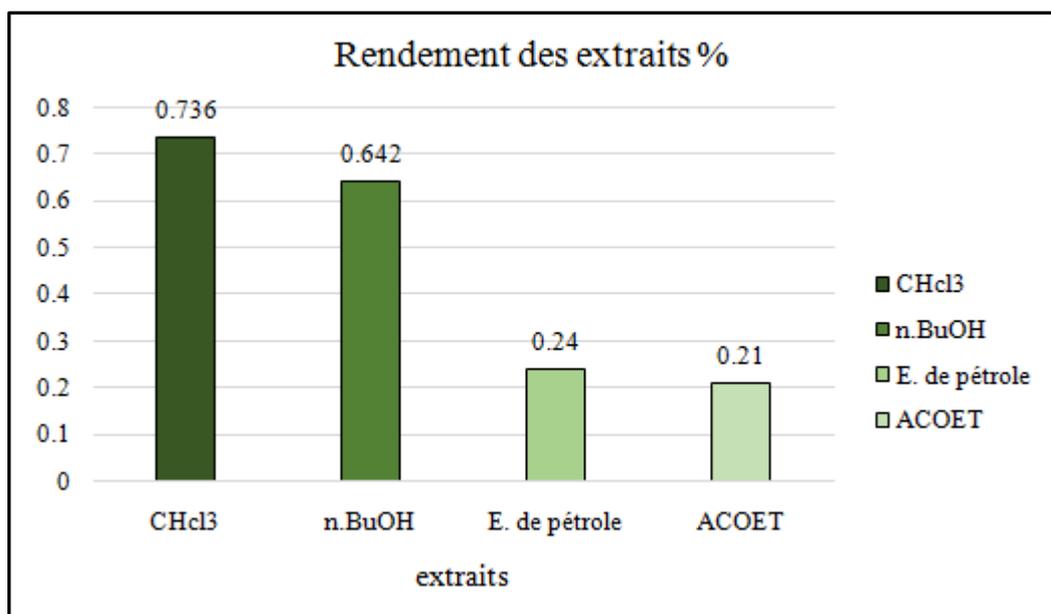


Figure 31 : Le rendement des extraits de *Borago Officinalis*.

Cette macération a permis d'obtenir un extrait brut d'une couleur verdâtre, Le calcul de rendement par rapport au poids total de la poudre des feuilles et tiges montrent que la plante a donné une masse en extraits sec égale **16,44 g**.

L'extraction liquide-liquide par des solvants ont des polarités différentes permet de séparer les composés de l'extrait brut selon leur degré de polarité. Cette méthode d'extraction menée à température ambiante permet d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

Les résultats obtenus montrent que parmi les différentes fractions de l'extrait brut, l'extrait chloroformique et l'extrait n- butanol représentent les rendements les plus élevés (**0.736%** et **0.642%** respectivement), par rapport a la quantité de la matière végétale poudre, par contre l'extrait moyennement polaire (l'acétate d'éthyle) et apolaire (l'éther de pétrole) représentent les rendements les plus faibles (**0.240%** et **0.212%**).

Il est difficile de comparer les résultats avec d'autres études, car le rendement n'est que relatif et dépend aux propriétés génétiques des plants, l'origine géographique, la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (l'organe utilisé, les conditions et à la durée de séchage, la nature des solvants utilisés et leur polarité).

(Benshaba W et Guiton R, 2016).

II. Analyse qualitative

II. 1. Résultats et discussion de screening :

Dans le but de rechercher les différentes classes des substances secondaires dans les extraits des feuilles et tiges de *Borago Officinalis*, nous avons effectué un screening phytochimique par la réalisation d'un ensemble de réactions de caractérisation (réaction de précipitation ou un changement de la coloration par des réactifs spécifiques) des différents composés chimiques tels que : les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les terpénoïdes, les alcaloïdes, les coumarines, les protéines, les quinones, anthocyanes et les glucides.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les différents extraits de *Borago Officinalis* représentés dans le tableau ci-dessous : +++ = quantité importante ; + = petite quantité ; - = absence

Tableau 12 : Résultats de screening phytochimique

Extraits / Composés	Extrait Ether de pétrole	Extrait Chloroformique	Extrait Acétate d'éthyle	Extrait n-butanol
Alcaloïdes	-	-	-	+++
Flavonoïdes	-	+++	+++	+++
Anthraquinones	-	-	-	-
Coumarines	-	-	-	-
Stéroïdes	-	-	-	-
Quinones libers	-	-	-	-
Protéines	-	-	-	-
Tannin galliques	-	+++	+++	+++
Tannins catéchiques	-	+	-	+
Stérols	-	+	-	+
Glucides	-	+++	-	+++
Saponosides	-	-	-	-
Anthocyanes	-	-	-	-

✓ **Alcaloïdes :**

Selon la Figure 32, les alcaloïdes sont complètement absents dans les trois extraits (éther de pétrole, chloroforme et acétate d'éthyle), par contre l'extrait n-butanol avait une teneur forte, grâce à l'apparition de la couleur rouge-orangés.

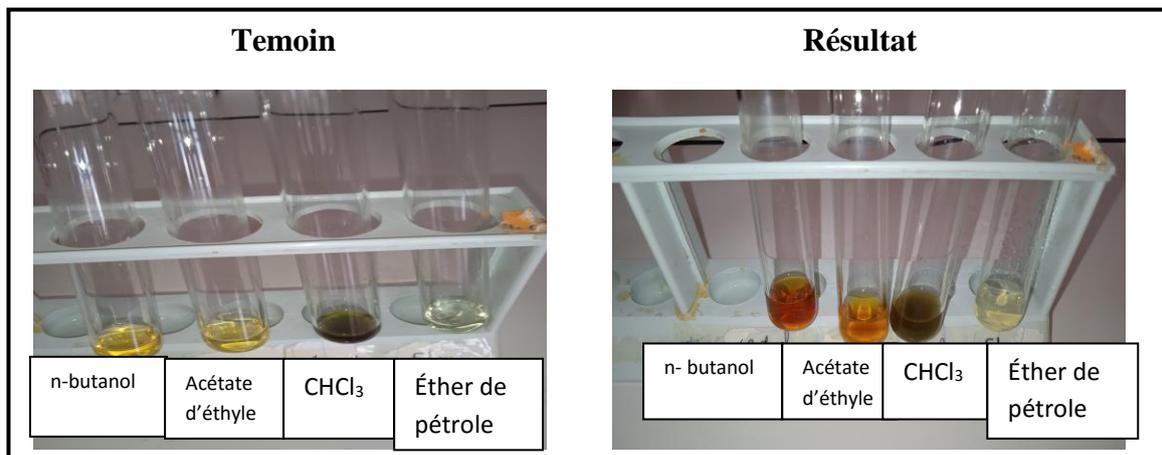


Figure 32 : Résultat du screening phytochimique des Alcaloïdes.

✓ **Flavonoïdes**

Pour les résultats de ce test, il semble que les trois extraits (n- butanol, Acétate d'éthyle, chloroforme) contiennent des flavonoïdes en concentration très élevée grâce à l'apparition de la coloration verdâtre, par contre l'extrait d'éther de pétrole est pauvre en flavonoïde. (Figure.33)

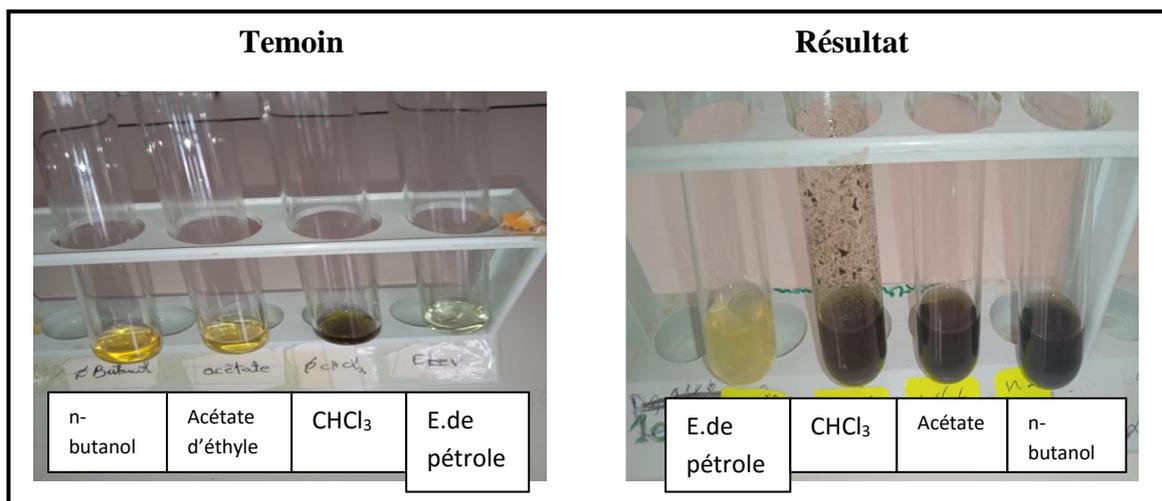


Figure 33 : Résultat du screening phytochimique des Flavonoïdes.

✓ **Anthraquinones**

D'après le test utilisé, les anthraquinones (Figure 34) sont entièrement absentes dans les quatre extraits étudiés, Ce résultat est confirmé par l'absence d'un anneau rouge.

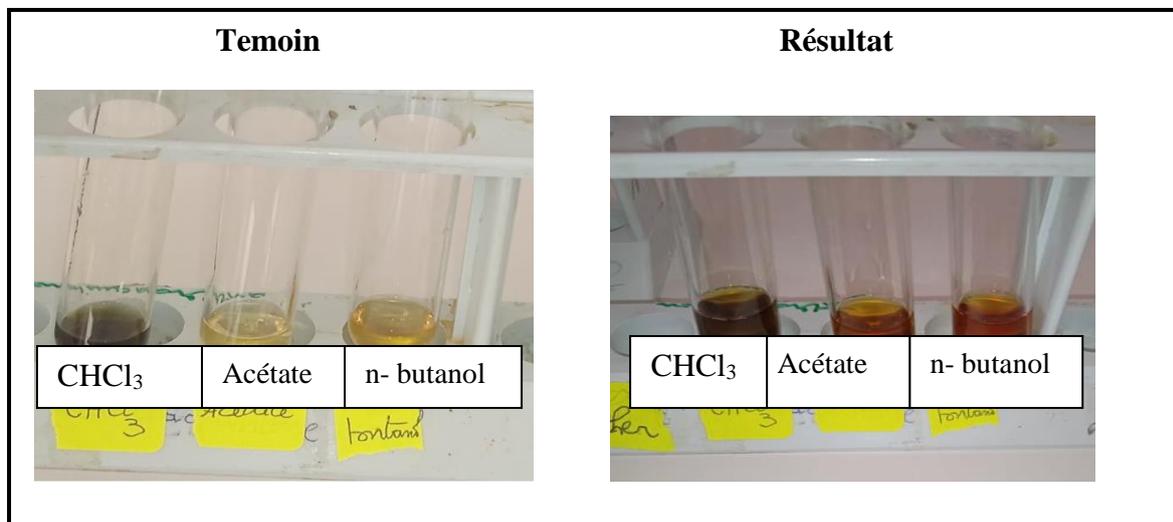


Figure 34 : Résultat du screening phytochimique des Anthraquinones.

✓ **Coumarines et Stéroïdes**

D'après les tests utilisés, les coumarines (Figure 35) et les stéroïdes (Figure36) sont entièrement absents dans les quatre extraits étudiés (absence de la coloration jaune pour les coumarines et violette pour les stéroïdes).

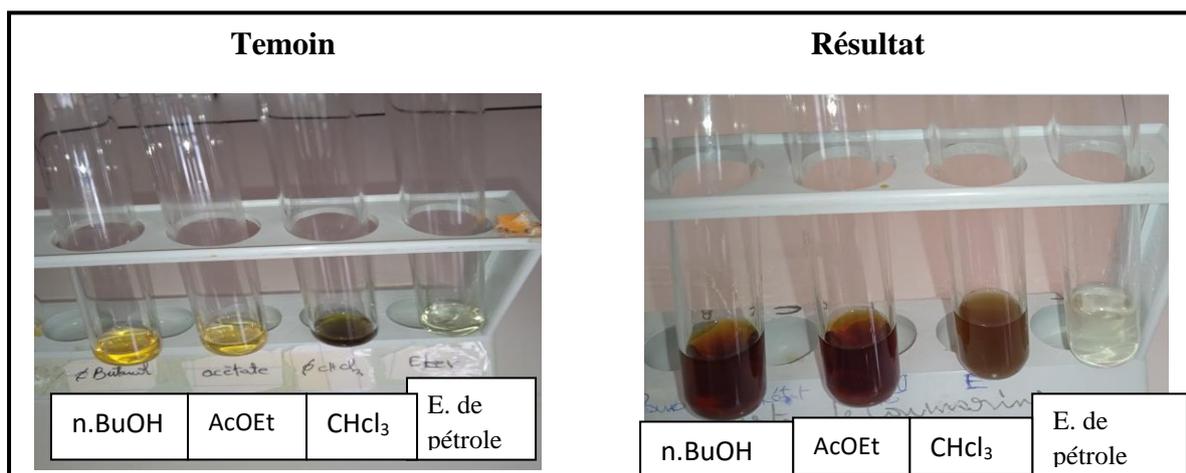


Figure 35 : Résultat du screening phytochimique des Coumarines.

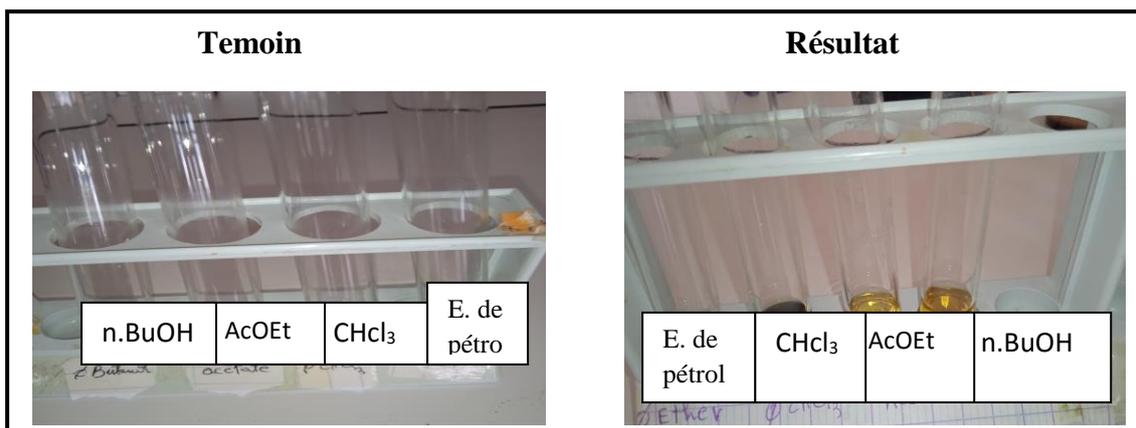


Figure 36 : Résultat du screening phytochimique des stéroïdes.

✓ **Quinones libers**

L'absence de la coloration jaune dans les quatre tubes montre que les quatre extraits sont pauvres en Quinones (Figure 37)

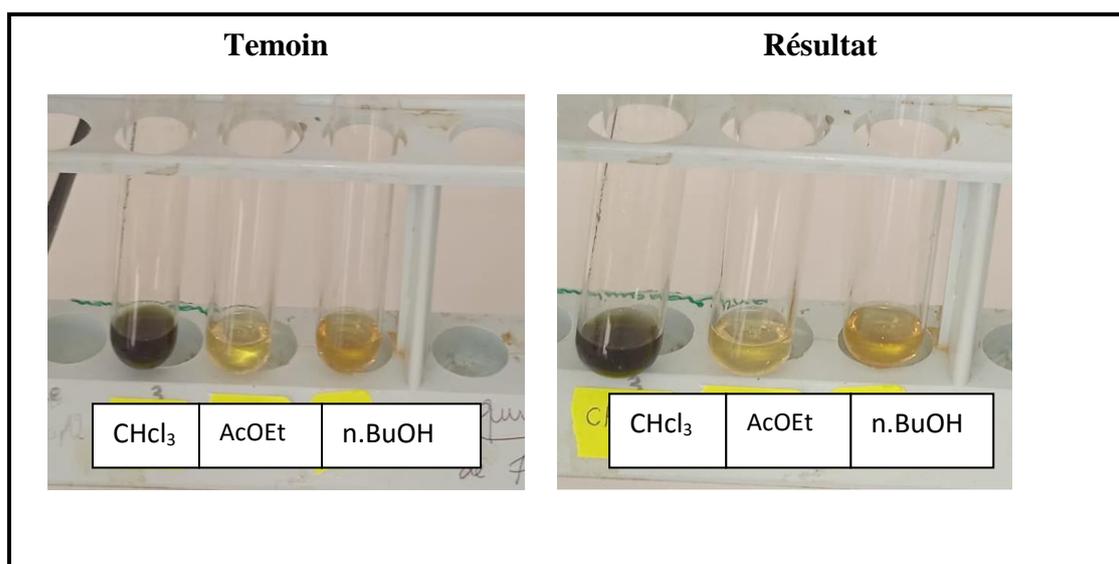


Figure 37 : Résultat du screening phytochimique des Quinones libers.

✓ **Protéines**

Selon la Figure 38, les protéines sont complètement absentes dans les quatre extraits étudiés. Ce résultat est confirmé par l'absence de coloration violette.

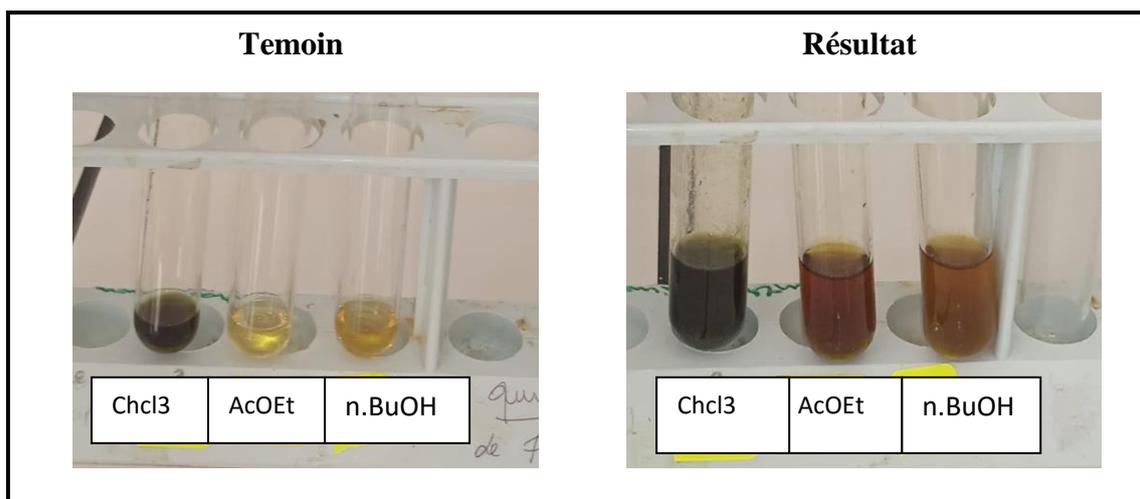


Figure 38 : Résultat du screening phytochimique des Protéines.

✓ **Tannins galliques**

L'apparition d'une couleur bleu- noir indique que les trois extraits, (n- butanol, Acétate, chloroforme) contiennent les tannins galliques (Fig. 39)

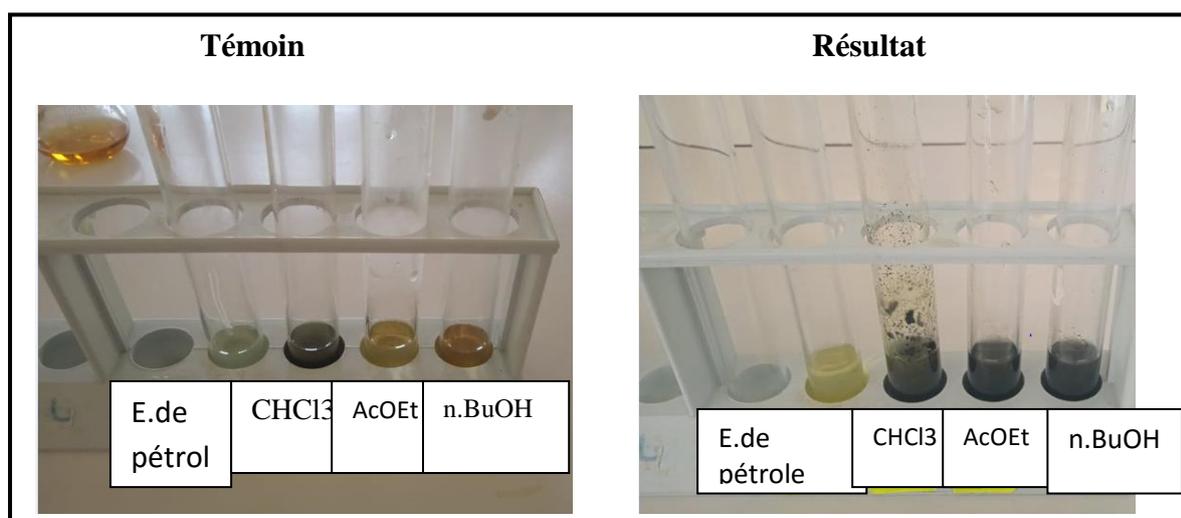


Figure 39 : Résultat du screening phytochimique des Tannin galliques.

✓ **Tannins chatéchiqes**

Pour les résultats de ce test, il semble que les extrais chloroformique et n-butanol contient des tannins chatéchiqes, par contre l'extrait d'éther de pétrole et acétate d'éthyle sont pauvre en tannins chatéchiqes (pas de coloration pour l'éther et la couleur orange au lieu de celui brune-verdâtre pour l'acétate d'éthyle). (Figure 40)

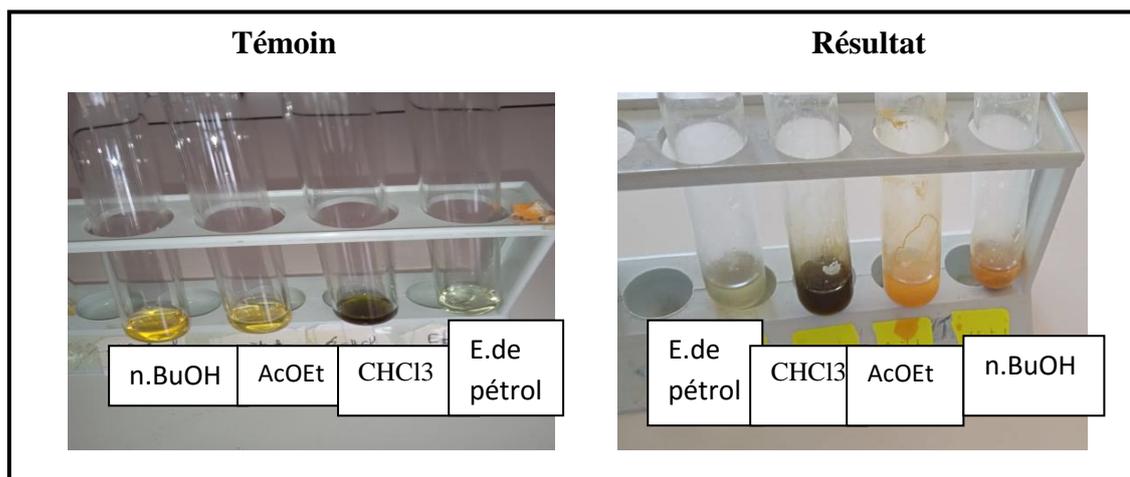


Figure 40 : Résultat du screening phytochimique des Tannin catéchiques.

✓ Stérols

Pour les résultats de ce test, il semble que les extraits chloroformique et n-butanol contient des stérols en concentration faible grâce à l'apparition d'une couleur verte de la couche surnageant sans anneau rouge-brunâtre à la zone de contact des deux liquides, par contre les autres extraits sont pauvre en Stérols. (Figure.41)

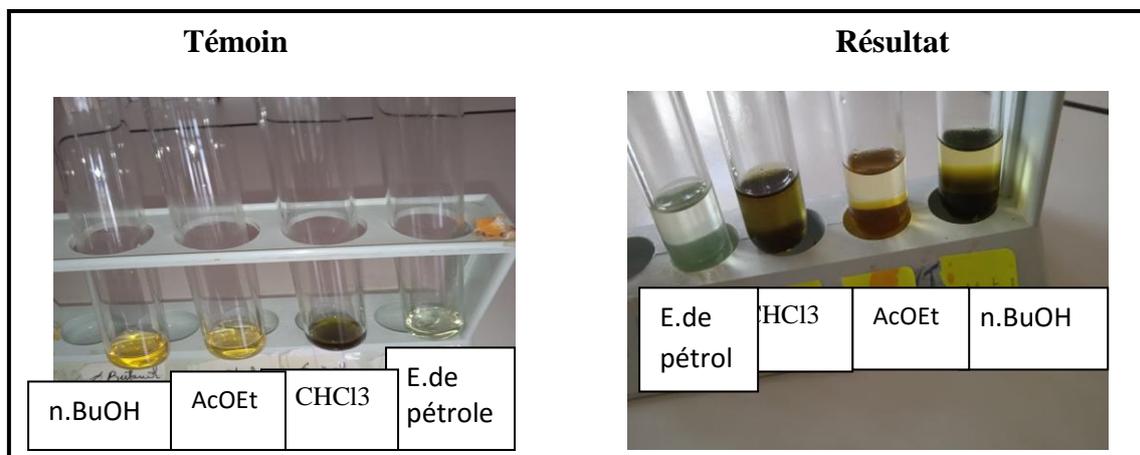


Figure 41 : Résultat du screening phytochimique des Stérols.

✓ Glucides

Selon la Figure 42, les glucides sont présents seulement dans l'extrait chloroformique et n-butanol, ce résultat est confirmé par la formation d'un précipité rouge brique.

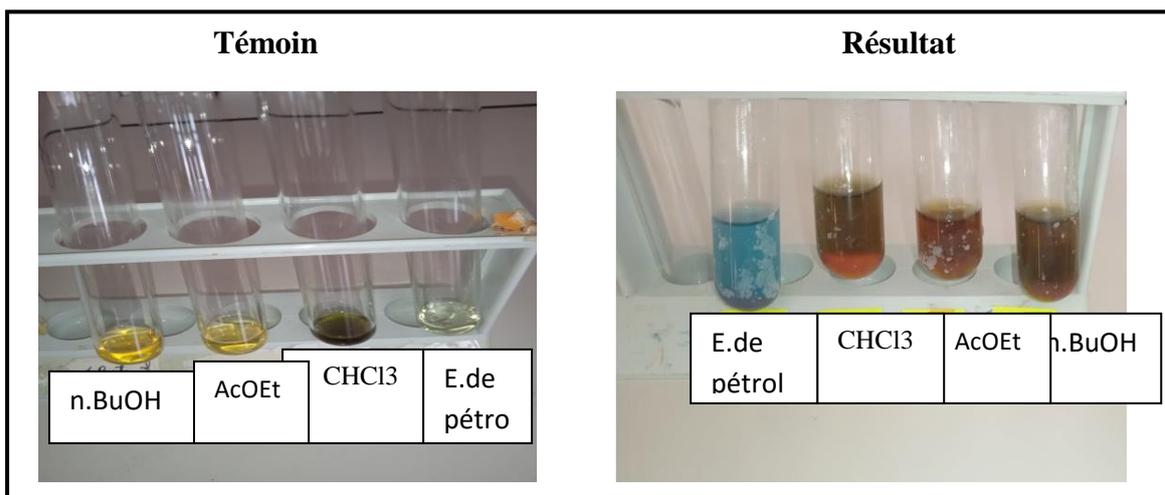


Figure 42 : Résultat du screening phytochimique des Glucides.

✓ **Saponosides**

La formation d'une mousse à un trait inférieur de 1 cm et rapidement disparaître montre que l'extrait aqueux est pauvre en saponines.



Figure 43 : Résultat du screening phytochimique des Saponosides.

✓ **Anthocyanes**

Selon la Figure 44, les Anthocyanes sont complètement absents dans l'extrait aqueux (pas de coloration rouge en milieu acide et bleu violacée en milieu basique).

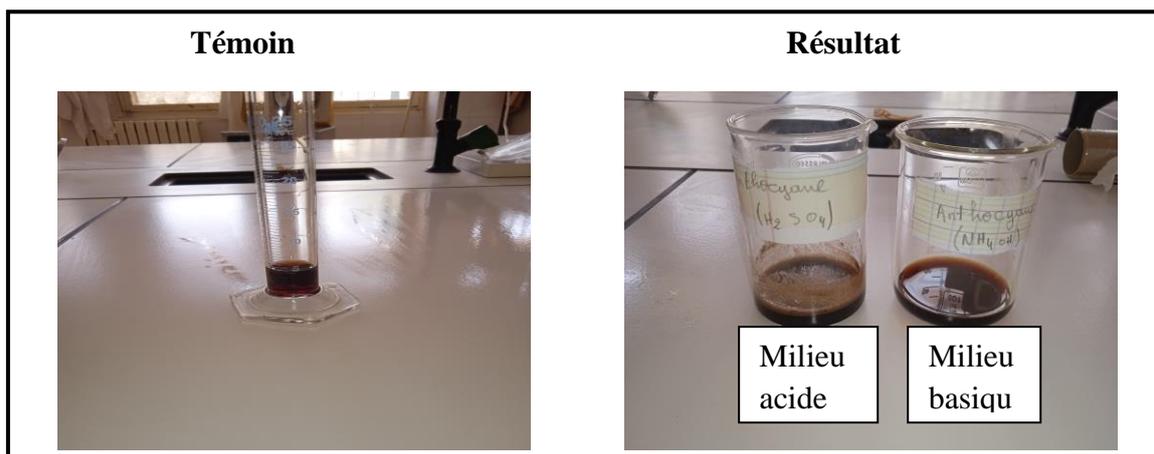


Figure 44 : Résultat du screening phytochimique des Anthocyanes.

Les tests phytochimique effectués sur les extraits de *Borago Officinalis* permet de déterminer qualitativement les composés non nutritifs mais biologiquement actifs qui confèrent la saveur, la couleur et d'autres caractéristiques à la plante, la raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués, et selon la disponibilité de réaliser ces tests.

Ces tests confirment la richesse de la plante *Borago Officinalis* de plusieurs familles phytochimiques importantes comme les alcaloïdes les flavonoïdes, les tanins Gallique et les Glucide ; par contre ils montrent que les stérols sont à faible quantité dans cette plante.

Ces résultats est similaires à celles obtenus en bibliographie.

Les coumarines, les quinones, les anthocyanes sont absents dans notre plante, ce résultat n'est pas identique à celui trouvé par (Boughrara, 2016).

L'absence des saponines au niveau des feuilles et tiges de la plante, ce résultat ne sont pas identique à celui trouvé par (Chaouche A, 2015) à partir des fleurs de *Borago Officinalis*.

La présence et/ou l'absence des composés chimiques dans les extraits peut être expliquée par le fait que la matière végétale peut contenir des quantités variables des acides phénoliques, des anthocyanines et des tanins, parmi d'autres. Il y a aussi une possibilité d'interaction de ces formation des complexes qui peuvent être assez insolubles (Nacz et Shahidi, 2006).

La richesse de l'extrait méthanolique en différents métabolites peut être due à la polarité du méthanol qui permet l'extraction de la majorité des composés polaires présents dans le matériel végétal (**Mahmoudi, 2013**)

III. Analyse quantitative

III.1. Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en phénols totaux des extraits est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu.

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 à différentes concentrations dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage (la courbe présentant une formule $Y = 8,597X + 0,030$ avec un coefficient de régression de la droite proche de 1 [$R^2=0,994$] prévenant la fiabilité de cette courbe dans la détermination des polyphénols). (**Annexes II**)

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec de la plante (**mg EAG/g ES**) (**Wong et al, 2006**). (**Figure 45**)

III.1.1. Résultat et discussion :

Après l'ajoute du réactif de Folin -Ciocalteu et de carbonate de sodium, une couleur bleu est obtenue dont l'intensité varie en fonction de la concentration phénolique d'extrait de la plante.

La valeur de la densité optique (DO) mesurée de chaque échantillon est mentionnée dans le tableau

Tableau 13 : Valeur de (DO) de chaque extrait

Extrait	DO
CHCL3	0.469
AcOEt	1
n.BuOH	2.388

La quantité des composés polyphénolique indiquée dans le tableau est calculée en mg EAG/mgE selon la relation suivante, puis transformée en mg EAG/gE :

$$Y = 8,597X + 0,030$$

Tableau 14 : La quantité des PPT de chaque extrait

Extrait	Teneur mg/g
n.BuOH	274
AcOEt	112
CHCl ₃	51

Les résultats du dosage des polyphénols totaux sont portés dans la Fig45.

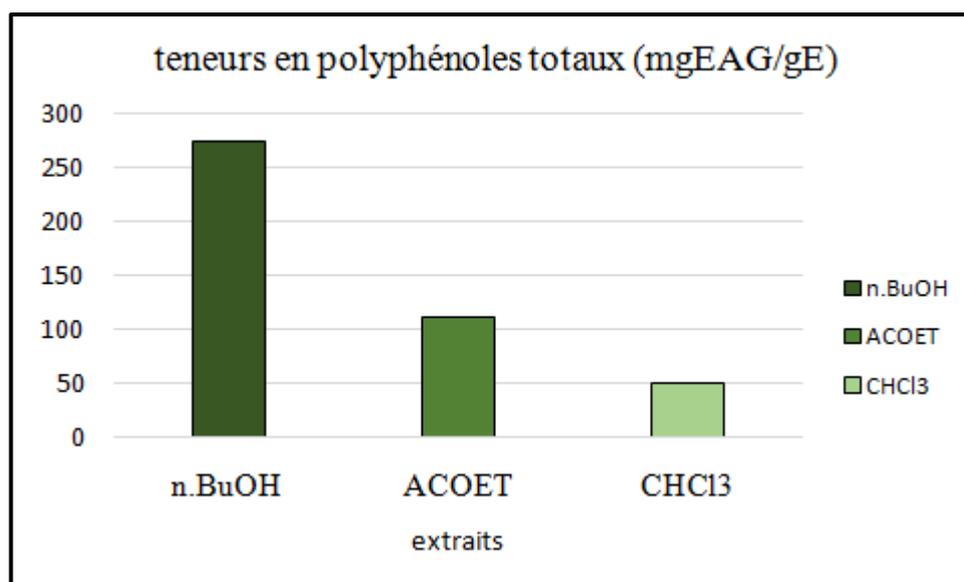


Figure 45: Teneurs en polyphénols totaux des extraits étudiés

Les quantités de composés phénoliques totaux différents dans les trois extraits analysés. Parmi les extraits de la bourrache, l'extrait n- butanol contient la plus grande quantité de composés phénoliques (274mg EAG/g), suivie par l'extrait acétate d'éthyle (112mg EAG/g), tandis que le niveau le plus bas a été enregistré dans l'extrait chloroformique (51mg EAG/g).

Selon (Peksel et al, 2013) la quantité des polyphénols totaux augmente avec l'augmentation de la polarité des solvants.

III.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination de la teneur en flavonoïdes des extraits a été réalisée selon la méthode au trichlorure d'aluminium (**Lamaison et Carnet, 1990**) et l'étalon c'est la quercétine.

La concentration des flavonoïdes est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon la quercétine à différentes concentration (la courbe présentant une formule $Y=21,14 X-0,0003$ avec un coefficient de régression de la droite proche de 1 [$R^2=0,998$] prévenant la fiabilité de cette courbe dans la détermination des flavonoïdes). (**Annexes II**)

III.2.1 Résultat et discussion :

La valeur de la densité optique (DO) mesurée de chaque échantillon est mentionnée dans le Tableau

Tableau15 : Valeur de (DO) de chaque extrait

Extrait	DO
CHCL3	1.513
n.BUOH	0.752
ACOET	0.743

La quantité des flavonoïdes indiquée dans le tableau est calculée en mg EAG/mgE selon la relation suivante, puis transformée en mg EAG/gE :

$$Y=21,14 X-0,0003$$

Tableau 16 : La quantité des flavonoïdes de chaque extrait

Extrait	Teneur mg/g
CHCl3	71,5
n.BuOH	35,5
AcOEt	35,1

Les teneurs des flavonoïdes des extraits étudiés représenté dans la figure ci-dessus

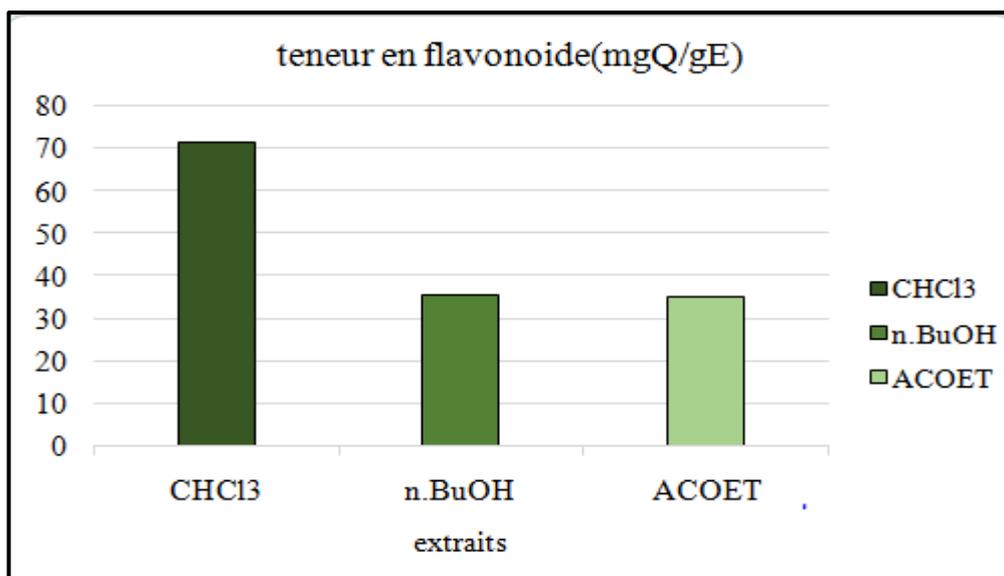


Figure 46 : Teneurs en flavonoïdes des extraits étudiés.

Les résultats des teneurs en flavonoïdes des extraits de *Borago officinalis* (tiges et feuilles) montrent que l'extrait chloroformique contient la plus grande quantité des flavonoïdes (71,5mg/g), suivie par l'extrait n-butanol et acétate d'éthyle qui ont des teneurs presque similaires (35,5 et 35,1 mg/g respectivement).

IV. Activité antibactérienne

Face aux problèmes de la résistance bactérienne aux antibiotiques synthétiques, beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antimicrobien des produits naturels d'extraits des plantes.

Nous avons évalué l'activité antibactérienne des extraits organiques (chloroformique, acétate, n-butanol) des feuilles et des tiges de *Borago Officinalis* sur différents souches de Gram- et Gram+ par la méthode des disques afin de déterminer l'action des extraits de la plante diluée par le DMSO à différentes concentrations.

Après 24h d'incubation à 37°C, on a récupère les boites et on a mesuré les diamètres des zone d'inhibition des différentes souches bactériennes testées à l'aide d'étrier coulissant ou d'une règle. L'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne est donnée par (Moreira et al , 2005). Ils ont classé de diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne suit :

- Non sensible : $D < 8$ mm
- Sensible : $9 < D < 14$ mm

- Très sensible : $15 < D < 19$ mm
- Extrêmement sensible : $D > 20$ mm

Ce test a pour but d'évaluer la sensibilité ou la résistance des souches vis-à-vis des extraits.

IV.1. Résultat et Discussion :

Les résultats obtenus indiquent que quatre souches bactériennes (*Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus Coagulant* (-), *Streptococcus* et *Staphylococcus Aureus*) montrent une sensibilité aux quelque concentration des extraits de *Borago Officinalis* par contre les trois souches restantes (*E. Coli*, *Salmonella* et *Bacillus*) ne présentent aucun sensibilité pour les trois extraits. Les résultats de la sensibilité et de la résistance aux extraits de *Borago Officinalis* sont représentés dans les Figures (47 et 48) suivantes et le tableau (16).

- *E. Coli*, *Salmonella* et *Bacillus* : l'absence des zones d'inhibition de croissance de ces souches de gram négatif (*E. Coli* et *Salmonella*) et Gram positif (*Bacillus*) indique que les trois extraits de *Borago Officinalis* à différente concentration ne montre aucun effet antimicrobienne sur ces bactéries.

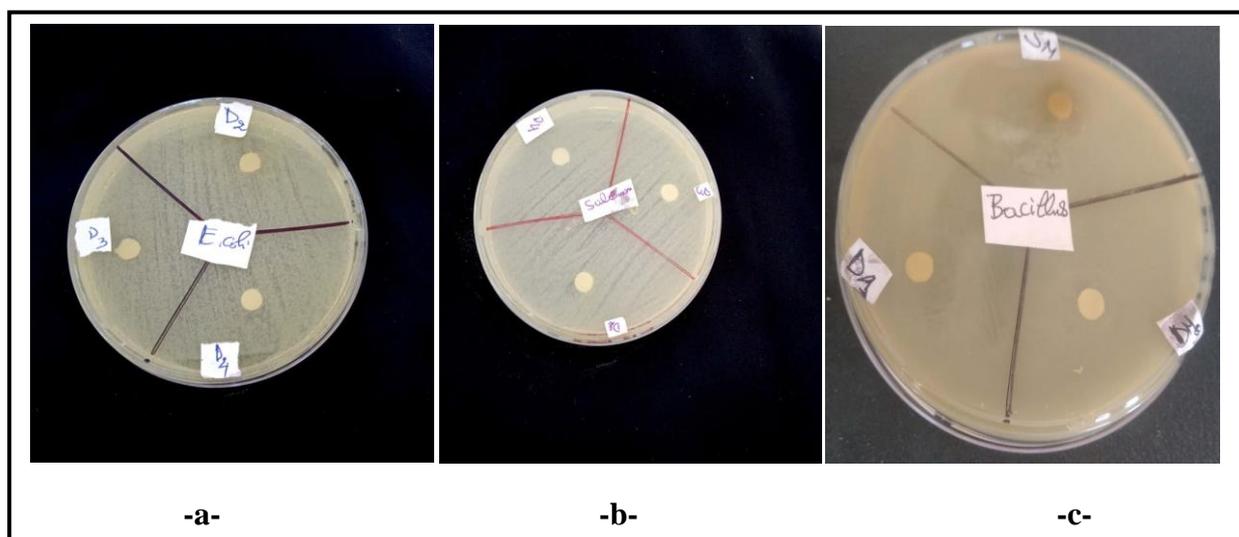


Figure 47 : exemples de la résistance des a : *E. Coli* / b : *Salmonella* / c : *Bacillus* aux trois extraits de *Borago Officinalis*.

- La sensibilité des quatre souches (*Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus Coagulant* (-), *Streptococcus Sp* et *Staphylococcus Aureus*) :

On note que *Streptococcus Sp* est la souche la plus sensible à l'action des différents extraits de *Borago Officinalis* avec des diamètres de zone d'inhibition compris entre 10 et 18 mm. L'extrait n-butanol exerce l'effet inhibiteur de la croissance le plus important sur cette souche.

En ce qui concerne *Pseudomonas Aeruginosa*, nous constatons que l'extrait chloroformique de *Borago Officinalis* est le plus efficace dans l'inhibition de la croissance de cette souche avec un diamètre dépassant 15 mm pour la solution mère

Contrairement aux *Pseudomonas Aeruginosa* et *Streptococcus Sp* la souche de *Staphylococcus Coagulant(+)* est le moins sensible à l'action des différents extraits de *Borago Officinalis* car la zone d'inhibition a été apparue seulement pour l'extrait acétate d'éthyle par un diamètre de 15mm.

Pour *Staphylococcus Coagulant(-)* Une faible inhibition est observée pour l'extrait EAc par un diamètre de 7 mm. (Tableau17)

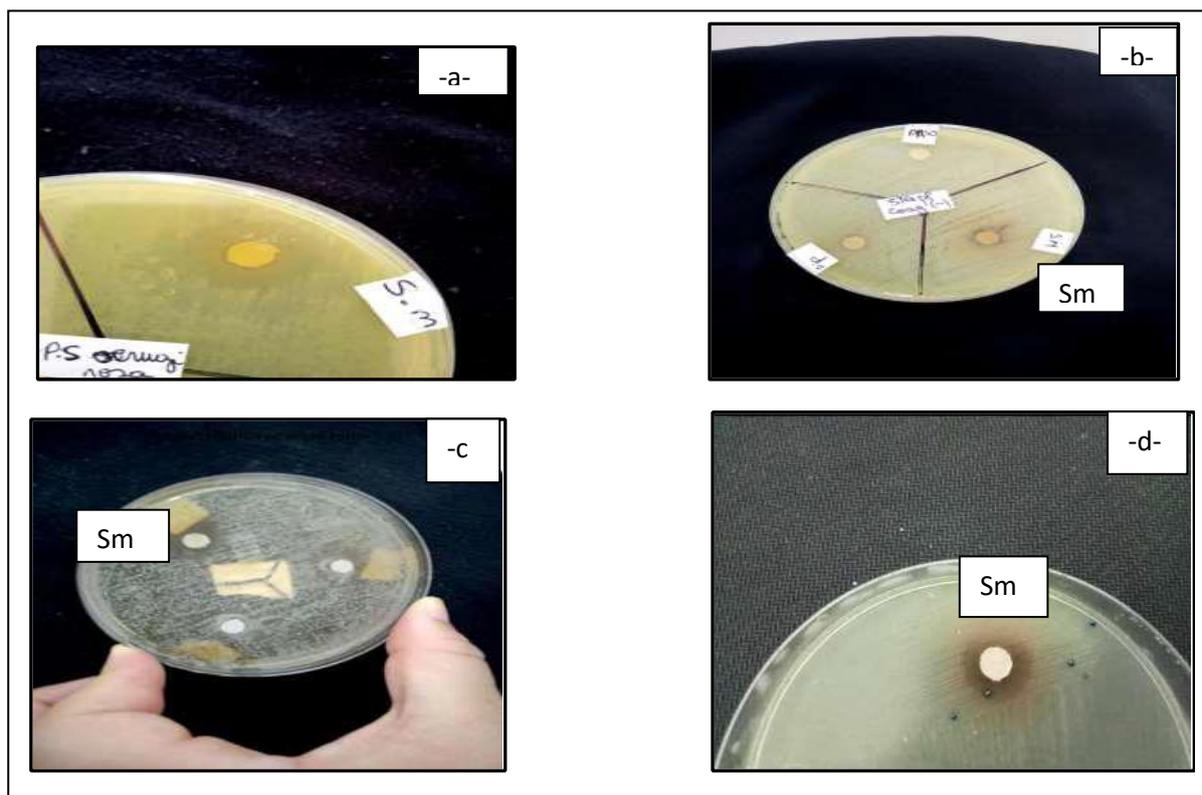


Figure 48: Exemple sur les zones d'inhibition obtenues, cas de solution mère des extraits de *Borago Officinalis* : **-a :** Sm d'extrait Chl sur *Pseudomonas Aeruginosa* - **b :** Sm d'extrait EAc sur *Staphylococcus Coagulant (-)* -**c:** Sm d'extrait EAc sur *Staphylococcus Aureus* -**d :** Sm d'extrait EAc sur *Streptococcus Sp*

Tableau17 : Résultat de la sensibilité aux extraits de *Borago Officinalis*

		Diamètre de la zone d'inhibition (mm) en fonction des différentes concentrations des extraits (mg /ml)								
Types d'extraits		Chloroforme			Acétate d'éthyle			n-butanol		
Concentrations (mg/ml)		Sm	D1	D2	Sm	D1	D2	Sm	D1	D2
Les souches bactériennes	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	15,41	12,68	11,89	10,68	7,57	R	R	R	R
	<i>Staphylococcus Coagulant (-)</i>	R	R	R	7	R	R	R	R	R
	<i>Streptococcus Sp</i>	R	R	R	13	12,5	10	18	14	R
	<i>Staphylococcus Aureus</i>	R	R	R	15	R	R	R	R	R
	<i>E. Coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	<i>Salmonella</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	<i>Bacillus</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Les résultats ont montré un pouvoir antibactérien important, Ce dernier expliqué par la variation de diamètres des zones d'inhibition d'une bactérie à une autre, d'un extrait à un autre et d'une concentration à une autre.

La variation de l'activité antimicrobienne de *Borago Officinalis* peut être influencée par deux facteurs l'un est la composition chimique des différents extraits et l'autre c'est le type des microorganismes (Lakhdar L, 2015).

Escherichia Coli et *Salmonella* sont les plus résistantes, cependant L'influence remarquable des extraits de *Borago Officinalis* sur *Streptococcus Sp* et *Staphylococcus Coagulant* (+) peut être expliquée par le fait que ces souches sont de Gram+ et que ces souches sont connues par leur sensibilité à l'action des différents métabolites secondaires (Bouzouita et al, 2008).

Néanmoins, Les *Cocci* à Gram positif se caractérisent aussi par leur capacité d'évolution de leurs phénotypes de résistance aux antibiotiques (Dzidic et al, 2008), ce

qui justifie la résistance de *Staphylococcus Coagulant* (-) à l'action des différents extraits de *Borago Officinalis*.

On mentionne que, le solvant utilisé pour dissoudre les résidus secs de ces extraits organique (DMSO) n'a donné aucune zone d'inhibition.

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 k, 2014).

L'ensemble des résultats montre que les extraits étudiés sont douées d'une activité anti- bactérienne contre la majorité des souches testées dans cette étude. Cette importante bioactivité des extraits étudiés est en relation avec leur composition chimique (la richesse en flavonoïdes et les tannins galliques et chatéchiqes. ces résultats sont confirmés par les études de (Javad A et Hossein T, 2011) qui révéle que les extraits de fleur de *Borago Officinalis* ne possèdent aucune activité bactéricide contre *E. Coli* et *Salmonella* et aussi l'étude de (Abolhassani M, 2004) qui révéle que l'extrait aqueux de fleur de *Borago Officinalis* possède une activité antibactérienne dépendante de la concentration contre *Staphylococcus Aureus*.



Conclusion

Les plantes médicinales ont fourni une réserve complète des remèdes pour guérir les maux de l'humanité. Elles restent la plus source abondante et largement disponible en molécules naturelles bioactives dotés d'activités biologiques.

En effet, ce travail rentre dans le cadre de la valorisation de la plante *Borago Officinalis* (*Bourrache*), à fin de valider leur utilisation traditionnelle comme un traitement pour soulager l'inflammation de la gorge (les amygdales) tant par leur caractérisation phytochimique et l'évaluation de leur activité antibactérienne.

Dans un premier temps, nous avons fait une extraction des substances bioactives de *Borago Officinalis* (tige et feuille) par macération suivie par des extractions liquide-liquide à partir de 4 solvants à polarités croissantes : (Ether de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol) et elle fournit les rendements suivants :

- ✓ Pour l'extrait brute 16.44% et pour les quatre extraits (0.24%, 0.736%, 0.212%, 0.642% respectivement).

Puis, une étude de screening phytochimique a été réalisée avec les quatre extraits. Les résultats obtenus dans ces différents tests révèlent la diversité et la richesse de cette plante en substances actives ce qui confirme leur valeur phytochimiques et qui en plus, aussi souligne la justification de leur valorisation.

Ainsi, l'analyse quantitative montre que la plante *Borago Officinalis* est riche en polyphénols et flavonoïdes avec des teneurs considérables suivants :

- ✓ L'extrait de n-butanol révèle un bon teneur des polyphénols totaux, 274mgEAG/gE, et les deux extraits d'acétate d'éthyle et de chloroforme présentent des teneurs moyens (112mgEAG/gE ,51 mg EAG/gE respectivement).
- ✓ Par contre les teneurs de dosage des flavonoïdes des trois extraits montrent que l'extrait chloroformique est riche en flavonoïdes avec une valeur de 71.5mgEQ/gE, et les deux extraits (n-butanol et acétate d'éthyle présentent une valeur moyenne 35.5 mg EQ/gE, 35.1 mg EQ/gE respectivement).

Enfin, des tests anti bactérienne des trois extraits (n-butanol, acétate d'éthyle et chloroforme) de la plante *Borago Officinalis* ont été réalisés, selon la méthode des disques (diffusion en milieu gélosé), vis à vis plusieurs souches pathogène, ont été montrés une sensibilité variable ayant des zones d'inhibition allons de 6.73mm à 18mm

a une concentration de 100mg/ml. Dont l'extrait acétate d'éthyle montre une bonne activité contre *Streptococcus Sp* à différents concentrations (10mm-13mm) et d'autre souche (*Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus Coagulant* (-), *Staphylococcus Aureus*) où la valeur maximale a été observée avec l'extrait n-butanol (18mm) contre *Streptococcus Sp* à fort concentration(SM) et l'extrait chloroforme montre une activité moyenne contre *Pseudomonas Aeruginosa* (11.89mm-15.41mm)

Les résultats obtenus constituent une justification scientifique de l'usage traditionnel de la plante *Borago Officinalis*. Nos résultats restent préliminaires ce qui ouvre les perspectives suivants :

- Réaliser une étude biochimique plus approfondie sur la famille de *Boraginaceae* plus précisément de *Borago Officinalis* par d'autres méthodes d'extractions.
- Faire une purification et identification des composés bioactifs de cette plante par des méthodes plus fiables telles que HPLC, CPG pour mieux comprendre leur mécanisme d'action, leur dose thérapeutique ainsi que leur site d'action.
- L'extraction des huiles essentielles de la graine de *Borago Officinalis* et leur utilisation contre la sécheresse cutanée, le vieillissement, les rides et les vergetures.
- Etudier l'activité antioxydant de ces extraits par la méthode de FRAP et l'activité anti inflammatoire.
- Réaliser une étude de l'activité antibactérienne plus approfondie avec les souches responsables de l'infection de la gorge plus précisément avec *Streptococcus Pyogenes*.
- Penser à remplacer les antibiotiques par ces substances bioactives.



*Références
Bibliographiques*

A

- **Abedini, A. (2014).** Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis Atrorubens Poit. (Lamiaceae)*, sélectionnées par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de doctorat. Université Lille 2 (France). p 210.
- **Abolhassani, M. (2004).** Antibacterial effect of borage (*Echium Amoenum*) on *Staphylococcus Aureus*. *Brazilian Journal of infectious diseases* 8, 382-385.
- **Aichi Mohammed. (1977).** Etude phytochimique de la plante *Atrctylis Cancellata*. De Magister en chimie organique.
- **Akharaiyi ,F. C., et Boboye ,B. (2010).** Antibacterial and Phytochemical Evaluation of Three Medicinal Plants. *Journal of Nat Prod.* (3) 27-34. pages 8
- **Akinwumi, B., Bordun, K .A ., et Anderson, H. (2018).** Biological activities of stilbenoids. *Int J Mol Sci.* 19(3), p 792-803.
- **Anonyme. (1974).** Encyclopédie-Le Grand Médical. *L'histoire de la médecine et de la chirurgie, l'avenir de la médecine, les prix Nobel*. Edition Service S.A., Genève (Suisse).p 397.
- **Anwarul ,H. G., Samra ,B ., et Arif , U. K. (2006).** Pharmacological basis for the use of *Borago Officinalis* in gastrointestinal, respiratory and cardiovascular disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 114 (2007) 393–399
- **Asadi-Samani, M., Bahmani, M ., Rafieian-Kopaei, M. (2014).** The chemical composition, botanical characteristic and biological activities of *Borago Officinalis*: a review. *Asian Pacific journal of tropical medicine* 7, S22-S28.
- **Attard,E ., et Pacioni ,P. (2012).** The phytochemical and in vitro pharmacological testing of Maltese Medicinal Plant. *In Bioactive Compounds in Phytomedicine*, Edited by Prof. Iraj Rasooli. Ed In Tech, 93-112.
- **Attou, A. (2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta Chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de Magister. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

B

- **Badiaga, M. (2012).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia Smith*, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako (Mali), p.75-184
- **Balasundram, N., Sundram, K., et Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.*, 99(1): 191-203.
- **Belhamel Kamel., kheyar Nawel., Meridja Dahia. (2014).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula Viscosa*, *Salvia Officinalis* et *Laurusnobilis* de la région de Bejaia. *Algerian journal of natural products* 2 ; 1(2014)18-26
- **Beloued, A. (1998).** Plantes médicinales d'Algérie. *Office Des Publications Universitaires*. Alger.
- **Benamar, H. (2016).** Isolement et caractérisation d'inhibiteurs naturels de L'acétylcholinestérase. Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella (Oran), p 325.
- **Benshaba wahiba., et Guiton Rahma. (2016).** Effet synergique des épices constitutives de mélange « ras el hanout » sur les activités anti-inflammatoires antioxydantes. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- **Bertin, E. (2014).** Les polyphénols des actions bien au-delà du resvératrol et des effets antioxydants. *Cahiers de nutrition et de diététique*. vol 49. 139-140 p.
- **Bhat, S.V., Nagasampagi, B.A., Sivakumar, M. (2005).** Chemistry of Natural Products. Narosa, New Delhi, India. Ch. 4, 237 p.
- **Bijalwan, V., Ali, U., Kesarwani, A.K., Yadav, K., et Mazumder, K. (2016).** Hydroxycinnamic acid bound arabinoxylans from millet bran: structural features and antioxidant activity. *Int J Biol Macromol.* 88: 296-305.
- **Boizot, N., et Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques d'un arbre forestier. Méthode et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques INRA. p79-82.
- Borago – bourrache. Les genres. <https://www.queleestcetteplante.fr>

- **Bouchouka ,E. (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes sahariennes. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar- Annaba.
- **Bougandoura, N. (2010).** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Saturejacalaminthas Sp. Nepta (Nabta) et Ajugaiva L. (Chendgoura)* de l'ouest d'Algérie. Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen, 83p.
- **Bougrara, B. (2016).** Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêts thérapeutique et nutritif du Parc national El- kala.
- **Bouzouita,N ., Kachouri, F ., Benhalima, M ., Chaabouni,M.M. (2008).** composition chimique et activité antioxydant, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus Phoenicea* .*journal de la société chimique de Tunisie* 2008, 10,119-125.
- **Bremer, K ., Bremer B, et Thulin ,M. (2003).** Introduction to Phylogeny and Systematics of Flowering Plants. Uppsala University, Stockholm, 102 p.
- **Bruneton, J. (2009).**Phytochimie et plantes médicinales. *J. Pharmacognosie.* 4eme Ed Lavoisier. Paris. 1288p.
- **Bruneton, J. (1999).** Phytochimie et plante médicinale. *J. pharmacognosie.* 3eme Ed Lavoisier. Paris. 1120 p.

C

- **Chaouche Afif. (2015).** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou – Algérie.
- **Collin,S ., et Crouzet, J. (2011)** .Polyphénols et procédés : transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Lavoisier.

D

- **Daira ,N ., Cherif Maazi , M ., et Cherfrour, 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.* 85: 276-290.

- **Davies ,J.(1994).**Inactivation of antibiotic and the Dissemination of resistance genes science .vol.264.PP.375-382.
- **De Borée. (2012).** Atlas illustré des plantes médicinales et curative .70 P
- **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. 65-70 p.
- **Dibong, S. D ., Mpondo, M. E ., Nigoye, A ., Kwin, M. F., et Betti, J. L. (2011).** Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. Ethnobotany and phytomedicine of medicinal plants sold in Douala markets.*Journal of Applied Biosciences* 37: 2496 – 2507. ISSN 1997–5902. Published online at www.biosciences.elewa.org
- **Dohou ,N. (2004).** Approche Floristique, Ethnobotanique, Phytochimique et Etude de l'Activité Biologique de *Thymeleae Lythroïdes*. Thèse de Doctorat. Université de Maroc.59 p.
- **Douhou ,N ., Yani ,K ., Thahrouch, S ., Idrissi Hassani L,M ., Badoc ,A ., et Gmira, N. (2003).**Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, *Thynelaea Lythroides* .bull.Soc Pharm.bordeaux ,142 :61-78.
- **Dufresne ,C ., Ouellet, C ., Beauregard, G ., Rioux,A. (2010).** La bourrache. Guide de production sous régie biologique, Québec 26.
- **Dzidic, S., Suskovic, J ., et Kos ,B. (2008).**Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. *Food Technol. Biotechnol*, Vol.46, N°1.11–21 PP.

E

- **Eltouassi, N. (2004).** Elaboration de procédés biotechnologiques pour la valorisation du romarin (*Rosmarinus Officinalis*). Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, 57 p.
- **Epifano ,F., Genovese, S., Menghini, L., Curini, M. (2007).** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Rev. Phytochem*68: 939 -953.

G

- **Galiniak ,S ., Aebisher, D., et Bartusik-Aebisher ,D. (2019).** Health benefits of resveratrol administration. *Acta Biochim Pol.* 66(1) 13-21 p.
- **Gandini ,C. (2016).** Etude phytochimique d'une plante médicinale prévenne *Cordialutea Lam.* Ayant démontré une activité biologique contre la bactérie *Helicobacter Pylori*. Thèse de doctorat. Université Paul Sabatier, 93p.
- **Ghassemi-Golezani ,K., Dastborhan ,S., Zehtab-Salmasi, S. (2013).** Seed priming and field performance of borage (*BoragoOfficinalis L*) under different irrigation treatments. *Int J Agron Plant Prod* 4, 82-87.
- **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Pharmacognosie* N°4, 162-169 P
- **Goodwin,T. W., et Mercer, E. I. (1990).** Introduction to plant biochemistry. 2^{ème} éd .Pergamon press. 660 p.
- **Griffiths, G., Brechany, E.Y., Jackson, F.M., Christie,W.W., Stymne, S., Stobart, A.K. (1996).** Distribution and biosynthesis of Stearidonic acid in leaves of *Borago Officinalis*. *Phytochemistry* 43, 381-386.
- **Guignard ,J. (1996).**Biochimie végétale. *Lavoisier*. Paris.175-192 p.
- **Guignard, J. (2000)** .Biochimie Végétale 2^{ème} éd. *Dunod*. Paris. 274 p.

H

- **Hannebelle,T. (2006).** Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrice d'antioxydants. Chimie Organique et Macromoléculaire. Thèse de Doctorat. Université de Lille1.
- **Hartmann, T. (2007).**From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant Secondary metabolism. *Phytochem* 68 :2831–2846.
- **Hellal ,Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina Pilchardus*). Mémoire de magister." Biochimie appliquée et Biotechnologies". Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 16-17 p.

- **Herouini , A ., Keassi ,A ., et Ould el hadj, M. D. (2015).** Etude de l'activité biologique des extraits aqueux d'*Euphorbia Guyoniana (Euphorbiaceae)* récoltée dans Oued Sebseb (Sahara Algérien). *Biologie*, 8: 15-25.
- **Hesse, M. (2002).** Alkaloids, Nature's Curse or Blessing, VHCA, Zürich.
- **Heywood ,V.H., Brummitt ,R.K ., Culham ,A ., et Seberg, O. (2007).** Flowering plant families of the world.
- **Hoffmann, L. (2003).** Etude du Métabolisme des Phényl Propanoïdes. Analyse de l'interaction de la Caféoyl-Coenzyme A 3-O-méthyle-transférase (CCoAOMT) avec son Substrat et Caractérisation fonctionnelle d'une Nouvelle Acyl-transférase, l'Hydroxycinnamoyl-CoA, Shikimate-quinone Hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). Thèse de Doctorat. Université de Louis Pasteur-Strasbourg I, France.193- 202 p.
- **Hopkins, W. G. (2003).** Physiologie végétale. *De Boeck Supérieur*. 280 p.

I

- **Ilker ,U ., Suleyman, B ., Nurettin ,Y ., et Yunus, D. (2009).** The investigation and quantitative ethnobotanical evaluation of medicinal plants used around Izmir Province, Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research Vol. 3(5)*. 345- 367 pp.

J

- **Janat, A ., Mamyrbekova, B ., Boua , B ., Boua1 ., Fézan, H ., Tra Bi Yves., Alain Békro., et Ehouan, E. (2007).** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia Benthiana (Baill)* Herend. et Zarucchi (*Caesalpinaceae*)
- **Javad.A et Hossein. T. (2011).** Antioxidant and antibacterial activities of various extracts of *Borago Officinalis* flowers. *Journal of Food Processing and Preservation*. Issn 1745-4549.
- **Jean Yves Chabrier. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de Doctorat .Université Henri Poincaré - Nancy 1.

- **Jesus cardenas. (2017).** Histoire de l'utilisation de la bourrache en phytothérapie. <https://www.doctissimo.fr/equipe/les-experts-de-doctissimo>.
- **Joshi, K., Mehra, D., Kumar, N., Bisht, M ., et Sharma ,D. K. (2016).** *Cynoglossum L.* A review on phytochemistry and chemotherapeutic potential. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 5 (4): 32-39.

K

- **Kazani , S ., Arm, J ., Boyce ,J., et al. (2014)** .LTC4 synthase polymorphism modifies efficacy of botanical seed oil combination in asthma. *SpringerPlus,* 3 :661
- **Kebili Zohra . (2016).** Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits d'*Ephedra Alata* de la région d'Ouargla mémoire de magister.
- **Koffi, N ., Beugré, K ., Guédé,N ., Dossahoua, T., et Laurent, A. (2009).** Screening Phytochimique de Quelques Plantes Médicinales Ivoiriennes Utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Journal of Sciences and Nature.* 6(1): 1-15.
- **Konedes. (2009).** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes-extraction identification d'alcaloïdes caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse docteur de l'université de Bamako.
- **Krief, S. (2003).** Métabolites secondaire des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32 p

L

- **Lakhdar, Leila .(2015).** Evaluation de l'activité antibacterienne d'huiles essentielles Marocaines sur *aggregatibacter actionomycetemcomitans* étude in vitro
- **Lamaison, J.L.C., et Carnet,A. (1990).** Teneurs en Principaux Flavonoides des fleurs de *Crataegus Monogyna Jacq et de Crataegus Laevigata (Poiret D. C)* en Fonction de la Vegetation. *Pharmaceutica Acta Helvetia,*65, 315-320.

- **Lanzelotti P. (2011).** Les alcaloïdes des miels. *Universidad Nacional de Luján*, 145 :14-15 .*Le Centre technique de coopération agricole et rurale.* (2007). Les plantes médicinales
- **Lazli Amel ., Moncef B., Leila, G ., et Nour el Houda .N. (2018).** Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d’El Kala, Nord-est algérien). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. Vol, 88. Articles, 2019.22-43 p
- **Lee , K.H. (2004).** Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product lead. *Journal of Natural Products*67: 273-283.
- **Lendvai, B., Zelles ,T., Rozsa ,B ., Vizi, ES. (2002).** Vinca alkaloid enchanes morphological dynamics of dentric neocortical Layer 2/3 pyramidal cells. *Brain Research Bulletin*. 59 (4) : 257-260 p.
- **Lisa, L. (2017).** Les plantes médicinales pyrénéennes et leurs utilisations thérapeutiques dans les pathologies bénignes. thèse de doctorat .Université De Bordeaux.
- **Lucchesi, M.E.(2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l’extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de La Réunion, 72p.

M

- **Macheix , J., Fleuriet, A., et Jay-Allemand, C.(2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d’importance économiques .Edition presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne 191 p.
- **Mahmoudi ,S ., khali ,M ., Mahmoudi, N.(2013).** Etude de l’extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d’artichaut (*Cynara Scolymus L.*). *Revue « Nature & Technologie ». Sciences Agronomiques et Biologiques*, (09) :35-40.
- **Makhloufi, A. (2010).**Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de plantes médicinales poussant à l’état spontané dans la région de Bechar (*Matricariapubescens* Desf) et (*Rosmarinus Officinalis L*) et leur impact sur la

conservation des dattes et du beurre cru. Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen .136 p.

- **Manach ,C ., Scalbert, A ., Morand, C., Rémésy, C ., et Jiménez L.(2004).**Polyphenols : food sources and bioavailability. *Amer .Soc ; C lin .Nut*, 79 :727-47.
- **Manuel terrestre de l'OIE, (2008).** Méthodes de laboratoire utilisées pour les essais d'antibiorésistantes. 61-71p.
- **Martin, S ., et Andriantsitohaina , R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Ann. Cardiol. Angéiol.*, 51(6): 304-315.
- **Mayank , G ., swati, S. (2010).** *Borago Officinalis Linn*, an important medicinal plant of mediterranean region. Volume 5. Issus 1, novembre –December. 2010.
- **Mhamdi, B ., Wannas, W.A ., Sriti, J ., Jellali, I ., Ksouri, R ., Marzouk, B.(2010).** Effect of harvesting time on phenolic compounds and antiradical scavenging activity of *Borago*
- **Milcent, J.P. (2011).** Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. http://www.tela_botanica.org/wikini/florecoste/; mis à jour : 10/06/2011. Date de consultation : 15/01/15.
- **Moreira, M.R ., Ponceb , A.G ., Del Vallea ,C.E ., et Rourab, S.I (2005).**Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen.
- **Mouellet, M. (2005).**Screening phytochimique de deux espèces des plantes *Crotalia Retusa L (Papilionaceae)* et *Halleaciliata Aubrev & Pellegr (Rubiaceae)* récoltées au Gabon .Thèse de doctorat.Université de Bamaco –Mali .58-211p.
- **Muller, L., Gnoyke, S., Poopken, A.M., V., Bohm, V. (2010).** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulation. *LWT- Food science Technology* (43):992-999.

N

- **Nacoulma-Ouédraogo, O. (1996).** Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina-Faso : cas du Plateau central, Thèse de Doctorat Sciences Naturelles. Université d'Ouagadougou. (Burkina-Faso), 605
- **Naczk, M., Shahidi , F.(2006).** Phenolics in cereals, fruits and Vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm Biomed Anal*, 41: 1523-1542 (1527).
- **Nejjah, F., Ouhssine, M ., Srhiri, A.A ., El Yachioui, M ., Hajjaji , N. (2006)** Activité inhibitrice de la N-hexadécylétaine sur *Staphylococcus Aureu*. *Bull soc .pharm. Bordeaux*, 145,85-90.
- **Nicolas, M ., et Daniel, C. (1998).** Activités technologiques en microbiologie. *Techniques de base et méthodologie*. Editeurs CRDP D'Aquitaine .bordeaux, 152 p.

O

- **Oloyede ,O. (2005).** Chemical Profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pakistan Journal of Nutrition*. 4(6): 379-381.
- **OMS. (2015).** Organisation Mondiale de Santé. Antibiotiques : à manipuler avec précaution.
- **Okusa Ndjolo ,Philippe ., Beuerie ,T., Stevigny Carolin ., Duez Pierre .(2012).** Absence of pyrrolizidine alkaloids in *Cordia Gilleti* de wild (*Boraginaceae*). *In biochemical Systematic and Ecology*,41,1-2.

P

- **Pascal, M ., et Véronique, Ch. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. *Collection science et techniques agroalimentaires. Ed. Technique et Documentation*. Paris. 2-25 p.
- **Paul , I ., Michel , M ., Jean, P.R .(2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. *les avantages de la phytothérapie et l'efficacité des plantes entières, Larousse*. 10-11 p.

- **Paume, M. (2009).** Sauvages et toxiques : Plantes des bois, des prés et des jardins. Edition Edisud. Paris. 255 p.
- **Peksel , A ., Arisan, I .,et Yanardag ,R.(2013).** Radical scavenging and anti-acetylcholinesterase activities of aqueous extract of wild pistachio (*Pistacia Atlantica Desf*) leaves. *Food science and biotechnology*, 22,515-522p.
- **Pibiri, M. (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat. école polytechnique fédérale de lausanne.41p

R

- **Ribéreau Gayon. (1968).**Les tannins, les composés phénoliques des végétaux.Paris. Ed Dunod.173-201p.
- **Richter ,R. (1993).** Métabolisme des végétaux. *Physiologie et biochimie .5^{ème} éd. Presses polytechnique et universitaires romandes.* Lausanne. France. 526p.
- **Rollinger, J.M ., Haupt, S ., Stuppner, H ., Langer, T.J. (2004).** Combining ethnopharmacology and virtual screening for lead structure discovery: COX-inhibitors as application exemple. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences* 44. 480- 488p.

S

- **Sahli Ramla. (2017).**Etude phytochimique de quelques plantes extremophiles Tunisiennes et exploration de leurs activites biologiques.Thèse de doctorat. Université Lille 2 Ecole Doctorale Biologie Santé.
- **Singleton, V.L ., et Rossi, J.A.J. (1965).** Colorimetry of phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J Enol. Viticult.*16 :144-58
- **Sobiesiak, M.(2017).**Chapitre 1 :Chemical Structure of Phenols and its consequence for sorption processes *.Phenolic compounds - natural Source ,Importance and Application.*
- **Sokolov. P.D. (1990) .**Plant resources of the USSR. Flowering Plants, its chemical composition, application. *Families of Caprifoliaceae- Plantaginaceae.* Volume 5.Leningrad: Akademia Nauk. 328 p. (in Russian).

- Sun, J ., Yao, J ., Huang, S ., Long, X ., Wang, J ., et García-García, E. (2009). Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanin extracts from fruits of *Kadsura coccinea* (Lem.) AC Smith. *Food Chemistry*, 117(2), 276-281.

T

- Tiwari, S. (2008). Plants: a rich source of herbal medicine. *Journal of Natural Products*. 1:27-35.
- Trease, E., Evans, W.C. (1987). Pharmacognosie. Billiaire tindall. London 13th edition. 61-62 p .In karumi Y., Onyeyili P.A, Ogugduaja V.O 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M.Balsamia* (Baume du pommier). *Journal of medicine and scientific* 4 : 179-182.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols . *Nut* ,2 :1231-1246.
- Tyler, E ., Brady, L ., et Robbers, J. (1988). Pharmacognosy. 9^{ème} Edition. *Lea et Febiger*. Philadelphia. 125 p .

V

- Verdu, C.(2013).Cartographie génétique des composés phénoliques de la pomme .Thèse de doctorat .Université d'Angers .207p.
- 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: 59-63.
- Vincken , J., P ,Heng ., L de Groot ., A , Gruppen, H. (2007). Saponins classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry* .68 :275-297.

W

- W.H.O. (2015). A report of the consultation meeting on traditional and modern medicine: Harmonizing two approaches. Beijing. Geneve.22-26p.
- Walker, M.V.(2010).Impact de l'inoculation de micro-organisme phyto-bénifique sur le métabolisme secondaire de *Zea mays* L. Thèse de doctorat .Université Claude Bernard Lyon 1.Paris .208p.

- **Watson, R. R. (2018).** Polyphenols in plants: isolation, purification and extract preparation. Academic Press
- **West, C .(2010).** Caractérisation et classification de systèmes chromatographiques Habilitation à Diriger des Recherches – Orléans : Université d'Orléans.
- **Wichtl, M ., Anton, R ., Bernard, M ., Czygan, F.C. (2003).** Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale. *Science et Thérapeutique, Tec et Doc ; Ed. Médicales Internationales.*
- **Wong,J.G .,Anderson,R.A .,Graham,G.M .,Chu,M.C., Sauer,M.V., Guarnaccia ,M.M ., lobo, R.A.(2006).** The effect of cinnamon extract on insulin resistance parametres in polycystique ovary syndron :apilot study .

Z

- **Zargari, A. (1997).** Medicinal plants, part B. Tehran University Press, Tehran.
- **Ziboh ,V ., Naguwa ,S ., Vang ,K ., et al. (2004) .**Suppression of leukotriene B4 generation by ex-vivo neutrophils isolated from asthma patients on dietary supplementation with gammalinolenic acid-containing Borage oil : Possible implication in asthma. *Clinical And Developmental Immunology*, 2004, 11(1), 13-21.



Annexes

Annexe I: préparation des réactifs

- **Réactif de Wagner**

Iodure de potassium.....2g.n n
Iode1,27g.
Eau distillée.....100ml.

- **Acide chlorhydrique Hcl (2%)**

Acide chlorhydrique.....0, 1g.
Eau distillée5ml.

- **Chlorure ferrique FeCl₃ (1%)**

Chlorure ferrique.....0,05g
Eau distillée5ml

- **Hydroxyde de sodium NaOH (1%)**

Hydroxyde de sodium.0,5g
Eau distillée50ml

- **Hydroxyde de sodium NaOH (2%)**

Hydroxyde de sodium0,1g.
Eau distillée5ml.

- **Hydroxyde de sodium NaOH (10%)**

Hydroxyde de sodium0,5g
Eau distillée5ml

Annexe II : analyse quantitative

- La courbe d'étalonnage de l'acide gallique

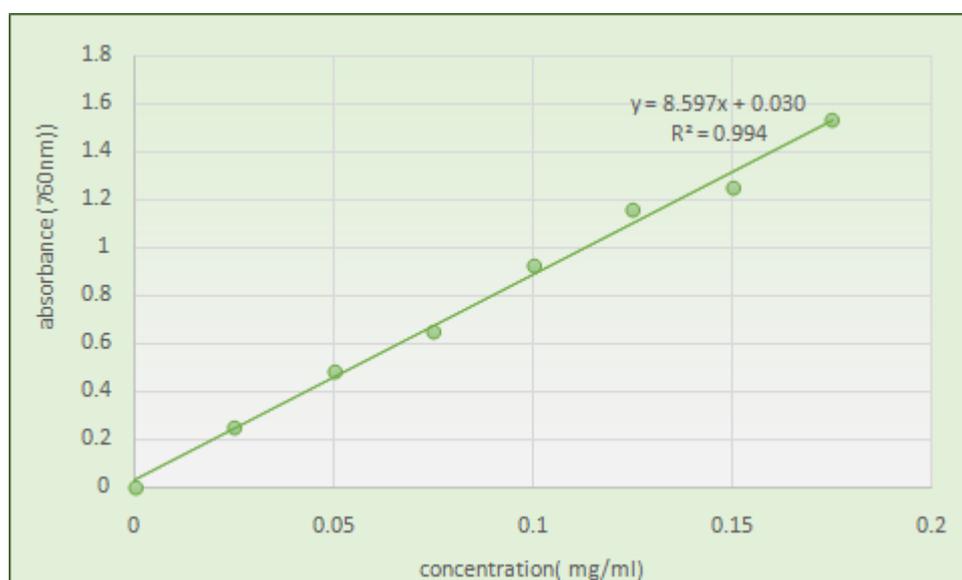


Figure 01 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour l'évaluation des teneurs en polyphénols.

- La courbe d'étalonnage de quercétine

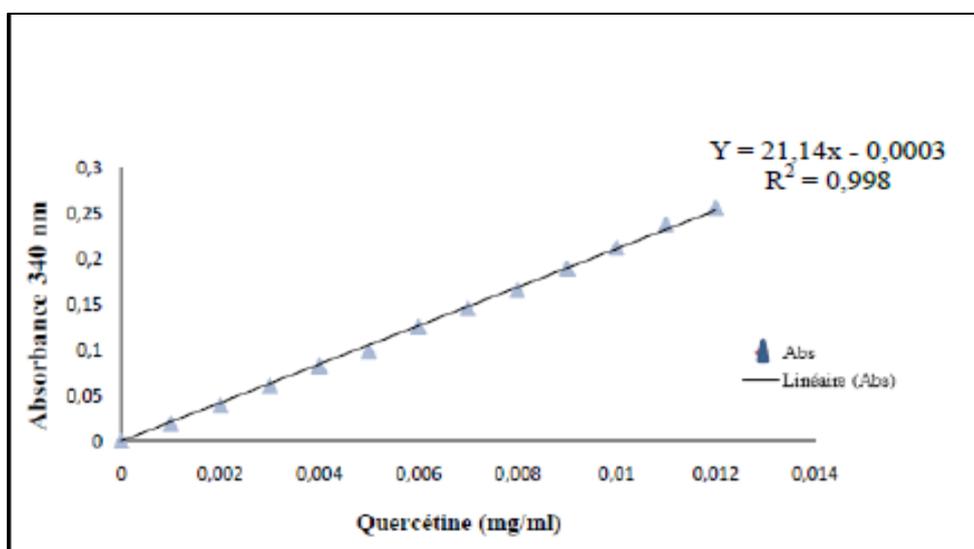


Figure 02 : courbe d'étalonnage de quercétine pour l'évaluation des teneurs des flavonoïdes.

- **Teneurs en polyphénols**

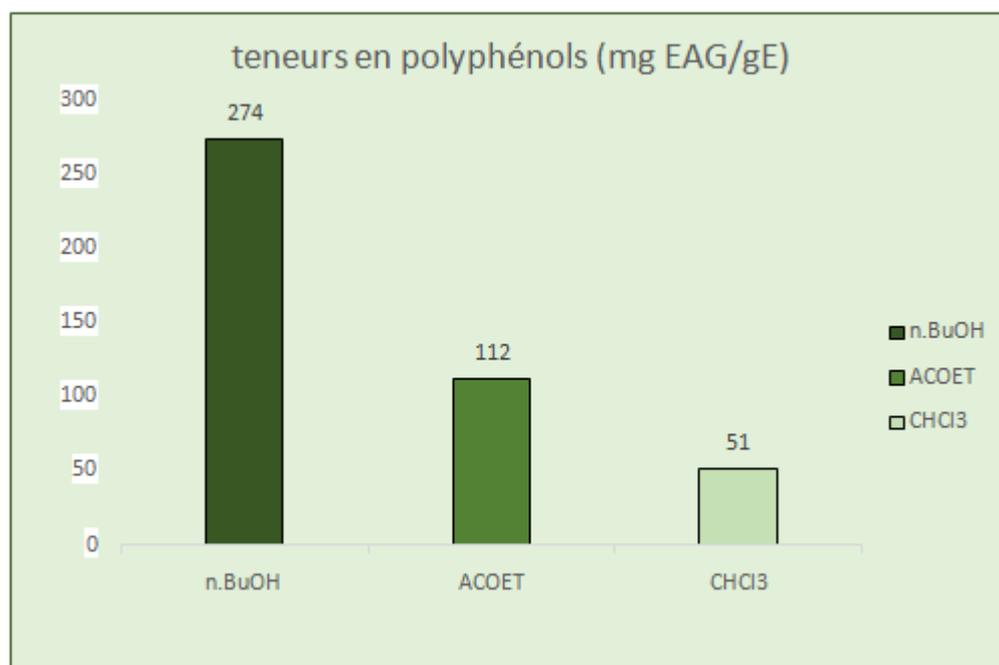


Figure03 : teneurs en polyphénols (mg EAG/gE).

- **Teneurs en flavonoïdes**

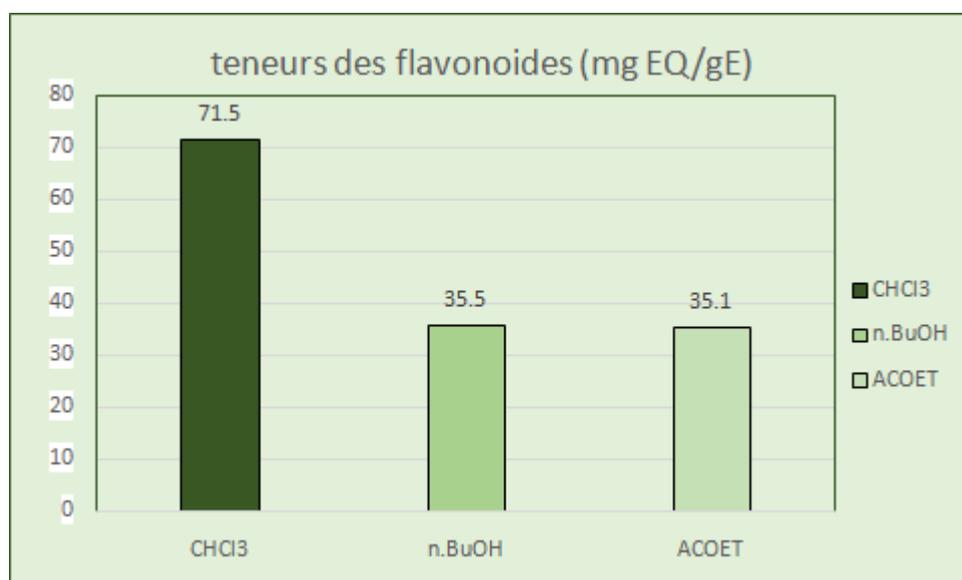


Figure04 : teneurs des flavonoïdes.

Annexe III: Quelques données sur les bactéries étudiées

- ***Escherichia coli*** : Bacille aérobie et Gram négatif que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud.
- ***Pseudomonas aeruginosa*** : Bacille aérobie, Gram négatif et très mobile grâce à un flagelle polaire. Il est de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales (germe ubiquitaire). C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement
- ***Salmonella sp.*** : Bacille aérobie, Gram négatif et mobile. Le réservoir principal de *Salmonella sp.* est constitué par le tractus gastro-intestinal des mammifères (porcs, bovins) et des oiseaux (volailles domestiques). Il peut être responsable d'infections chez l'homme.
- ***Staphylococcus aureus*** : Cocci à Gram positif ubiquitaire qui est commensal de l'homme et se révèle être pathogène opportuniste dans certains. *Staphylococcus aureus* est aussi responsable d'infections nosocomiales, d'intoxications alimentaires et sa résistance aux antibiotiques est parfois un grand problème pour le traitement des patients.
- ***Staphylococcus coagulans* (-) (blanc)** : Cocci à Gram positif, anaérobie facultative. Il s'agit d'une bactérie commensale de l'humain, typique de la flore de la peau. source majeure de contamination des échantillons dans les laboratoires d'analyse.
- ***Streptococcus Sp*** : le genre streptococcus comprend une grande variété de bactérie gram positive pathogènes et commensales ce sont des habitants d'une large gamme d'hôte, y compris l'homme et les animaux à sang chaud .au sein de chaque hôte, on trouve des Streptocoques au niveau des muqueuses respiratoires, intestinales et urinogénitales .ils peuvent être causée des infections cutanée d'infection broncho-pulmonaires et des angines
- **Bacillus** : Les bactéries du genre Bacillus sont des grands bacilles à Gram positif, groupés en chaînettes. La plupart sont des saprophytes du sol, de l'eau, de l'air et des plantes, comme *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*. (Abedini A, 2014)

Annexe IV : préparation des Milieux de culture utilisée :

- **Pour le milieu MH :**

Eau distillée.....1000 ml.

Gélose Mueller-Hinton poudre..... 38g.

- **Pour le milieu MN :**

Eau distillée.....1000ml.

Gélose nutritive poudre8g.

Agar -Agar poudre.....15g.

- **Pour l'eau physiologique :**

Eau distillée.....1000 ml.

Chlorure de sodium (NaCl)..... 9g.