

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté : Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire

Présenté par :

- Melle. MENZOUL Fatima Zohra

- Melle. TURKI Khalida Asmaà

Thème

Etude de l'activité biologique de *Taxus baccata* L.

Soutenu le 14 /10 /2020.

Devant les membres de Jury :

Grade

Présidente: Mme. MEDJEBER N.

MCB

Encadrant: M. BOUSSAID M.

MCA

Co-encadrant: M. YAZID A.

Doctorant

Examineur: M. SARMOUM M.

MCA

Année universitaire 2019-2020

Remerciements

Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience pour terminer ce mémoire.

Nous remercions notre encadrant de sa grande aide et de sa disponibilité durant la réalisation de ce travail, il nous a orientés vers le succès avec ses connaissances et ses encouragements : M. BOUSSAID Mohamed.

Comme nous tenons à remercier M. YAZID Ammar pour sa collaboration.

Nous remercions les membres de jury d'avoir accepté d'examiner et de juger notre travail ; Mme. MEDJEBER Nacira ET M. SARMOUM Mohamed

Nous remercîments vont à tous les enseignants du département Sciences de la Nature et de la Vie de l'université (Ibn Khaldoun Tiaret), spécialement l'équipe de biologie moléculaire et cellulaire.

Nous tenons à remercier M. TAIBI Khaled, responsable de la spécialité de biologie moléculaire et cellulaire.

À tous nos collègues de la promotion biologie moléculaire et cellulaire (2019-2020).

Dédicace

*C'est à l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé chemin de ma vie que j'ai pu
réaliser ce modeste travail que je dédie:*

*À mon oncle Miloud qui aurait été comblé de bonheur, s'il était de ce monde que
Dieu ait son âme et l'héberge dans son vaste paradis.*

*À mes chers parents ; ma mère et mon père pour leur patience, leur amour, leur
soutien et leur encouragement tout au long de ma vie,*

Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.

À mes sœurs et mes frères et à toute la famille Menzoul.

*À mon cher binôme Asmaa, avec qui j'ai passé des moments inoubliables ainsi
qu'à sa famille.*

À mes collègues.

À tous ceux qui me connaissent.

Fatima Zohra

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A Ceux qui j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection et je suis très fière de les avoir où tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que je leur porte « mes très chers parents», Je les remercie pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué, pour leur soutien moral et financier, pour tous les efforts et sacrifices qu'ils ont entrepris afin de me voir réussir.

Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A mes Sœurs Hanadi et Nadjet et mon frère.

A mes grandes mères.

A mes très chers oncles et tantes.

A mes cousins et cousines.

A ma très chère amie Midea.

Chaleureusement, je dédie ce travail à mon binôme Fatima, avec qui j'ai passé des moments inoubliables ainsi qu'à sa famille.

Khalida asma

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des extraits d'origine végétale et la recherche des alternatives aux médicaments à travers la détermination de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits éthanoliques de la partie aérienne de *Taxus baccata*. L'évaluation de l'activité antiradicalaire par la méthode de DPPH a dévoilé les propriétés remarquables que possèdent les extraits méthanoliques à piéger les radicaux libres, à une concentration de (100µg / ml), l'extrait méthanolique présente un taux d'inhibition proche de celui des antioxydants standards. L'activité la plus élevée en pourcentages était celle des extraits d'acétone, de méthanol et d'acétate d'éthyle qui ont enregistré des valeurs entre 95 et 95,8 à partir des feuilles. Tous les extraits d'origine foliaire ont exprimé une propriété antioxydante très importante par rapport aux cônes des graines (arille) de la plante étudiée, et particulièrement l'extrait d'acétone qui a indiqué un IC₅₀ (25,24±1,27).

L'activité antimicrobienne de ces mêmes extraits testés sur plusieurs microorganismes pathogènes avec une gamme de concentrations a montré une inhibition variable vis-à-vis de ces souches bactériennes et de levures. L'extrait éthanolique empêche la croissance de la majorité des espèces microbiennes testées, tandis que le reste des extraits ont montré une activité sélective. La plus faible valeur CMI qui a été enregistrée (39,06 µg/ml) est 16 fois supérieure à celle de l'antibiotique de référence. Les extraits organiques des feuilles de *Taxus baccata* ont inhibé plus efficacement les bactéries Gram positives que les bactéries Gram négatives. Ces études suggèrent que les extraits des feuilles de *Taxus baccata* possèdent une puissante activité antioxydante et antibactérienne, ce qui pourrait être utile pour prévenir ou ralentir la progression de diverses maladies liées au stress bactérien et oxydatif.

Mots clé: *Taxus baccata* ; pouvoir antioxydant ; activité antimicrobienne ; extrait éthanolique.

تحتوي المستخلصات الطبيعية المشتقة من النباتات على مجموعة متنوعة من الجزيئات النشطة بيولوجيا في هذا السياق قمنا بهذه الدراسة التي تهدف إلى تقييم الخصائص المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا للمستخلص الإيثانولي للجزء العلوي لنبته الطقسوس التوتي.

تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال تقنية الجذر الحر (DPPH) للمستخلصات الميثانولية للأوراق , حيث أظهرت النتائج أن هذه الأخيرة تحتوي على خصائص فعالة مضادة للأكسدة ولديها القدرة على تثبيط الجذور الحرة بمعدل قريب من معدل مضادات الأكسدة القياسية عند تركيز يعادل (100 ميكروجرام /مل). وتم تسجيل أعلى نشاط مضاد للأكسدة للمستخلصات ذات الأصل الورقي لكل من الأسيون و الميثانول و الاستيل الديهيد بنسب تقدر بين 95 و 95.8 بالمائة. أظهرت جميع المستخلصات ذات الأصل الورقي خاصية مضاد الأكسدة مهمة جدا مقارنة بالغشاء الخارجي لبذور نبتة الطقسوس التوتي (arille) خاصة مستخلص الأسيون الذي أشار إلى وجود قيمة $IC_{50}(1,24 \pm 25,24)$ (تركيز مثبط).

تم إجراء اختبار النشاط المضاد للجراثيم لنفس المستخلصات على مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض (البكتيريا و الخميرة المرجعية), أظهرت النتائج أن هذه المستخلصات تمتلك نشاطا تثبيطيا متغيرا تجاه هذه البكتيريا المرجعية والخميرة و أن المستخلص الإيثانولي يقوم بتثبيط نمو أغلب البكتيريا المرجعية التي تم اختبارها, في حين أن بقية المستخلصات تمتلك نشاطا تلقائيا. اقل قيمة مسجلة (39,06 ميكروغرام/مل) CMI (التركيز المثبط الأدنى) اعلي ب16 مرة من تلك الخاصة بالمضاد الحيوي المرجعي. إن المستخلصات العضوية لنبته الطقسوس التوتي ذات الأصل الورقي تثبط بكتيريا جرام الموجبة بشكل أكثر فعالية من بكتيريا جرام السالبة. انطلاقا من هذه الدراسات نستنتج أن مستخلصات أوراق نبتة الطقسوس التوتي تمتلك نشاطا قويا مضاد للأكسدة ومضاد للبكتيريا مما قد يكون نافعا في منع أو إبطاء تطور أمراض مختلفة متعلقة بالإجهاد البكتيري و التأكسدي.

الكلمات المفتاحية : الطقسوس التوتي, المستخلص الإيثانولي , النشاط المضاد للأكسدة , النشاط المضاد للجراثيم.

Abstract

This study is part of the development of plant extracts and the search for natural alternatives to drugs.

Methanolic extracts of the aerial parts of *Taxus baccata* were evaluated for their antioxidant activity through DPPH free radicals scavenging activity and for their antimicrobial activity through the determination of their minimal inhibitory concentration (MIC) on several pathogenic microorganisms. As well, acetone and ethyl acetate extracts were also evaluated.

Results revealed that the methanolic extract demonstrated a remarkable ability to trap DPPH free radicals at a concentration of 100 µg/ ml which is an inhibition rate close to that of standard antioxidants. The highest percent activity was that of acetone, methanol and ethyl acetate extracts which recorded values ranging between 95 and 95.8 from the leaves. All of the foliar extracts expressed an important antioxidant property compared to that of the cones and the seeds (aril) of the plant studied particularly the acetone extract which indicated an IC₅₀ of 25.24 ± 1.27.

Besides, the extracts showed antimicrobial activity against the tested strains with variable MICs values. The ethanolic extract inhibits the growth of the majority of the microbial species tested, while the rest of the extracts showed selective activity. The lowest MIC value recorded was 39.06 µg/ ml which is 16 times higher than that of the reference antibiotic. Organic extracts from the leaves of *T. baccata* inhibited Gram positive bacteria more effectively than Gram negative bacteria.

These results suggest that the extracts of the leaves of *T. baccata* possess potent antioxidant and antibacterial activity, which could be useful in preventing or slowing the progression of various diseases related to microbial infections and oxidative stress.

Key words: *Taxus baccata*; antioxidant power; antimicrobial activity; methanolic extract.

LISTES DES FIGURE

Figure 1. Parties de la plante de <i>Taxus baccata</i>	5
Figure 2. If commun (<i>Taxus baccata</i> L).....	5
Figure 3. Illustration des différents organes de l'if.....	6
Figure 4. Carte de répartition de <i>Taxus baccata</i> dans le monde.....	7
Figure 5. Aire de répartition de <i>Taxus baccata</i> en Algérie.....	8
Figure 6. Groupes chimiques essentiels de <i>Taxus baccata</i>	10
Figure 7. Nombre d'intoxication cumulée par l'if de 1997 à 2002.....	13
Figure 8. Extraction par macération.....	14
Figure 9. Extracteur de Soxhlet.....	15
Figure 10. Montage de l'hydrodistillation.....	16
Figure 11. Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	17
Figure 12. Schéma du dispositif de l'hydrodiffusion.....	17
Figure 13. Extraction par CO ₂ supercritique.....	19
Figure 14. Mécanismes provoquant un stress oxydant au sein d'une cellule.....	20
Figure 15. Formation des Espèces Réactives résultant d'une réduction progressive de l'oxygène.....	22
Figure 16. Radiations UV de la lumière.....	22
Figure 17. Principe des antioxydants.....	23
Figure 18. Matériel végétal utilisé (Photo auteurs).....	28
Figure 19. Protocole expérimental.....	31
Figure 20. Feuilles et tiges de l'if après séchage.....	32
Figure 21. Broyat des feuilles.....	32
Figure 22. Macération sous agitation.....	33
Figure 23. Différentes étapes de préparation des extraits éthanoliques.....	34
Figure 24. Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre L'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant.....	35

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Espèces réactives de l’oxygène.....	21
Tableau 2. Méthodes les plus couramment utilisées pour estimer le pouvoir Antioxydant	24
Tableau 3. Quelques bactéries et maladies causées.	25
Tableau 4. Caractéristiques et rendements des extraits de <i>Taxus baccata</i>	39
Tableau 5. Activité de piégeage des radicaux libres (DPPH) (%) de <i>Taxus baccata</i> à différentes concentrations.	41
Tableau 6. Activité de piégeage de la DPPH des extraits végétaux des feuilles et des cônes de graines, présentée en% d'inhibition et de valeurs IC50 (µg / ml).....	42
Tableau 7. Valeurs de l'activité antioxydante (piégeage de la DPPH) de substance Standard obtenue pour comparaison avec les valeurs d'extraits de <i>Taxus baccata</i>	42
Tableau 8. Valeurs DPPH des extraits de <i>Taxus baccata</i>	43
Tableau 9. Valeurs DPPH des extraits de <i>Taxus baccata</i>	43
Tableau 10. Zones d’inhibition produites par des extraits de feuilles de <i>Taxus baccata</i>	44
Tableau 11. Valeurs CMI des souches de test MDR	45
Tableau 12. CMI (mg /ml) des extraits de méthanol de différentes parties de <i>Taxus baccata</i>	47

LISTE DES ABBREVIATIONS

AAR :	Activité anti-radicalaire.
ADP :	Adénosine Di Phosphate.
APR :	Activité anti radicalaire.
ARN:	Acide ribonucléique.
ARNt:	Acide ribonucléique de transfert.
ATCC:	American type culture collection.
C₃₃H₄₅NO:	Taxine B.
C₃₃H₄₅NO₉:	Taxine A.
C₃₇H₅₂NO₁₀:	Structure chimique de taxine.
CHU:	Centre Hospitalier Universitaire.
CMI:	Concentration minimale inhibitrice.
DMSO:	Diméthyl sulfoxyde.
DPPH:	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.
EAG:	Equivalent Acide Gallique.
EQ:	Equivalent Quercetine.
ERO:	Espèces réactives de l'oxygène.
GTP:	Guanosine triphosphate.
H₂O₂:	Peroxyde d'hydrogène.
HO :	Radical hydroxyle.
IC₅₀ :	Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH.
MDR :	Souches bactériennes multirésistantes.
MRSA :	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> .
Nm :	Nanomètre.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
R :	Rendement.
RL:	Radical libre.
ROO•:	Radical peroxyde.
ROOH :	peroxydes organique.
ZOI :	Zone d'inhibition.

Table des matières

Résumé.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Liste des abréviations.

Introduction 1

Première partie: Synthèse bibliographique

1. présentation générale de la plante <i>Taxus baccata</i>	3
1.1. Généralité sur <i>Taxus baccata</i>	3
1.2. Description botanique.....	3
1.3. Répartition géographique.....	7
1.3.1. Dans le monde.....	7
1.3.2. En Algérie.....	8
1.4. Utilisation et usage traditionnel.....	8
1.5. Composition biochimique de <i>Taxus baccata</i>	9
1.6. Activités biologiques et thérapeutiques de <i>Taxus baccata</i>	10
1.6.1. Activité anti-ulcérogène (cytotoxique).....	11
1.6.2. Activités antimicrobiennes.....	11
1.6.3. Activités antioxydantes.....	11
1.6.4. Activités anti-inflammatoire.....	12
1.8. Toxicité de l'if.....	12
2. Méthodes d'extraction des métabolites secondaires	14
2.1. Extraction solide liquides.....	14
2.1.1. Extraction par macération.....	14
2.1.2. Extraction par Soxhlet.....	14
2.1.3. Extraction en mode batch.....	15
2.2. Extraction par distillation.....	15
2.2.1. Extraction par Hydrodistillation.....	15
2.2.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	16
2.2.3. Extraction par hydrodiffusion.....	17
2.3. Extraction assistée par ultra-sons.....	18

2.4. Expression à froid.....	18
2.5. Extraction au CO2 super critique.....	18
3. Activité antioxydant et antimicrobienne.....	20
3.1. Activité antioxydant.....	20
3.1.1. Stress oxydatif.....	20
3.1.2. Radicaux libres.....	20
3.1.3. Espèces réactives de l’oxygène.....	20
3.1.4. Origines des espèces réactives de l’oxygène.....	21
3.1.5. Antioxydants.....	23
3.1.5.1. Définition.....	23
3.1.5.2. Caractéristiques des antioxydants.....	23
3.1.5.3. Principe des antioxydants.....	24
3.1.6. Méthodes d’évaluation de l’activité antioxydante.....	25
3.2. Activité antimicrobienne.....	25
3.2.1. Définition de l’activité antimicrobienne.....	25
3.2.2. Bactéries pathogènes.....	25
3.2.3. Mode d'action des composés sur les bactéries.....	26
3.2.4. Méthodes de détermination de l’activité antimicrobienne.....	26
3.2.4.1. Méthodes de la diffusion en disque.....	27
3.2.4.2. Méthodes de dilutions en bouillon et en gélose.....	27

Deuxième partie: Matériel et méthodes

1. Objectif.....	28
2. Matériel et méthodes.....	28
2.1. Matériel biologique.....	28
2.1.1. Matériel végétal.....	28
2.1.2. Microorganismes.....	28
2.1.2.1. Souches testées.....	29
a- Bactéries à Gram positif.....	29
b- Bactéries à Gram négatif.....	29
c- Champignons.....	30
2.2. Méthodologie.....	31
2.2.1. Protocole expérimental.....	31

2.2.1.1. Séchage et conservation.	31
2.2.1.2. Préparation des extraits éthanolique de l'if commun (<i>Taxus baccata</i>).	32
2.2.1.3. Broyage.	32
2.2.1.4. Macération.....	33
2.2.1.5. Filtration.	33
2.2.1.6. Calcule de rendement des extraits.	34
2.3. Evaluation de l'activité antioxydant du <i>Taxus baccata</i>	34
2.3.1 . Estimation du pouvoir anti radicalaire (DPPH•).....	35
2.3.1. Protocole.....	36
2.3.3. Expression des résultats.	36
2.3.3.1. Calcul des pourcentages d'inhibitions.....	36
2.3.3.2. Calcul de l'activité anti radicalaire.....	37
2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne du <i>Taxus baccata</i>	37
2.4.1. Protocole.....	37
2.4.2. Analyses Statistiques.....	38

Troisième partie: Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction	39
2. Activité antioxydante et antimicrobienne de <i>Taxus baccata</i>	40
2.1. Activité antioxydante	40
2.2. Activité antimicrobienne	44
Conclusion	49
Références bibliographiques	51

Introduction



Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine (Bouamar 2019).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 80% de la population globale dépend notamment de la médecine traditionnelle et de la phytothérapie pour les soins sanitaires, ce qui semble être une solution acceptable. Il a été rapporté aussi que 60% des préparations médicamenteuses, dans les pays industrialisés, dérivent des plantes; ces dernières agissent comme sources d'agents thérapeutiques modèles pour de nouveaux composés synthétiques ou comme matière de base pour la production semi synthétique de molécules de haute complexité (Fetahh 2019).

Aujourd'hui, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes aromatiques et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse (Boudjouref 2011). Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante de molécules bioactives. Plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel. Parmi les composés, on peut citer les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Bouamar 2019).

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection des aliments contre l'oxydation. Ils interviennent dans la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif tels que les cancers, la cataracte, l'athérosclérose, le diabète, l'hypertension artérielle, les maladies neuro-dégénératives et l'arthrite (Bouamar 2019). Il est donc important d'orienter les recherches vers le criblage de nouvelles molécules bioactives à partir des végétaux qui ont toujours servi de base à l'élaboration de nouveaux médicaments.

Les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, environ de 35000 espèces sont employées de par le monde à des fins médicinales (Bouamar 2019). En Afrique, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées, dont plus de 4000 sont des plantes médicinales,

ce qui constitue 90% de la médecine traditionnelle dans ce continent (OMS 2002) (Khelifi et Medjani 2018). La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botanique ; ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable (Bouamar 2019). Dans l'axe de recherche et de valorisation des substances de la flore aromatique et médicinale d'Algérie, nous avons choisis d'étudier le pouvoir antimicrobien et anti radicalaire des extraits de *Taxus baccata*, conifère à feuilles persistantes de petite à moyenne taille appartenant à la famille des *Taxaceae*, son aire actuelle en Algérie, est incluse partiellement dans quelques aires protégées (réserve naturelle des Babors, Parc National du Djurdjura et de Chréa) (Guechoud 2014). Cette plante est une source naturelle de métabolites primaires et secondaires. Ces substances sont très recherchées en pharmacologie, en cosmétique et en agroalimentaire. D'ailleurs, elle possède plusieurs activités thérapeutiques ; (antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire et anticancéreuse).Le choix a été justifié par le manque de travaux sur cette plante particulièrement en Algérie.

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques des plantes étudiées et nous décrirons quelques métabolites secondaires, leurs importances dans l'organisme et la biosynthèse de certains d'entre eux.

La première partie de ce document présente une synthèse bibliographique qui concerne au premier lieu la plante testée, puis les méthodes d'extractions des métabolites secondaires et se termine par l'exposition des différentes techniques utilisées dans l'évaluation de l'activité biologique. Dans la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre le matériel utilisé et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, et pour l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne. Le deuxième chapitre sera réservé à la présentation et à la discussion de résultats obtenus.

Enfin nous achèverons ce travail par une conclusion générale dans laquelle différentes perspectives de recherche seront évoquées.

Suite à la pandémie de Covid-19, nous n'avons pas pu entamer l'intégralité de la partie méthode, à l'exception de la préparation des extraits éthanoliques des parties aérienne de la plante testée, ni la partie résultats et discussion. Afin de compléter cette étude, nous nous sommes contentés d'une synthèse sur les travaux déjà réalisés en relations avec notre thématique.



Premier Partie

Synthèse bibliographique

1. Présentation générale de la plante *Taxus baccata*

1.1. Généralités sur *Taxus baccata*

Taxus baccata, if à baie ou l'if commun, est une espèce végétale de conifère non résineux, (le seul conifère sans cône ni résine), Il appartient à la famille des Taxacées qui constitue un petit groupe des gymnospermes. En effet, les Taxacées regroupent moins de 2% des espèces des gymnospermes. La famille des Taxacées comporte 7 à 30 espèces réparties dans 3 à 6 genres (Vallata 2009). C'est un arbre qui s'adapte à l'ombre et résiste à la pollution, Il peut atteindre jusqu'à 15 m de hauteur pour les plus grands, mais mettra beaucoup de temps à atteindre cette taille car sa croissance est réputées très lente (www.collect-if.com).

❖ Classification botanique

La classification de l'if commun dans le règne végétal est établie comme suit :

Règne : Plante (*plantae*).

Sous règne : Plante vasculaire (*tracheobionta*).

Division : Plante à graine (*spermatophyta*).

Sous Division : Gymnosperme (*Gymnospermea*).

Classe : Pinatés (*pinatae*).

Sous classe : Pinidés (*pinidae*).

Ordre : Pinale (*pinales*).

Famille : Taxacées (*taxaceae*).

Genre : Ifs.

Espèce : *Taxus baccata* (taxus communus) (https://viagallica.com/v/if_commun.htm).

❖ Nomenclature :

Nom commun : If commun. **Nom populaire :** If à baies.

Noms régional : En arabe : طقسوس. **En kabyle :** teyfuzzel.

1.2. Description botanique

Taxus baccata ou ifs, sont de grands arbustes ou petites arbres dont la croissance est relativement langue ; de 10 à 20 cm en hauteur pour 15 cm en largeur par an. Cet arbuste mesure de 5 à 8 m et peuvent atteindre jusqu'au 20 m de haut (Vallata 2009). Leur tronc est dressé, droit, robuste, court, et divisé en grosse branches situées très près de sa base. Son port est arrondi. Son écorce forme de large plaque brun mauve ou rouge qui sont peu épaisse et

lisse. Ses feuilles persistantes sont en forme d'aiguilles, solitaires, linéaire, aplatie, de couleur vert foncé, (elle mesure environ 1.5 à 2.5 cm de longueur et 3 cm de largeur) (Vallata 2009 ., Guechoud 2014). Le système racinaire est fort et élargi, peu profond, essentiellement horizontal avec de nombreuses racelles secondaires très ramifiées (Presutti 2013 ; Thomas et Polwart 2003). Leur floraison débute à partir du mois de mars jusqu'au mois d'avril selon la zone climatique (Guechoud 2014).

❖ Description des fleurs

Taxus baccata est une espèce dioïque c'est à dire qu'un pied de la plante porte soit des fleurs femelles, soit des fleurs mâles mais pas les deux en même temps (Vallata 2009).

❖ Fleurs mâles

Les fleurs mâles, jaunes et très nombreuses, sont de minuscules chatons de forme sphérique situés sur de très petites pousses à l'aisselle des aiguilles. Les fleurs mâles portent un nombre relativement grand d'étamines en forme d'écu avec 6 à 8 sacs polliniques (Vallata 2009).

❖ Fleurs femelles

Les fleurs femelles sont vertes, peu visibles et portées par de courts rameaux axillaires. Elles sont constituées d'un ovule terminal unique, entouré de bractées écailleuses, soutenu par une ou même plusieurs formations de feuilles. Ces fleurs femelles, une fois fécondées, produisent de fausses baies rouges de la taille d'une petite olive appelées arilles qui entourent la graine (Vallata 2009).

❖ Description des Fruits

Le fruit est la seule partie comestible de l'arbre. C'est un faux fruit charnu, au goût sucré, d'une taille de 9 x 7 mm avec une extrémité ouverte et de couleur rouge appelé « arille ». Dans leurs voies digestives. La présence des graines intactes dans les déjections aviaires permet la dissémination de l'espèce (Delahunty 2002 ; Thomas et Polwart 2003).

❖ Description des graines

La graine est ovoïde, à tégument ligneux lisse et de couleur brun jaunâtre, d'une taille de 6-7 x 5 mm, repliée à l'intérieur de l'arille (Thomas et Polwart 2003 ; Delahunty 2002).



Figure 1. Parties de la plante : A fleurs mâles ; B ; Arille. (Vallata 2009).

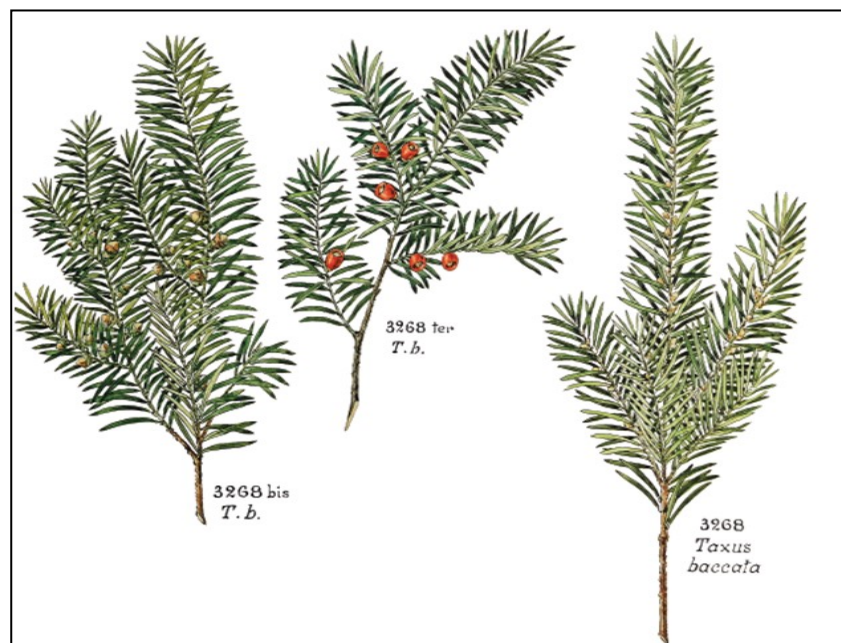


Figure 2. L'if commun (*Taxus baccata* L) (Vallata 2009).



Figure 3. Illustration des différents organes de l'if (Martin et Thiébault .2010).

Au centre, deux branches feuillées portant en bas les boutons floraux, en haut les fruits (arilles). 1 et 2 : fleurs femelles à différents stades de maturité ; 3 et 8 : fleur mâle et sa coupe. 4 à 6 : développement de la graine et de l'arille ; 7 : coupe du fruit (graine entourée de l'arille).

1.3. Répartition géographique

1.3.1. Dans le monde :

La répartition géographique de *Taxus baccata* s'étend vers le nord, à la Norvège et la Suède, au sud, vers l'Italie, l'Espagne, la Grèce et l'Afrique du Nord, à l'ouest, vers les archipels des Açores et de Madère, et vers l'est, à l'Estonie, la Pologne, l'Ukraine, la Turquie et les montagnes du Caucase (Thomas et Polwart. 2003 ; Vessella et al. 2015)

1.3.2. En Algérie :

L'if est présent dans les forêts des hautes montagnes calcaires et siliceuses bien arrosées, souvent localisé dans les ravins humides et les milieux ombragés de l'Atlas de Blida, Djurdjura, Babors et Aurès entre les altitudes 500 à 2500 m (Guechoud 2016).

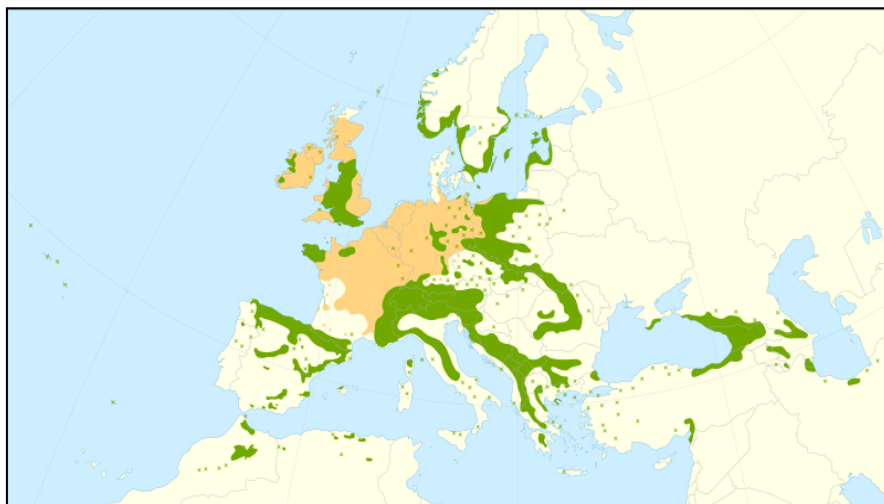


Figure 4. Carte de répartition de *Taxus baccata* (if européen) (Giovanni 2018).

✚ Aire de répartition indigène et population isolée.

▲ Zone introduite et naturalisée (synanthropique) et population isolée.

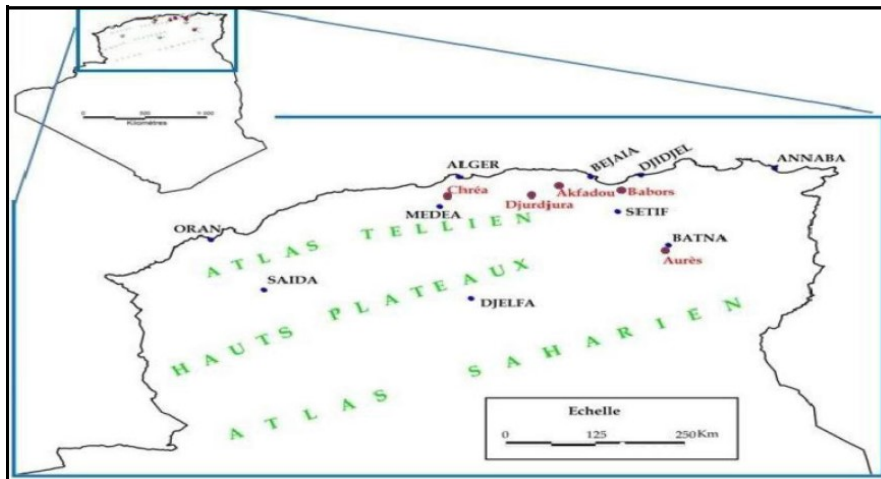


Figure 5. Aire de répartition de *Taxus baccata* en Algérie (Ghechoud 2014).

- En rouge les sites où existe le *Taxus*.
- En bleu les chefs-lieux de wilayas.

1.4. Utilisation et usage traditionnel

En médecine traditionnelle ; *Taxus baccata* est une plante toxique pour de nombreuses espèces, Chez L'homme, l'if engendre des troubles digestifs, nerveux, respiratoires et cardiovasculaires, qui peuvent entraîner la mort. L'origine de cette toxicité est due à la présence de taxine, qui fait aujourd'hui l'objet de recherche, en vue de nouveaux traitements de cancer. Cette sève toxique est valorisée, elle entre dans la composition de médicaments anticancéreux, car le taxole ralentit la croissance des cellules cancéreuses. Les feuilles de *Taxus baccata* présentent une molécule de docétaxel, connue sous le nom de taxotère ; se révèle d'un très grand intérêt dans le traitement de cancer du sein métastatique, de l'ovaire, et du poumon. Le reste de la plante était autrefois utilisé contre les rhumatismes, mais sa très haute toxicité a fait renoncer à son usage. Le suc de l'if a été signalé comme spécifique souverain contre les morsures de vipères. Les arilles débarrassés de leurs graines ont une action adoucissante, diurétique et laxative. L'arille rouge entourant la graine peut se manger tel que comme friandise à condition de ne pas mâcher la graine. Il est sucré et mucilagineux. L'if a aussi des utilisations économiques ; les fibres de l'écorce étant transformées en tissus. Cette plante est utilisée aussi comme arbre d'ornement ou en art topiaire dans les parcs et les jardins car il se porte très bien à la taille et repousse dansement (https://viagallica.com/v/if_commun.htm).

1.5. Composition biochimique de *Taxus baccata*

L'étude phytochimique sur les extraits de la partie aérienne de *Taxus baccata*, a révélé la présence de plusieurs alcaloïdes, en particulier la taxine; une poudre blanche non cristalline très toxique, qui est composé de taxine A ($C_{33}H_{45}NO_9$), et taxine B ($C_{33}H_{45}NO_8$), et leur dérivé telle que 2-diactylétaxine A et isotaxine B et 1-dioxytaxine B, sa formule brute est: $C_{37}H_{52}NO_{10}$ (Vallata 2009). L'if contient de plus un glucoside; la taxicatine (https://viagallica.com/v/if_commun.htm).

On a néanmoins trouvé dans l'if des vertus médicinales étonnantes; le taxol ; est un alcaloïde qui est extraite à partir de l'écorce de l'if (Vallata 2009), cette molécule est très complexe, elle est constituée de trois anneaux condensés l'un de 3, cinq de 6 et l'autre de 8 membres. L'anneau de huit membres c'est l'oxétane; qui est crucial pour l'activité de médicament (<https://www.societechimiquedefrance.fr/Taxol.html>). Le taxol stabilise les microtubules contre le démontage et inhibe la division cellulaire, il est maintenant commercialisé sous le nom de paclitaxel (Vallata 2009). L'écorce de *Taxus baccata* contient aussi une molécule de céphalomannine alias ou taxol B; est presque identique au paclitaxel mais il manque une partie d'un groupe phényle, il est très efficaces contre la leucémie. Les extraits de feuilles de *Taxus baccata* révèlent la présence d'une molécule de désacétyl-baccatin III utilisée comme composé essentiel dans la fabrication de paclitaxel (taxol) et de docétaxel (taxotère) par la méthode d'estérification chimique (Bélaïr 1995). L'if contient également des classes importantes de métabolites secondaires; les lignanes. Cinq lignans ont été isolés du bois *Taxus baccata*; laricirésinol (1), taxirésinol (2), 3'-demethylsolaricirésinol-9'-hydroxyisopropylether (3), l'isolaricirésinol (4) et le 3-déméthylsolaricirésinol (5). Ces lignanes possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antinociceptives, anti-ulcérogènes, antifongiques et inhibitrices des enzymes (Kucukboyaci et Bilge 2010).

A partir du *Taxus baccata*, de la classe des Taxanes, 3 principes actifs sont isolés (www.collect-if.com):

❖ **Le paclitaxel**; commercialisé sous le nom de Taxole ; est un poison du fuseau mitotique de la cellule, qui inhibe la dépolymérisation des microtubules bloquant le mécanisme de la mitose.

❖ **Le docétaxel** ; c'est un analogue du paclitaxel de structure voisine mais avec une activité doublée, il est fabriqué par estérification chimique de la 10 désacétyl-baccatine III qui est obtenue à partir des feuilles de *Taxus baccata*, le docétaxel est commercialisé sous le nom de

Taxotère comme médicament pour traiter les cancers du sein de la prostate des ovaires et des mélanomes et des poumons.

❖ **Le cabazitaxel** ; commercialisé sous le nom de JEVTANA.

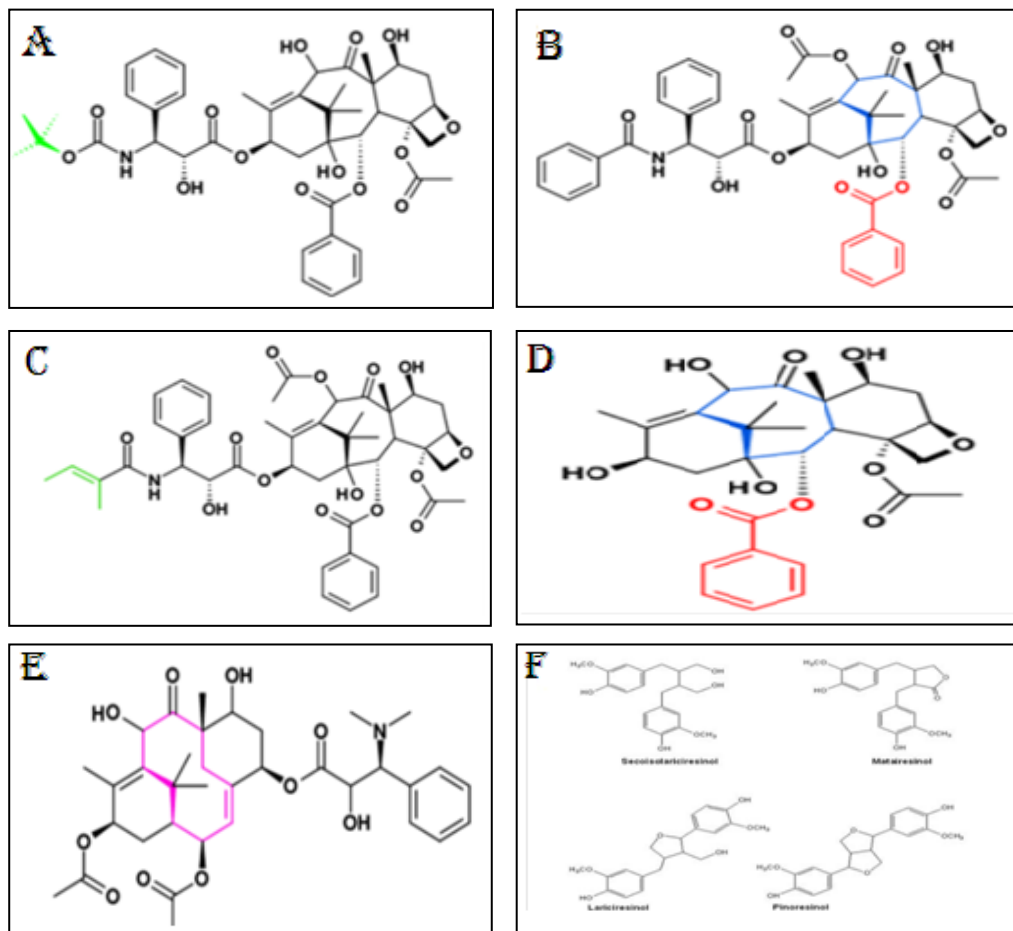


Figure 6. Groupes chimiques essentiels de *Taxus baccata*.

A : structure chimique de taxotere (docétaxel). B : structure chimique de taxol (paclitaxale).

C : structure chimique céphalomannine. D : structure chimique 10désacétyl-baccatine III. E :

Structure chimique de taxine. F : structure de quelques lignanes.

1.6. Activité biologique et thérapeutique de *Taxus baccata*

Taxus baccata est une source naturelle de métabolites primaires et secondaires. Ces substances sont très recherchées en pharmacologie, en cosmétique et en agroalimentaire. Malgré ces propriétés biologiques très prometteuses (antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire et anticancéreuse), peu de travaux ont été réalisés sur l'espèce. Actuellement les recherches s'intéressent aux différentes activités pharmacologiques de *Taxus baccata* pour développer et améliorer la médecine moderne. Les plus importants effets sont :

1.6.1. Activité anti-ulcérogène (cytotoxique)

Le taxol (qui est extraite à partir de l'écorce de l'if) est une célèbre molécule anticancéreuse qui possède une activité biologique unique. C'est un agent antimicrotubulaire qui agit en inhibant la dépolymérisation des microtubules. Il se lie aux microtubules, ces derniers deviennent alors très stables et leur dépolymérisation qui a lieu à la télophase, est inhibée. La division cellulaire ne peut donc être complétée, elle se termine au stade de la télophase. Un autre effet du taxol sur les microtubules est qu'il réduit le temps de polymérisation de la tubuline en microtubules. De plus, il induit cette polymérisation même en l'absence de GTP, un facteur habituellement nécessaire pour que cette réaction ait lieu (Assif et al. 2016).

1.6.2. Activités antimicrobiennes

Des études faites sur les extraits des feuilles de *Taxus baccata* (extrait acétone, méthanolique, et aqueux) ont montrés que ces extraits sont actifs et très riches en composé phénoliques (principalement les flavonoïdes et les lignanes), ces derniers possèdent une activité antimicrobienne significative non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus. Ces études suggèrent que les extraits de *Taxus baccata* possèdent une puissante activité antibactérienne, qui pourrait être utile pour prévenir ou ralentir la progression de diverses maladies liées au stress bactérien et d'autres maladies virales (comme l'asthme, la bronchite, le hoquet, l'indigestion, les rhumatismes et l'épilepsie) (Prakash et al. 2018).

1.6.3. Activités antioxydantes

Taxus baccata peut être considéré comme une source naturelle très riche de composés poly phénoliques, qui a une forte activité antioxydante. Des extraits végétaux, des feuilles et des cônes de graines de l'if européen (*Taxus baccata*), ont été soumis à une lyse anaérobie pour déterminer le contenu phénolique total. Lors de la comparaison des résultats des extraits de feuilles et de cônes de graines de *Taxus baccata*, il a été constaté que les parties de la plante étudiées contiennent des composés phénoliques, mais que les feuilles contiennent de très fortes concentrations de ces composés. Ces résultats suggèrent que les feuilles et les cônes de graines de *Taxus baccata* sont une source potentielle de composés phénoliques, en particulier de flavonoïdes (Milutinović et al. 2015).

1.6.4. Activités anti-inflammatoire

Le *Taxus baccata* (les feuilles, l'écorce des racines) possèdent une importante activité anti-inflammatoire attribuée à la présence des lignanes et de nombreux taxoïdes connus par

leur effet gastroprotecteur (ils sont efficaces dans les troubles gastriques sans induire des lésions gastriques) donc il donne une activité anti-inflammatoire (Kucukboyaci et Bilge 2010).

1.7. Toxicité de l'if

Toutes les espèces du genre *Taxus* sont toxiques, La toxicité de l'if (*Taxus baccata*) est connue depuis les gaulois, qui utilisaient la sève de l'extrait des feuilles pour fabriquer les flèches empoisonnées durant les guères. Certaines civilisations primitives utilisaient même l'extrait d'if comme poison pour la chasse. L'origine de cette toxicité est due à la présence de nombreux taxoïdes ; alcaloïdes diterpiniques tricycliques (taxines, taxol, céphalomaninne...) .presque toutes les partie de la plante sont toxique ;(les feuilles le bois l'écorce et les racines), à part la pulpe rouge du fruit ; (enveloppe charnue qui entoure la graine ou l'arille) (Vallata 2009). La teneur et la composition des substances toxique varient selon la saison, L'endroit, et la sorte de la plante ; en hiver la teneur en taxine des aiguilles atteint son plus haut degré (Guechoud 2016). Suite à l'ingestion de graines mâchées ou de quelques aiguilles de la plante, ils apparaissent les symptômes suivant :

❖ symptômes chez les L'homme

Première phase

- Troubles digestives : vomissements et diarrhées cholériforme.
- Troubles nerveux : tremblements, trouble visuel, mydriase, vertiges.
- Troubles cutanés : taches ecchymotique.

Deuxième phase

- Troubles nerveux : excitation, puis dépression.
- Troubles respiratoires : dyspnée, parfois apnée.
- Troubles cardiovasculaire : hypotension, bradycardie, arythmie.

Troisième phase

- coma avec signe convulsif et collapsus foudroyant (en 30 mn après le début de manifestation).

❖ symptômes chez les animaux

Les animaux sont eux aussi victimes d'intoxication au *Taxus*, des intoxications sont déjà décrites chez les chevaux, les ânes, les bovins, les moutons, les porcs, les lapins, les volailles, les chiens, et les chats. Les animaux sont particulièrement exposés au moment des tailles des haies d'if, ou lors de leurs déracinements suite au mauvais temps. Les intoxications aigues se

présentent le plus souvent comme une mort subite sans symptômes préalables. Parfois l'intoxication prend une forme subaiguë avec des symptômes tels que ; vomissement, diarrhée, tremblements, agitation, perte d'équilibre avec chutes et ralentissements des pulsations cardiaques qui peuvent néanmoins conduire à une perte de conscience et au décès (<https://www.centreatipoisons.be/nature/plantes/les-plantes-toxiques/if-taxus>).

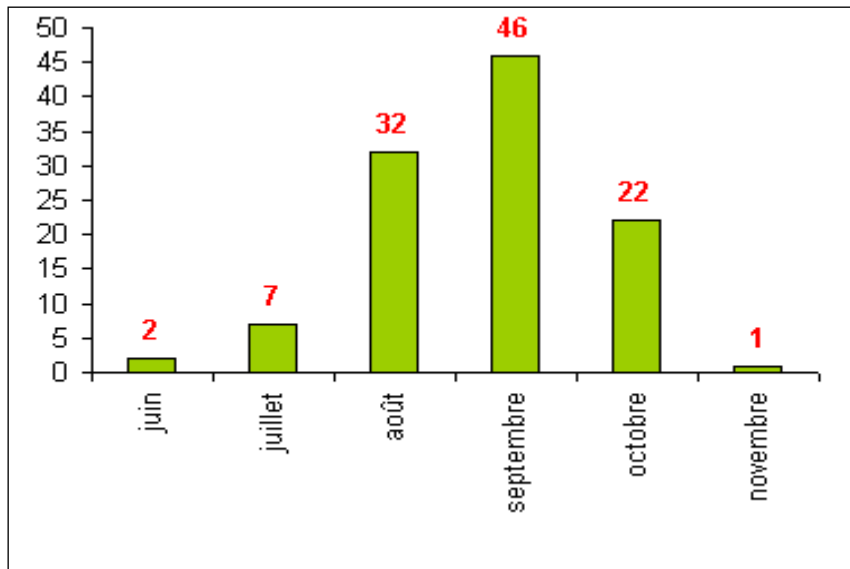


Figure 7. Nombre d'intoxication cumulée par l'if de 1997 à 2002(étude du centre antipoison de Lille)

2. Méthodes d'extraction des métabolites secondaires

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme végétal selon diverses techniques. Le choix de la méthode d'extraction est basé sur les caractéristiques physicochimiques des métabolites à extraire (Gobbi et Khebbaz 2014).

2.1. Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est une opération de transfert de matière entre une phase qui contient la matière à extraire «solide», et un solvant d'extraction «liquide» (Gobbi et Khebbaz 2014).

2.1.1. Extraction par macération

La macération est une méthode qui consiste à laisser la poudre de la plante en contact prolongé avec un solvant (Feknous et al. 2014). Généralement les solvants les plus utilisées sont l'éthanol, le méthanol ou même l'eau pour l'extraction des composés polaires et le dichlorométhane pour l'extraction des composés non polaires (Gobbi et Khebbaz 2014).

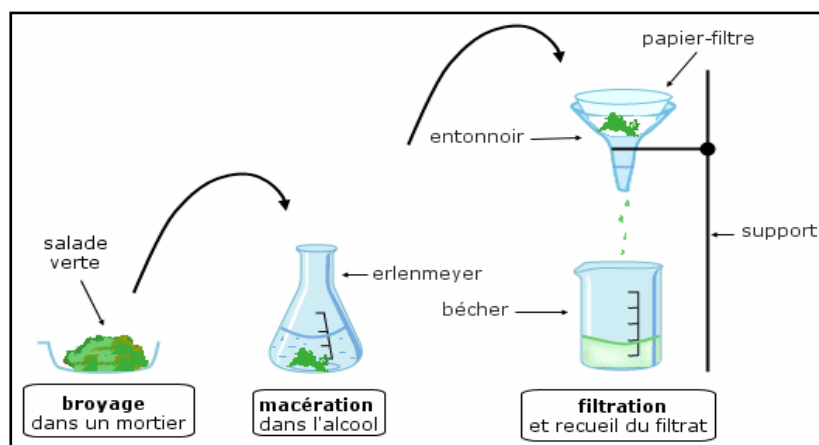


Figure 8. Extraction par macération (Gobbi et Khebbaz 2014).

2.2. Extraction par soxhlet

Un extracteur soxhlet est une pièce de verrerie utilisée pour extraire les molécules aromatiques de la plante. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés soluble. La taille du corps en verre étant limitée, il

peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante (El Kalamouni 2010).

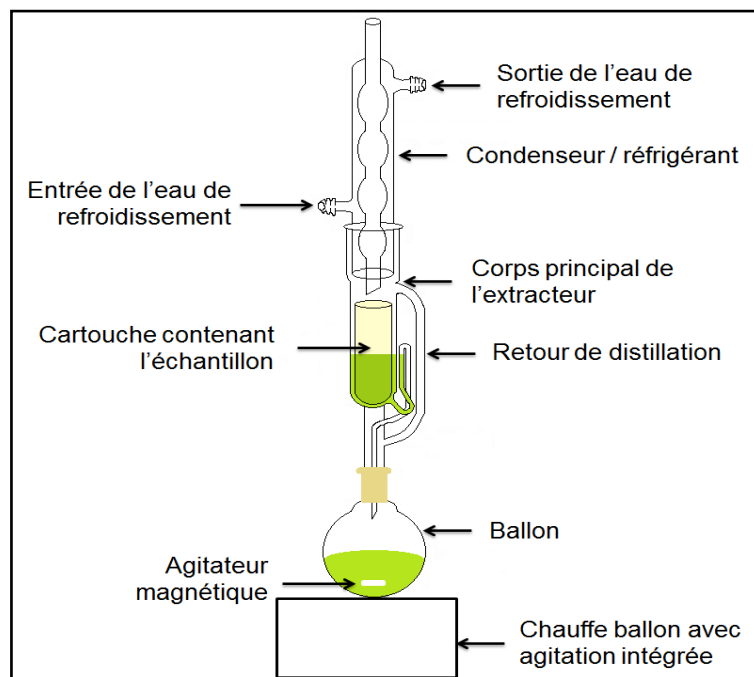


Figure 9. Extracteur de Soxhlet (Thi Kieu Tiên 2016).

2.3. Extraction en mode batch (échelle laboratoire)

Il s'agit d'un dispositif simple composé de fioles de 500 ml (où l'on dépose la matière première et le solvant) et d'un agitateur secoueur thermostaté. Les expériences qui ont été réalisées grâce à cette technique ont permis d'estimer l'influence de divers paramètres (nature et concentration du solvant, hydro module (rapport solvant-matière solide), granulométrie, température etc.) (Penchev 2010).

2.2. Extraction par distillation

Il existe 03 différents procédés utilisant le principe de la distillation. Il s'agit de l'hydro distillation, l'hydro diffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau (Piochon 2008).

2.2.1. Hydrodistillation HD

Le principe consiste à immerger la matière végétale directement dans un réacteur rempli d'eau placé sur une source de chaleur, L'ensemble est ensuite porté à ébullition sous une pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique. Ce mélange constitué d'eau et d'HE est ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin. Une fois condensé, eau et molécules

aromatiques, du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique contenant l'HE. La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage (recyclage de l'eau de distillation à l'aide d'un siphon) des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation (Chenni et El Abed 2017).

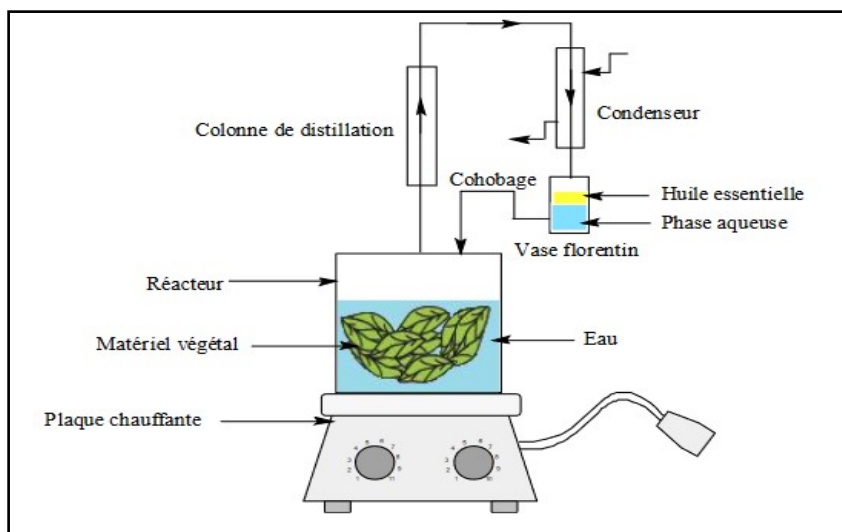


Figure 10. Schéma de montage de l'hydrodistillation (Chenni 2016).

2.2.2. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau

Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange (eau + huile essentielle). Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale. Puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Gobbi et Khebbaz 2014).

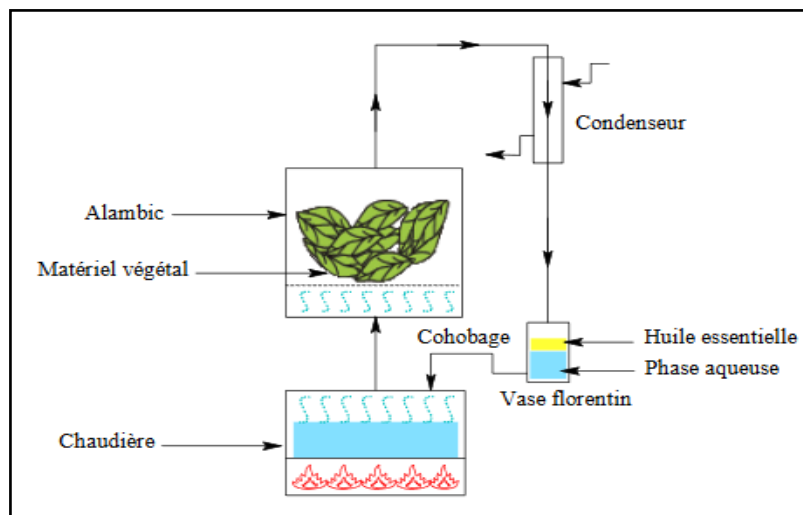


Figure 11. Schéma de montage de l'entraînement à la vapeur d'eau (Chenni 2016).

2.2.3. Extraction par hydrodiffusion

L'hydro diffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur d'eau, dans le cas de l'hydro diffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange (vapeur d'eau-huile essentielle) dispersé dans la matière végétale. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, L'hydro diffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau, de plus l'hydro diffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur (Tongnuanchan et Benjakul 2014 ., Gobbi et Khebbaz 2014).

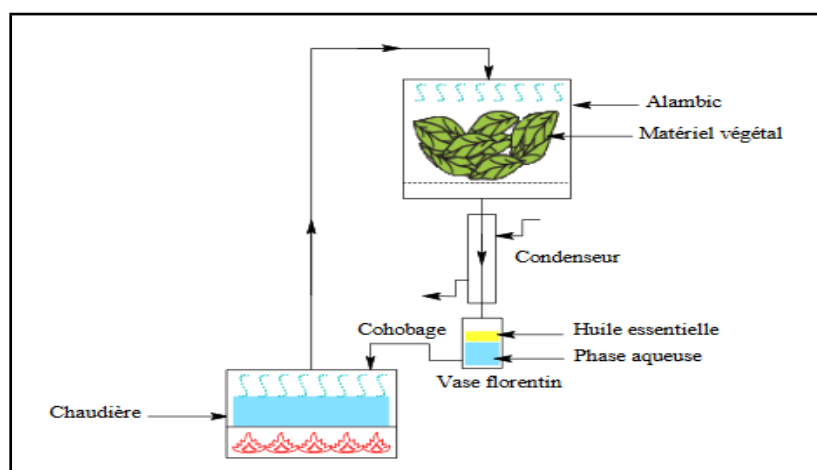


Figure 12. Schéma du dispositif de l'hydro-diffusion (Chenni 2016).

2.3. Extraction assistée par ultra-sons (UAE, *Ultrasonic Assisted extraction*)

Les ultrasons sont des ondes vibrationnelles mécaniques de fréquence allant de 16 KHz à 1 GHz pouvant se propager dans les solides, les liquides et les gaz. Dans un milieu liquide la propagation des ondes vont générer des cycles successifs de compression (haute Pression) et de raréfaction (basse pression) (Wang et Weller 2006). Cette différence de pression va générer des mouvements moléculaires au sein du milieu. Lors d'un cycle de raréfaction la distance entre molécules est augmentée et au-dessus d'une certaine distance, dépendant de chaque milieu, des bulles de cavitations vont se former. Ces bulles vont croître pendant les phases de raréfaction et diminuer pendant les phases de compression. La répétition de ces cycles va conduire à l'implosion des bulles de cavitation, libérant ainsi une grande quantité de matière (Gobbi et Khebbaz 2014).

2.4. Expression à froid

L'expression à froid est une extraction sans chauffage réservée aux fruits d'hespéridés ou d'agrumes. Le principe de ce procédé mécanique est basé sur la rupture des péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'HE ainsi libérée est entraînée par un flux d'eau. Une émulsion constituée d'eau et d'essence se forme. L'essence est alors isolée par décantation ou centrifugation (Chenni et El Abed 2017).

2.5. Extraction au CO₂ supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique : le CO₂ sous pression et à température supérieure à 31 °C, le gaz carbonique se trouve dans un état «supercritique », la matière végétale est chargée dans l'extracteur puis le CO₂ est introduit sous pression et réfrigéré. Le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO₂ reprend ainsi sa forme gazeuse et est complètement éliminé. L'extrait végétal est isolé, les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine sans trace résiduelle de solvant (Mohammedi 2004).

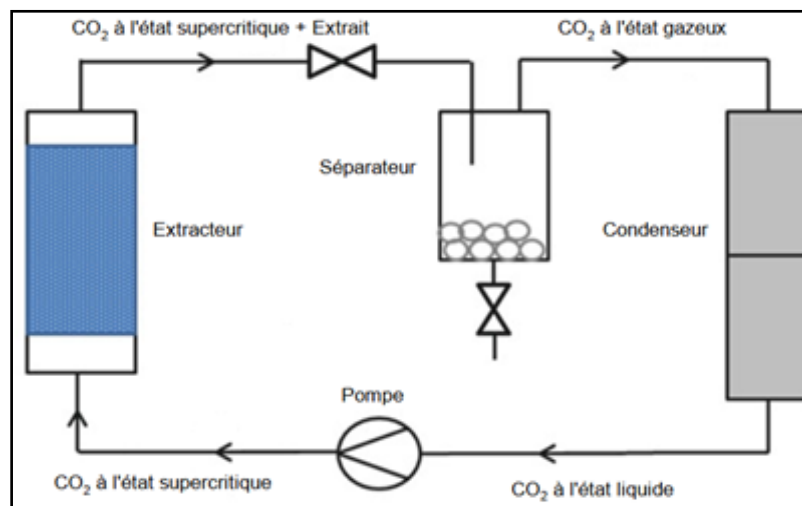


Figure 13. Schéma du procédé de l'extraction par CO₂ supercritique (Chenni et El Abed 2017).

3. Activité antioxydante et antimicrobienne.

3.1. Activité antioxydante

3.1.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Migdal et Serres 2011)

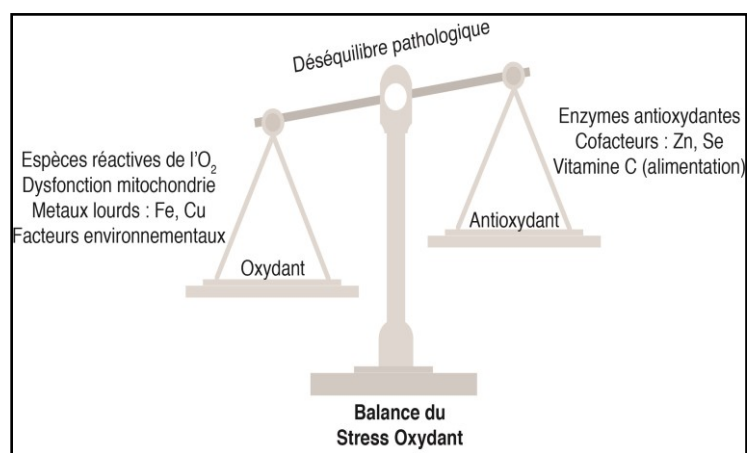


Figure 14. Mécanismes provoquant un stress oxydatif au sein d'une cellule (Thibaut 2017).

3.1.2. Radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés. Cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (Mirad et Badis 2019).

3.1.3. Espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives oxygénées ERO, classe spécifique de radicaux, Parmi les espèces réactives oxygénées les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives radicalaire qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. Les principales espèces réactives de l'oxygène radicalaire sont: le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxynitrite ($ONOO^-$) (Fetahh 2019).

Tableau 1. Espèces réactives de l'oxygène (Kohen et Nyska 2002).

Espèces radicalaires	Espèces non radicalaires
Anion superoxyde O₂•	Peroxyde d'hydrogène H₂O₂
Radical hydroxyle OH•	Peroxyde organique ROOH
Radical peroxyde ROO•	Acide hypochlorique HOCl
Radical alkoxyde RO•	Oxygène singulet 1O₂
Monoxyde d'azote NO•	Peroxynitrite ONOO

3.1.4. Origines des espèces réactives de l'oxygène

Il existe deux sources différentes de ces radicaux libres :

❖ Production endogène

La chaîne respiratoire mitochondriale, dans laquelle les êtres aérobies puisent leur énergie, joue un rôle capital dans la cellule en couplant l'oxydation de coenzymes transporteurs d'hydrogène ou d'électrons avec la phosphorylation de l'ADP (Adenosine DiPhosphate) en ATP (Adenosine TriPhosphate). Les conséquences de cette activité mitochondriale sont doubles et paradoxales. D'une part, la mitochondrie fournit à la cellule une source d'énergie importante puisque 36 molécules d'ATP à haut potentiel énergétique sont générées lors de la réduction de l'oxygène. Par contre, dans les conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des ERO (Aurousseau 2002).

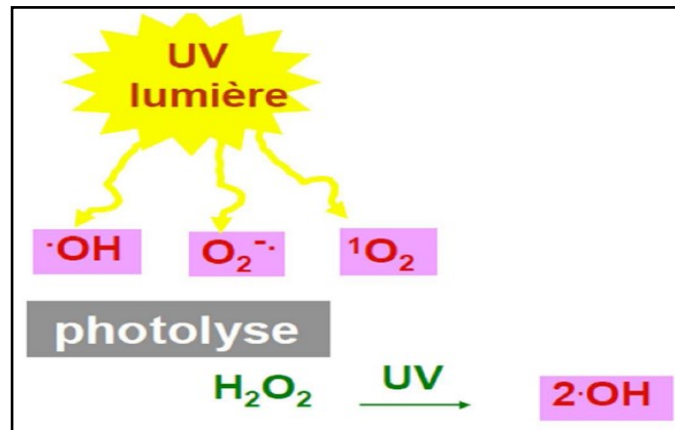


Figure 15. Formation des Espèces Réactives résultant d'une réduction progressive de l'oxygène (Fettah 2019).

❖ Formation par voie exogène

Les ERO peuvent également être générées par différents agents non enzymatiques comme les rayonnements UV induisant la synthèse de radicaux libres ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot}) et des molécules génératrices de radicaux libres (H_2O_2) par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants, ainsi que les radiations ionisantes. L'ingestion d'alcool ou de médicaments est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes dont les structures peuvent jouer le rôle d'accepteurs et de donneurs d'électrons (Fettah 2019).

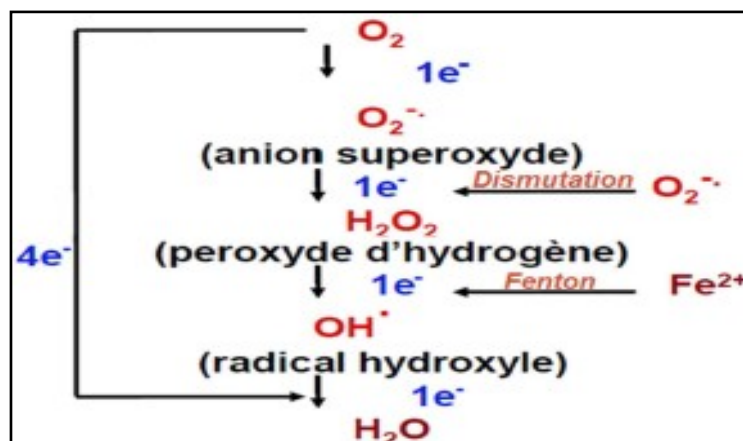


Figure 16. Radiations UV de la lumière (Fettah 2019).

3.1.5. Antioxydants

3.1.5.1. Définition

Les antioxydants sont des composés chimiques capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit (Fedala 2015).

En outre, l'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraînant ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques, et stable dans le produit fini (Fedala 2015).

3.1.5.2. Caractéristiques des antioxydants:

Un composé est considéré antioxydant *in vivo*, lorsqu'il requière les propriétés suivantes (Valko et *al.*2006) :

- ❖ Agi spécifiquement sur les radicaux libres ;
- ❖ Chélate les métaux de transition ;
- ❖ Agi en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer ;
- ❖ Agi à des concentrations physiologiques relativement faibles ;
- ❖ La demi-vie de l'antioxydant doit être suffisamment longue pour réagir avec L'oxydant.

3.1.4.3. Principe des antioxydants:

La réaction d'oxydation est souvent une réaction en chaîne, les antioxydants bloquent cette chaîne et empêchent ainsi les radicaux libres d'attaquer les cellules du corps. Les antioxydants vont se lier aux radicaux libres et réalisent une réaction d'oxydation avec eux, ce qui va les rendre inoffensifs et donc rendre impossible leurs oxydations par les protéines ou les acides gras (Fettah 2019).

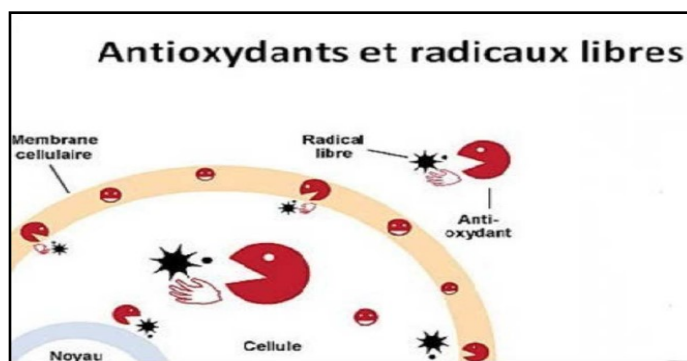
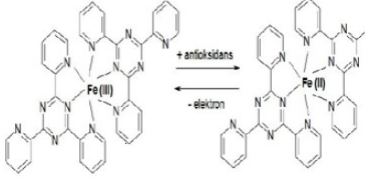
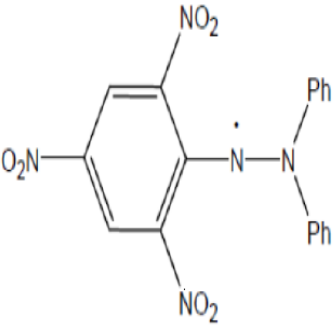
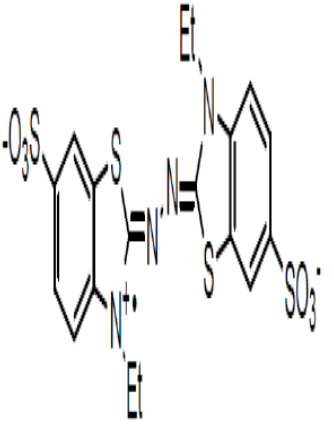


Figure 17. Principe des antioxydants (Fettah 2019).

3.1.6. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux libres différents.

Tableau 2. Les Méthodes les plus couramment utilisées pour estimer le pouvoir antioxydant (Portes 2008)

Méthodes	Réactions	Structure
FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma)	Réduction le fer ferrique (Fe ³⁺) en fer ferreux (Fe ²⁺).évalue le pouvoir réducteur des composés. La lecture se fait à 700 nm.	
DPPH	Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure activité antioxydant des composés phénoliques. La lecture se fait à 517 nm.	
ABTS	Le sel de ABTS (l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique) Perd un électron pour former un radical cation ABTS ^{•+} , de couleur sombre en solution en présence de l'agent antioxydant, le radical ainsi formé est réduit pour donner le cation ABTS ^{•+} , Ce qui entraîne la décoloration de la solution. La lecture se fait à 734 nm.	

3.2. Activité antimicrobienne

3.2.1. Définition de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne correspond à l'activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal qui est à très faible concentration inhibe le développement d'une bactérie ou la tue (Hechifa et Merad 2016).

3.2.2. Bactéries pathogènes

Ce sont des bactéries qui sont responsables de maladies. Elles sont classées en Bactéries Gram-négatives, Gram-positives et bactéries acido-alcoolo-résistantes (BAAR) (Sahabi 2009).

Le tableau suivant donne la liste de quelques bactéries et les maladies dont elles sont responsables.

Tableau 3. Quelques bactéries et maladies causées (Sahabi 2009).

Groupe de bactéries	Maladies causées
Bactéries Gram-positives	
<i>Bacillus cereus</i>	toxi-infections; infections oculaires et respiratoires
<i>Staphylococcus aureus</i>	Furoncles, pneumonie
<i>Streptococcus hémolytique</i>	Angine, infection cutanées, rhumatisme
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pneumonie communautaire
Bactérie Gram négatives	
<i>Vibrio cholerae</i>	Choléra, gastroentérite
<i>Escherichia coli</i>	Infections urinaires, diarrhées infectieuses
<i>Haemophilus influenzae type B</i>	Méningite, pneumonie
<i>Neisseria aeruginosa</i>	Blennorragie
<i>Salmonella typhimurium</i>	Fièvre typhoïde
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infections urinaires
<i>Proteus mirabilis</i>	Diarrhées infectieuses (gastro-entérites)
Bactéries acido-alcoolo-résistantes	
<i>Mycobacterium leprae</i>	Lèpre
<i>Mycobacterium arium</i>	Pneumonie
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	tuberculose

3.2.3. Mode d'action des composés sur les bactéries

Il existe plusieurs types d'agents antimicrobiens. C'est le cas des agents physiques (Radiations UV, rayon γ), des agents chimiques (alcools, phénols, métaux lourds, agents alkylants, détergents, aldéhydes, halogènes, antibiotiques et composés polyphénoliques dont ceux d'extraits de plantes). Les métabolites secondaires des plantes tels que les polyphénols agissent par plusieurs mécanismes: (Sahabi 2009):

- **par la modification de la perméabilité membranaire**

La membrane plasmique agit comme une barrière sélective. Elle régularise l'entrée et la sortie des substances chez les microbes. Une altération de la membrane plasmique peut inhiber la croissance de la bactérie ou conduire à sa mort.

- **par inhibition de la paroi bactérienne**

Certains agents antibactériens affectent la paroi de la bactérie en inhibant sa synthèse. C'est l'exemple de l'inhibition du peptidoglycane par la pénicilline ou par les poly phénols.

- **par inhibition de la synthèse des protéines**

C'est le cas des antibiotiques ou extraits de plantes qui agissent en inhibant l'incorporation des acides aminés dans les chaînes polypeptidiques. D'autres composés inhibent la combinaison aminoacide: ARN de transfert (ARNt) avec le ribosome. Par contre d'autres inhibent même la formation de la liaison peptidique par les peptidyltransferases dans la bactérie.

- **par inhibition de la synthèse des acides nucléiques**

La vie de la bactérie peut être compromise par toute perturbation du fonctionnement de l'ARN et de l'ADN. Ce faisant les métabolites secondaires de plantes peuvent bloquer la synthèse de l'ADN ou de l'ARN.

- **par inhibition de l'activité enzymatique**

La cellule bactérienne renferme une multitude d'enzymes. De nombreux composés de plantes ou antibiotiques entravent les réactions biochimiques. Ils se lient aux groupes thiols des enzymes et entraînent l'altération des structures tertiaires et quaternaires des enzymes bactériennes.

3.2.5. Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne

On cite souvent ces 03 méthodes car considérées comme fournissant des résultats reproductibles (Allane 2009):

- Diffusion en disque
- Dilution en bouillon
- Dilution en gélose

3.2.5.1. Méthodes de la diffusion en disque

❖ intérêt

La diffusion en disque est facile à mettre en œuvre, reproductible et ne nécessite pas d'équipement coûteux.

3.2.5.2. Méthodes de dilutions en bouillon et en gélose

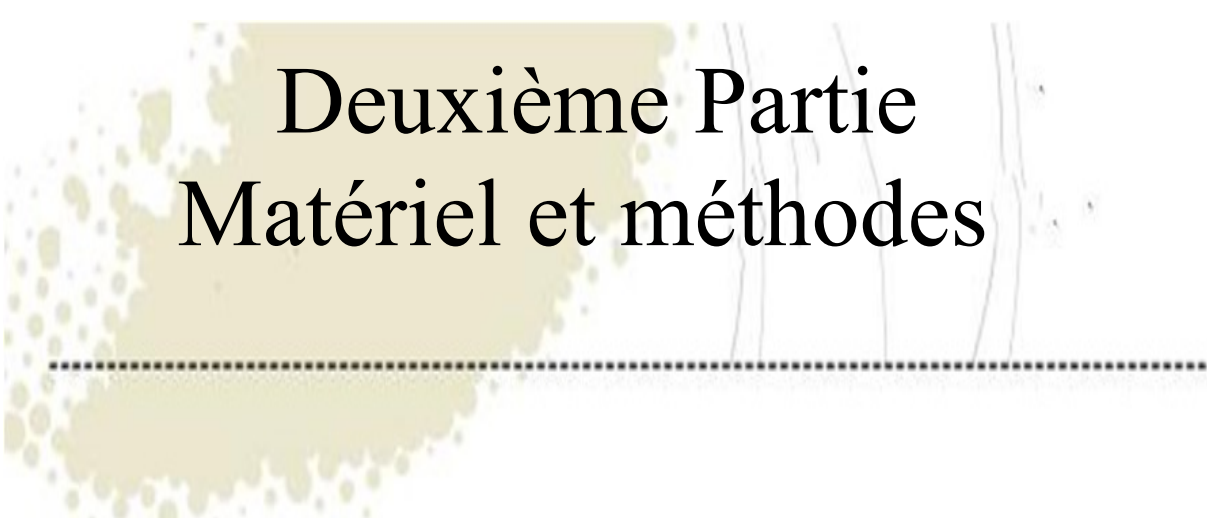
❖ Le but de ces méthodes est de déterminer la CMI, habituellement exprimée en $\mu\text{g/ml}$ ou mg/litre).

● Dilution en bouillon

Il s'agit d'une technique dans laquelle une suspension d'une bactérie est expérimentée contre différentes concentrations d'un antimicrobien dans un milieu liquide. Cette méthode doit être effectuée soit dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macrodilution : volume = 2ml), soit en microtitration (microdilution : pour les plus faibles volumes) comparée à la méthode de gélose, cette méthode est plus reproductible et quantitative.

● Dilution en gélose

La dilution en gélose nécessite l'introduction d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé dans une progression exacte des concentrations. On procède ensuite à l'application d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte. Les résultats sont souvent considérés comme étalon pour la détermination d'une CMI.



Deuxième Partie

Matériel et méthodes

Les travaux de la partie expérimentale ont été réalisés au sein du laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Tiaret.

1. Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude est l'évaluation *in vitro* de certaines activités biologiques (antioxydant et antimicrobienne) des extraits éthanoliques issus de la partie aérienne (feuilles et tiges) de l'if commun (*Taxus baccata*) ; une plante d'Algérie largement reconnue pour sa valeur patrimoniale, économique et médicinale.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de la partie aérienne (feuilles et tiges) de l'if commun (*Taxus baccata* .L.) (Fig. 18). Il a été récolté au mois de décembre 2019 dans leur habitat naturel, au parc national de Chréa (Blida), Atlas blidéen (Algérie).



A : Tiges découpées.



B : Feuilles fraîches.

Figure 18. Matériel végétal utilisé (Photo prise au laboratoire)

2.1.2. Microorganismes

Six souches microbiennes fréquemment rencontrées dans les infections communes seront utilisées lors de cette étude. Il s'agit de souches de collection internationale ATCC (American Type Culture Collection) fournies gracieusement par les laboratoires du CHU Mustapha Pacha d'Alger excepté *Candida albicans* qui est un isolat clinique. Une observation

au microscope, après des colorations simples pour les champignons et de Gram pour les bactéries ont été effectuées afin de vérifier la pureté des souches.

2.1.2.1. Souches testées

a. Bactéries à Gram positif

- *Staphylococcus aureus*

C'est un organisme à Gram positif, agent pathogène opportuniste et colonisateur fréquent de l'épithélium. Provoque des inflammations sévères et septicémies (Grema *et al.* 2015).

- *Bacillus cereus*

C'est une bactérie sporulée, aéro-anaérobie facultative et thermorésistante ; les températures de croissance de cette bactérie peuvent varier de 5 à 50 °C. Ces caractéristiques lui confèrent une résistance particulière à l'action de bactéricides, aux désinfectants, aux radiations, à la dessiccation et au cycle du froid.

Bacillus cereus peut produire deux types de toxines, une toxine émétique préformée dans les aliments et résistante à une large gamme de températures et de pH, et des toxines diarrhéiques produites pendant la croissance dans l'intestin grêle après ingestion de cellules végétatives ou de spores en quantité suffisante (Cadel *et al.* 2012).

- *Bacillus subtilis*

Bactérie ubiquitaire à Gram positif, catalase positive, aérobie pouvant se développer en anaérobie, mobile par des flagelles peritriches, formant des spores très résistantes dont l'élimination efficace nécessite des conditions particulières.

Malgré le fait qu'il s'agisse d'une bactérie à faible potentiel pathogène, elle peut donner lieu à de redoutables infections dans certains cas ou encore être à l'origine d'une intoxication alimentaire. C'est une bactérie modèle très étudiée dont le génome, entièrement séquencé, est facilement transformable au laboratoire.

Les applications de *B. subtilis* concernent plusieurs domaines notamment le domaine médical, agro-alimentaire et écologique. Elle occupe également une place importante dans l'industrie des détergents et du tannage (Bouihairi 2017).

b. Bactéries à Gram négative

- *Escherichia coli*

C'est un bacille Gram négatif assez typique, mesurant 1 µm de long par 0,35µm de largeur. C'est un aérobie facultatif le plus courant dans l'intestin inférieur des mammifères peut être pathogène en provoquant de graves maladies: les entérohémorragies et les péritonites (Blount 2015).

c. Champignons

❖ Les levures

- *Candida albicans*

Est un champignon opportuniste le plus fréquemment isolé de l'homme, c'est un membre de la classe des Saccharomycetes. Il existe à l'état saprophyte habituellement dans les épithéliums muqueux des mammifères en particulier sur les muqueuses digestives et génitales. Le passage de la levure à un stade pathogène est favorisé par un certain nombre de conditions comme le changement dans les facteurs écologiques tels que l'utilisation d'antibiotiques à large spectre ou des médicaments immunosuppresseurs (Méar et *al.* 2013).

❖ Les moisissures

- *Aspergillus niger*

Est un champignon filamenteux haploïde qui est utilisé pour la gestion des déchets et des biotransformations en plus de ses utilisations industrielles, telles que la production d'acide citrique et d'enzymes extracellulaires.

On le trouve le plus souvent dans la végétation, le sol ou les plantes en décomposition, mais on ne peut le considérer comme particulièrement dangereux par rapport à *Aspergillus fumigatus*, l'agent pathogène le plus répandu dans l'air. *Aspergillus niger*, la moisissure la plus abondante trouvée dans l'environnement, a également été la source de plusieurs composés bioactifs et d'enzymes industrielles (Schuster et *al.* 2002).

2.2. Méthodologies

2.2.1. Protocole expérimental

Ce travail a été effectué selon le protocole illustré ci-dessous.

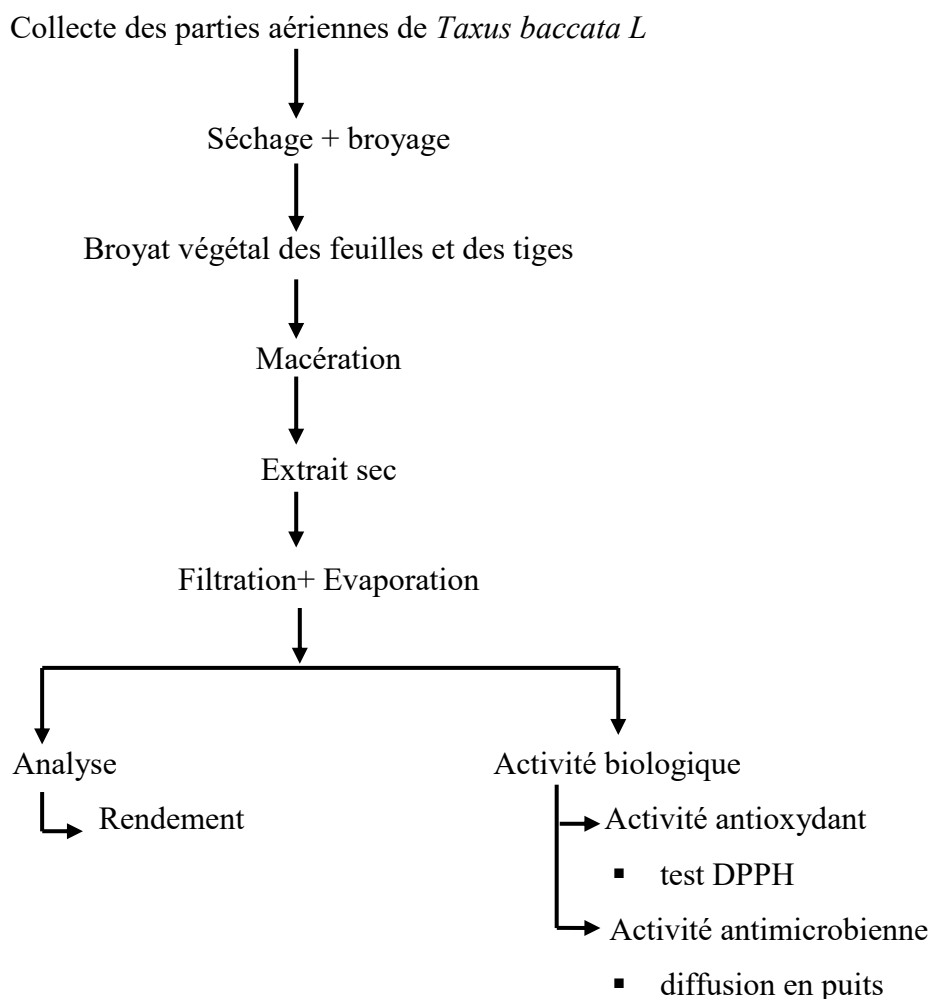


Figure 19. Protocole expérimental

2.2.1.1. Séchage et conservation

Les feuilles et tiges fraîchement prélevées sont débarrassées de toutes poussières et autres impuretés, puis elles ont été séchées à l'ombre sur de papier à température ambiante, durant une vingtaine de jours à un endroit aéré (Fig. 20), puis stockées à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'utilisation. Le but du séchage est de déshydrater un produit de façon à abaisser sa teneur en eau en dessous d'une valeur permettant sa conservation à température ambiante (Agbossou et *al.* 2013).



Figure 20. Feuilles et tiges de l'if après séchage

2.2.1.2. Préparation des extraits éthanoliques

2.2.1.3. Broyage

Les feuilles et les tiges de la plante étudiée ont été broyées séparément dans un moulin électrique en une poudre très fine et homogène, pour augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant et faciliter l'extraction. Par la suite, les poudres obtenues ont été conservées à l'obscurité dans des bocaux hermétiquement fermés jusqu'à leur utilisation afin de préserver au maximum l'intégrité de leurs compositions chimiques (Fig. 21).



Figure 21. Broyat des feuilles

2.2.1.4. Macération (extraction solide /liquide) à froid

Cette procédure, malgré le temps long d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvant, est relativement peu coûteuse. En plus, elle se déroule à température ambiante, ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules poly phénoliques (Abassi et Twil 2019).

50 g de poudre a été introduite dans un ballon à bouillir de 1000 ml ombré protégé avec du papier aluminium afin d'éviter toute dégradation des molécules par la lumière, est macérée pendant 24 heures dans 500 ml d'éthanol dilué à une concentration de 70%, sous agitation permanente, et à température ambiante (Fig. 22).



Figure 22. Macération sous agitation.

2.2.1.5. Filtration

Lorsque la période de macération est terminée, l'homogénat obtenu est filtré sur un papier filtre Wathman. L'extrait obtenu a été versé dans un plat de cristallisation en verre puis séché à une température voisinant 35°C. L'extrait sec obtenu a été pesé et conservé à l'abri de la lumière pour une éventuelle utilisation.

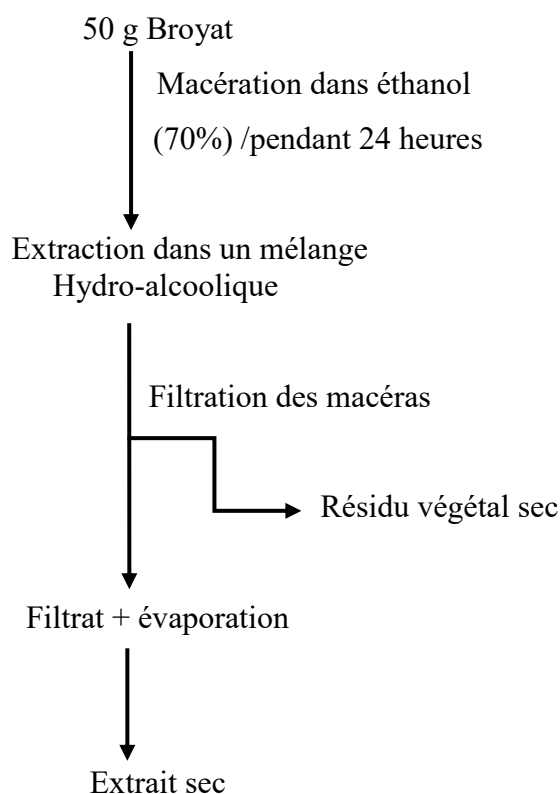


Figure 23. Différentes étapes de préparation des extraits éthanoliques.

2.2.1.6. Calcul de rendement des extraits

Le rendement d'une extraction se calcule par le rapport entre la masse de l'extrait obtenu et la masse de la matière première végétale traitée (Abdelli 2017). Ce rendement est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = m_2 / m_1 \times 100$$

OU :

R (%) : Rendement exprimé en %.

m_1 : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

m_2 : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

2.3. L'évaluation in vitro de l'activité antioxydant de *Taxus baccata*

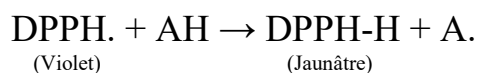
Plusieurs méthodes sont disponibles pour évaluer, in vitro, l'activité antioxydante de différentes composées de systèmes biologiques. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans un milieu réactionnel. La méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) est la plus simple à réaliser in vitro (Mighri et al.2010). Le DPPH est largement employé pour évaluer le balayage de divers

produits naturels, et il est considéré comme un composé modèle pour les radicaux libres de ces produits (Fettah 2019). Dans ce cadre, nous nous sommes intéressées à l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits naturels de la partie aérienne de la plante *Taxus baccata*. En vue de leur valorisation.

2.3.1. Estimation du pouvoir anti radicalaire (DPPH•)

❖ Principe :

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazone (DPPH•) est un radical organique libre, stable et de couleur rouge pourpre. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (Gachkar et al.2007). Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration de la forme libre en solution dépend de la nature, de la concentration et de la puissance de la substance antiradicalaire (Asadi et al. 2010). On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Où (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH. (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H (Wang et al. 2002).

Le (DPPH•) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante, en raison de sa stabilité en forme radicalaire libre et la simplicité de l'analyse (Fig. 22). Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm (Bozin et al 2008).

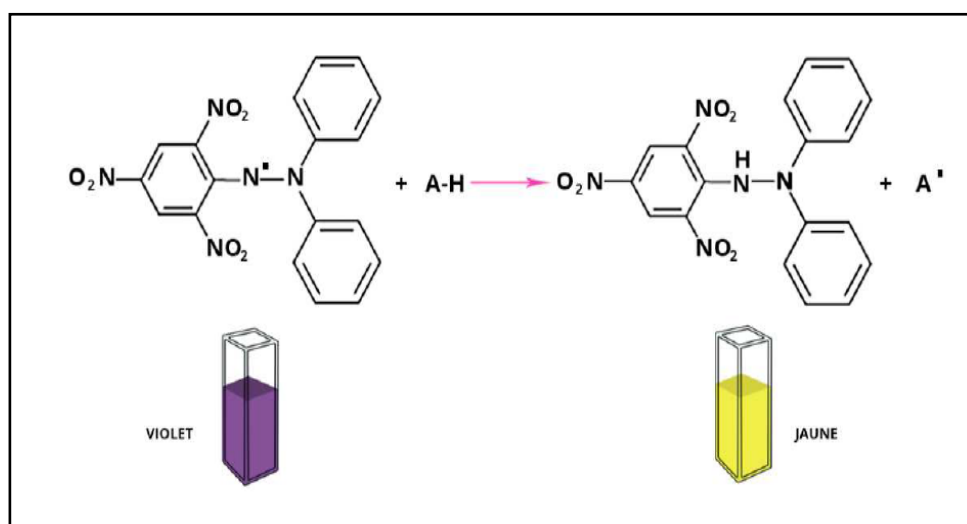


Figure 24. Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre L'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (Fettah 2019).

2.3.2. Protocole

Une solution éthanolique de DPPH[•] a été préparée au préalable dans une fiole en dissolvant 4 mg de poudre de ce produit dans 100 ml d'éthanol, cette solution reste stable 4 jours à 4°C et à l'abri de la lumière.

❖ Préparation des dilutions

Nous préparons une gamme de dilution avec différentes concentrations partant d'une solution mère dissoute dans l'éthanol (70%).

❖ Dosage

L'activité du piégeage du radical DPPH est évaluée selon le protocole décrit par (Molyneux 2003).

- 50 µl d'extrait à une concentration donnée sont ajoutés à 950 µl de la solution DPPH. Le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. Les extraits ainsi que la référence (acide ascorbique) sont testés à différentes concentrations.

- Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 1ml éthanol à 70% avec 1 ml de la solution éthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc éthanol + eau (70%) à 517 nm après l'incubation.

- Le contrôle positif est réalisé avec une solution d'un antioxydant standard; l'acide Ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les extraits testés.

- La lecture de l'absorbance a été faite au bout de 30 minutes au spectrophotomètre à 517 nm en utilisant l'éthanol comme blanc. Trois mesures de l'absorbance ont été effectuées pour chaque concentration testée (n=3).

2.3.3. Expression des résultats

2.3.3.1. Calcul des pourcentages d'inhibitions

Les pourcentages d'inhibition sont calculés à l'aide de la formule suivante :

$$I \% = ((Ac-At)/Ac) \times 100$$

Avec :

Ac : Absorbance du contrôle négatif

At : Absorbance du test effectué

❖ Calcul des concentrations efficaces IC₅₀

L'IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50 %, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH.

- Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; Pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées
- EC₅₀ est l'IC₅₀ par équivalent gramme de DPPH.

2.3.3.2. Calcul de l'activité anti radicalaire

APR ou activité anti radicalaire qui est inversement proportionnel à l'EC₅₀ (concentration d'inhibition). (Seggani et Boukhil 2017)

$$APR = 1/EC_{50}$$

2.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des extraits a été testée par la méthode de diffusion à partir des puits sur la gélose (Muller-Hinton).

2.4.1. Protocole

• Préparation des dilutions

Afin d'évaluer l'action antimicrobienne des extraits éthanoliques obtenus de la partie aérienne de *Taxus baccata*, des tests antimicrobiens ont été effectués avec une gamme de concentrations de chaque extrait préparées dans du diméthyle sulfoxyde (DMSO) à 70 %.

Nous avons établi pour cette étude une gamme de dilution en partant d'une concentration de solution mère de 1g/10ml d'eau distillée stérile.

• Repiquage des espèces bactériennes

Les différentes espèces bactériennes seront repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

• Préparation de l'inoculum

À partir de chaque espèce bactérienne testée, les inoculum ont été préparés en prélevant séparément une ou deux colonies bien distinctes de la même boîte de pétri à partir d'une culture jeune (24h), puis les dissoudre dans de l'eau distillée stérile formant une suspension homogène. La turbidité de la suspension formée est ajustée de manière à avoir une densité optique comprise entre 0.08 et 0.1 correspondant à 0.4 McFARland.

- **Préparation des milieux de culture**

Le milieu de culture de Muller-Hinton (milieu spécifique pour les bactéries) utilisé dans cette étude est préparé comme suit : Dissoudre 38g de la gélose Muller-Hinton dans 1L d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, avec un $\text{PH}=7.4\pm 0.2$, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu après refroidissement dans les boîtes de Pétri stériles (qui correspond à 20 ml), alors que d'autres seront coulées par la gélose Sabouraud (milieu spécifique pour les champignons). Les boîtes doivent être séchées 30 min à une température ambiante avant leur emploi.

- **Ensemencement**

Les boîtes de Pétri préalablement coulées, seront ensemencées dans une zone stérile en présence de bec benzène par trempage d'un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, puis l'ensemencement s'effectue par le frottement de l'écouvillon à la surface gélosée, sèche, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

- **Dispersion des solutions des extraits**

La gélose est perforée par la partie supérieure d'une pipette Pasteur formant des puits de 6 mm de diamètre. Les cavités ainsi formées sont remplies de 20 μL de l'un des extraits testés (dissous préalablement dans le DMSO) à raison de plusieurs concentrations. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque concentration.

- **Incubation**

Les boîtes sont mises à incuber dans une étuve à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et la levure *C. albicans* et à 25°C pendant une semaine pour la moisissure *A. niger*. L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre (en mm) de la zone d'inhibition produite après incubation autour de chaque puits à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (Braz 2018 ; Ela et coll 1996). Selon (Tekwu et al. 2012) Les bactéries sont classées selon le diamètre d'inhibition dans l'une des deux catégories suivantes : Non sensible : <10 ; Sensible : ≥ 10

2.4.2. Analyses Statistiques

Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition=f (concentrations)].



Troisième Partie

Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

Les composés biologiquement actifs sont généralement présents à faibles concentrations dans les plantes. Une bonne technique d'extraction est celle qui permet d'obtenir des extraits à rendement important avec des changements minimes des propriétés fonctionnelles. Cette opération a pour but de capter les produits élaborés par le végétal tout en veillant à éviter d'en altérer la qualité (Saidi 2019).

Les extraits éthanoliques des deux parties végétales étudiées sont obtenus par macération. Les rendements d'extraction, les aspects et les couleurs des extraits obtenus, sont mentionnés dans le tableau (4).

Tableau 4. Caractéristiques et rendements des extraits de *Taxus baccata*.

Organe testé	Extrait	Masse	Couleur	Aspect	Rendement en (%)
Feuilles	EtOH	6,95	Vert foncé	Vitreux	13,9
Tiges		4,80	Marron	Vitreux	9,6

Les extraits obtenus présentent majoritairement un aspect vitreux de couleur verte foncée pour les feuilles et marron pour les tiges. Cela est dû à la présence des pigments végétaux ou bien à la nature des polyphénols entraînés par le solvant et à leur solubilité dans ce solvant (Saidi 2019).

Nous observons une nette différence entre les deux rendements d'extraction des feuilles et des tiges de *Taxus baccata*. Cette différence de rendement peut-être expliquée par la variabilité de leur composition physicochimique et de leurs teneurs en composés phénoliques (Shah et al. 2017). Le meilleur rendement est enregistré pour les feuilles avec 13,9%.

Ce résultat est confirmé par les travaux de (Patel et al.2009) sur les feuilles de *Taxus baccata* indiquant que l'éthanol a donné le meilleur rendement massique (9,1%) comparativement aux extraits obtenus par le n hexane (rendement, 0,8%), dichlorométhane (rendement, 1,8%), acétate d'éthyle (rendement, 1,6%), et de l'eau (rendement, 8,3%). C'est un solvant polaire connu pour extraire une large gamme de molécules incluant les sucres, les glycosides et les composés faiblement polaires.

Ce qui explique pourquoi le mélange éthanol/eau est utilisé pour la préparation des extraits bruts par macération, considéré comme un mélange de polarité élevée, permettant une extraction optimale des composés phénoliques. Ceci est conforté par les résultats de plusieurs travaux antérieurs qui ont démontré que le rendement d'extraction augmente de manière significative avec l'utilisation des solvants hydro-alcooliques à différentes proportions par

rapport aux solvants organiques purs (Saidi et *al.*, 2019) . La variation de la concentration du solvant (mélange à différentes proportions avec l'eau distillée) modifie sa capacité d'extraction (Saidi 2019).

Toutefois, il est difficile de comparer strictement nos résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de l'espèce végétale étudiée, de l'origine géographique et la période de prélèvement du matériel végétal, la partie de la plante, les conditions de séchage et d'entreposage, le contenu de chaque espèce en métabolites secondaires, la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou le fractionnement, sa polarité ainsi que la méthode d'extraction elle-même (Svoboda et Hampson 1999 ; Smallfield 2001).

2. Activité antioxydante et antimicrobienne de *Taxus baccata* L

Les parties aérienne des plantes médicinales sont généralement riches en composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les phénols, les stilbènes, les tanins, les coumarines, les lignanes, les lignines, etc. Ces composés chimiques ont de multiples effets biologiques, notamment antimicrobiens et antioxydants.

1.1. Activité antioxydante

Selon les travaux de Prakash et *al* (2018) Inde. Des extraits des feuilles de *Taxus baccata* dans trois solvants différents (méthanol, acétone et aqueux) ont été testés pour leur capacité de piégeage des radicaux libres en utilisant le test DPPH et il a été observé que les extraits de plantes présentaient un bon pouvoir pour piéger les radicaux libres. Les extraits ont été testés sur une gamme de concentration (20-100 $\mu\text{g} / \text{ml}$) et il a été constaté que l'activité augmentait dans l'ensemble avec l'augmentation de la concentration des extraits comme indiqué dans le tableau (05). L'extrait de feuilles a montré une activité de piégeage du DPPH la plus élevée (78,40%) à une concentration de (100 $\mu\text{g} / \text{ml}$) et un IC_{50} le plus bas à (62,27 $\mu\text{g} / \text{ml}$). Le pourcentage de l'acide ascorbique qui est le standard utilisé est de (83,26%). Dans tous les cas, les extraits de méthanol se sont avérés être de meilleurs antioxydants que l'acétone et les extraits aqueux correspondants.

Il a été constaté que les extraits des parties foliaires de *Taxus baccata* possèdent une faible activité antioxydante pour les petites concentrations par comparaison avec les antioxydants standards. A une concentration de (100 $\mu\text{g} / \text{ml}$) l'extrait méthanolique présente un taux d'inhibition proche de celui des antioxydants standards, ce qui permet de déduire que les composés phénoliques contenus dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Taxus baccata* sont très efficaces.

Tableau 5. Activité de piégeage des radicaux libres (DPPH) (%) de *Taxus baccata* à Différentes concentrations (Prakash et al. 2018).

Organe Testé	Concentration (µg / ml)	Extrait méthanolique	Extrait d'acétone	Extrait aqueux	Acide ascorbique
Feuille	20	21,00±0,45	15,60±3,05	10,60±0,54	35,24±0,50
	40	34,08 ±2,22	27,10±2,20	22,20±0,35	50,54±0,42
	60	47,90 ±1,32	39,45±1,80	35,00±0,00	62,35±1,20
	80	60,87 ±0,66	49,00±0,00	47,50±1,20	74,14±0,00
	100	78,40±2,13	63,30±0,50	59,90±0,80	83,26±2,20
	IC ₅₀ (µg/ml)	62,27	68,88	84,21	41,44

Milutinović et al (2015) ont également analysé les propriétés antioxydantes par le test DPPH des extraits végétaux des feuilles et des cônes de graines de *Taxus baccata*, obtenus à l'aide de cinq solvants de polarité différente (acétone, méthanol, eau, acétate d'éthyle et éther de pétrole). Le pourcentage d'inhibition variait de (66,92 à 95,78%) pour les extraits de feuilles et de (36,31 à 92,69%) pour les extraits de cônes de graines. L'activité la plus élevée en pourcentages était celle des extraits d'acétone, de méthanol et d'acétate d'éthyle qui ont enregistré des valeurs entre 95 et 95,8 à partir des feuilles. Les valeurs de IC₅₀ de l'activité antioxydante des extraits de feuilles allaient de (25,24 à 533,66 µg / ml), et de (81,43 à plus de 1000 µg / ml) pour les extraits de cônes de graines. Parallèlement à l'examen de l'activité antioxydante des extraits de feuilles et de cônes de graines de *Taxus baccata*, les valeurs du BHA (93,37%; 5,39 µg / ml), de la rutine (93,71%; 9,28 µg / ml) et l'acide chlorogénique (96,60%; 11,65 µg / ml) en tant que composés standards sont présentés. Ces résultats suggèrent que les feuilles et les cônes de graines de *Taxus baccata* sont une source potentielle de substances antioxydantes naturelles.

L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Saidi 2019).

Tous les extraits d'origine foliaires ont exprimé une propriété antioxydante très importante par rapport aux cônes des graines (arille) de la plante étudiée, et particulièrement l'extrait d'acétone qui a indiqué l'IC₅₀ (25,24±1,27) le plus faible, suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle (29,84±1,15). Par contre l'extrait aqueux indique une activité très faible. Ce qui nous permet

de dire que l'eau ne représente pas un bon solvant pour l'extraction des molécules actives de la plante étudiée.

Tableau 6. Activité de piégeage de la DPPH des extraits végétaux des feuilles et des cônes des Graines, présentée en% d'inhibition et de valeurs IC₅₀ (µg / ml) (Milutinović et al.2015).

Organe testé Extrait	Feuilles		Cônes de graines	
	% inhibition	IC ₅₀	% inhibition	IC ₅₀
Eau	66,92±1,92	533,66±9,55	38,83±1,95	>1000
Méthanol	95,59±1,74	105,41±3,12	88,83±1,41	518,51±3,19
Acétone	95,76±2,33	25,24±1,27	92,69±1,84	81,43±1,98
Acétate d'éthyle	95,03±1,44	29,84±1,15	83,99±0,80	180,26±1,25
Ether de pétrole	78,01±1,62	438,92±4,94	36,31±1,48	>1000

Tableau 7. Valeurs de l'activité antioxydante (piégeage de la DPPH) de substance standard obtenue pour comparaison avec les valeurs d'extraits de *T. baccata* (Milutinović et al.2015).

substances	% inhibition	IC ₅₀ µg/ml
BHA	93.37±2.5	5.39±0.31
rutin	93.71±1.1	9.28±0.27
Acide chlorogénique	96.60±1.8	11.65±0.52

L'étude menée par Karafakıoğlu (2019) Turquie, sur les extraits méthanoliques des feuilles, des branches et des fruits de *Taxus baccata* afin de déterminer leurs propriétés antioxydantes par le test DPPH était concluante. L'extrait de feuilles a montré une activité de piégeage du DPPH la plus élevée (93,21%) (tableau 8) en comparaison avec l'extrait de fruits (91,12%) et de l'extrait de branches (41,15%) qui semble avoir l'effet inhibiteur le plus faible. Aucun de ces extraits n'a enregistré une activité supérieure ou égale à celle déterminée par l'acide ascorbique, qui est le standard utilisé (96,82%). Le fait que l'écart du pourcentage d'inhibition entre l'extrait des feuilles et celui de référence (l'acide ascorbique) soit faible, ne dépassant pas les 3,61%, nous permet de dire que la partie foliaire de cette espèce est très riche en métabolites secondaires et renferme une activité antioxydante très importante.

Tableau 8. Valeurs DPPH des extraits de *Taxus baccata* (Karafakioğlu 2019).

Organe testé	Technique d'extraction	Extrait	% inhibition	Substance standard
Feuilles	Ultrasons	Méthanol	93,21	Acide ascorbique DPPH : 96,82%
Fruits			91,12	
Branches			44,15	

Contrairement à l'étude de Karafakioğlu (2019) Turquie, une autre étude de Serteser et al(2009), a été menée afin de déterminer les propriétés antioxydantes d'extraits méthanoliques de certaines plantes poussant à l'état sauvage en Turquie parmi eux *Taxus baccata* par divers tests d'antioxydants notamment le test DPPH. L'activité anti-radicalaire des extraits de fruits (0.503) a été jugée plus élevée que celle des extraits de feuilles (0.289). En général, parmi les plantes testées les extraits de fruits et de feuilles de l'espèce *Taxus baccata* ont montré les plus faibles effets de piégeage des radicaux DPPH.

Tableau 9. Valeurs DPPH des extraits de *Taxus baccata* (Serteser et al.2009).

Organe testé	Extrait	CE ₅₀	AE
Feuilles	Eau-méthanol	3,456	0,289
Fruits		1.986	0,503

A la suite de ces résultats rapportés par diverses études on peut déduire que le DPPH est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. L'activité antioxydante de différents extraits s'exprime en pourcentage d'inhibition et en termes de valeurs IC₅₀ (µg / ml), Ce dernier est considérée comme un paramètre d'efficacité anti-radicalaire. Elle exprime la quantité d'antioxydants requise pour diminuer la concentration de DPPH de 50 %. Il est à noter que l'IC₅₀ le plus petit évalue le mieux d'activité antioxydante d'un composé.

L'activité antioxydant est liée à la présence de métabolites secondaires et d'autres molécules bioactives. Les résultats de ces études suggèrent que les extraits des feuilles de

Taxus baccata possèdent une puissante activité antioxydante, ce qui pourrait être utile pour prévenir ou ralentir la progression de diverses maladies liées au stress oxydatif.

Selon la littérature, l'activité antioxydante de *Taxus baccata* a été étudiée par plusieurs auteurs. La majorité de ces travaux viennent confirmer les résultats mentionnés ci-dessus.

1.2. Activité antimicrobienne

Une étude de Prakash et al (2018) Inde, a été conçue pour évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait de feuilles de *Taxus baccata*. L'activité antibactérienne des extraits d'acétone, aqueux et méthanolique a été déterminée in vitro contre les agents pathogènes médicalement importants tels que *Escherichia coli*, *Yersinia pestis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* suivant la méthode de diffusion en puits d'agar en utilisant différentes concentrations (25%, 50%, 75% et 100%). Les résultats ont révélé une activité antibactérienne faible à significative contre les espèces bactériennes mentionnées. L'extrait méthanol des feuilles s'est montré plus efficace contre certaines espèces bactériennes pathogènes que l'acétone et l'extrait aqueux. Le diamètre maximal de la zone d'inhibition (ZOI), (24,10 mm) a été rapporté pour l'extrait de méthanol contre *Pseudomonas aeruginosa*, tandis que pour l'extrait d'acétone, le diamètre maximal de la zone d'inhibition était de 19,33 mm contre *Listeria monocytogenes*. L'extrait aqueux a inhibé toutes les espèces bactériennes sauf *E. coli* et *B. cereus*. De plus, l'extrait de feuilles a inhibé plus efficacement les bactéries à Gram positives que les bactéries à Gram négatives.

Tableau 10. Zones d'inhibition produites par des extraits de feuilles de *Taxus baccata* (Prakash et al.2018).

Type d'extrait	Concentration en %	Diamètre maximale de la zone d'inhibition en (mm)					
		<i>E.coli</i>	<i>Y.pestic</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>B.cereus</i>	<i>L.monocytogenes</i>	<i>S.aureus</i>
Méthanol	100	18,65	16,00	24,10	18,62	19,30	22,00
Acétone		12,18	19,00	18,00	17,00	19,33	17,00
Aqueux		0,00	14,00	14,08	0,00	16,00	17,00

Tous les extraits testés de la partie foliaire de *Taxus baccata* sur les six souches bactériennes ont exprimé une inhibition sur une zone qui dépasse 12,18 mm, sauf pour l'extrait aqueux qui n'a pas exercé une activité antimicrobienne sur deux souches à savoir, *E.coli* et *B.cereus*.

De même, l'étude menée par Bernaitis et al (2013) Inde, avec des extraits éthanoliques des feuilles de *Taxus baccata* sur des souches bactériennes multi résistantes (MDR) des échantillons cliniques par la méthode de dilution sur gélose a montré un effet antimicrobien contre les souches MDR à Gram positif (CMI 200-210 µg/ml), comme elle a montré une CMI plus élevée auprès des souches MDR à Gram négatif. Les valeurs moyennes de CMI des souches MDR sont indiquées dans le tableau (11). La propriété antimicrobienne de *Taxus baccata* a montré des résultats similaires à cette étude avec différents degrés de puissance.

Tableau 11. Valeurs CMI des souches de test MDR (Bernaitis et al.2013).

MDR	<i>Taxus baccata</i> (µg / ml)
<i>Escherichia coli</i>	360
<i>Enterobacter cloacae</i>	380
<i>Enterococcus faecalis</i>	210
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	350
<i>Providencia rettgeri</i>	300
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	290
MRSA	200
<i>Acinetobacter baumannii</i>	400

La CMI pour les extraits de *T. baccata* se situe entre 210 et 400 (µg / ml) pour l'ensemble des souches étudiées.

Selon Patel et al (2009) Inde, divers extraits à savoir le n-hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, l'éthanol et l'eau, préparés à partir de feuilles de *Taxus baccata* ont été testés sur des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Aérogènes d'entérobacter*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas testostérone*, *Proteus morganii*, *Klebsiella pneumoniae* et *Listeria monocytogenes*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermis* et *Micrococcus luteus*). Le test de diffusion sur disque de gélose a été utilisé pour déterminer la sensibilité des échantillons testés, tandis que la micro dilution en puits a été utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les résultats du test de diffusion sur disque ont montré que l'extrait éthanolique empêche la croissance de l'ensemble des 13 espèces microbiennes testées, tandis que le reste des extraits ont montré une activité sélective. La valeur CMI la plus faible qui voisine 39,06 µg/ml et qui est 16 fois supérieure à celle de l'antibiotique de référence (gentamycine) a été observée avec l'acétate d'éthyle sur cinq microorganismes à

savoir *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* et *Listeria monocytogenes*. Par contre l'extrait aqueux n'était efficace que sur un seul micro-organisme à savoir *Bacillus subtilis*. Ces données confirment la fiabilité de l'activité antimicrobienne et le potentiel antimicrobien très puissant de tous les extraits organiques de la partie foliaire du *Taxus baccata*.

Cette étude constitue une base importante pour l'utilisation de divers extraits de *Taxus baccata* pour le traitement des infections associées aux micro-organismes étudiés.

D'autre part, une enquête a été menée par Savita et al (2016) pour évaluer le potentiel ethnomédecin et antibactérien des gymnospermes traditionnels en Inde. Des extraits de feuilles de plantes dans différents solvants organiques (méthanol, éthanol, chloroforme et hexane) de onze gymnospermes parmi eux *Taxus baccata* ont été testés pour leur activité antibactérienne contre cinq bactéries pathogènes (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia chrysanthemi* et *Xanthomonas phaseoli*) par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats de l'étude ont révélé que les 11 plantes de gymnospermes avaient toutes une activité antibactérienne significative à une concentration de 1000µg /ml contre les micro-organismes testés.

Afsharzadeh et al (2013), ont préparé des extraits méthanoliques à partir des feuilles mâles et femelles et fruits de onze taxons différents de conifères iraniens parmi eux *Taxus baccata*, collectés dans différentes localités d'Iran. Les extraits ont été testés pour leur activité antimicrobienne contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*. Les extraits ont été criblés qualitativement en utilisant quatre méthodes différentes, la diffusion sur disque, la plaque perforée, la diffusion de gélose cylindrique et les méthodes de dilution de gélose, tandis que les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de chaque extrait ont été déterminées par la méthode de dilution en gélose. Le meilleur résultat a été obtenu au moyen de la méthode de la plaque perforée dans la détermination qualitative des activités antimicrobiennes des extraits et la plus grande activité a été trouvée contre *S. aureus* dans toutes les méthodes testées. Les extraits au méthanol de *Taxus baccata* ont révélé que toutes les souches microbiennes étaient sensibles à l'exception de *Candida albicans* par la méthode de diffusion sur disque, *S.aureus* était le seul micro-organisme qui présentait une inhibition de la croissance. Les extraits au méthanol de *Taxus baccata* ont donné les valeurs de CMI les plus basses contre *S.aureus* (3.12 mg /ml) par rapport aux autres souches qui avaient des valeurs de CMI plutôt élevées. Ces résultats indiquent que les extraits de l'espèce *Taxus baccata* ont des propriétés antimicrobiennes intéressantes, ils peuvent inhiber la croissance des bactéries de Gram positifs et gram négatifs.

Tableau 12. CMI (mg /ml) des extraits de méthanol de différentes parties de *Taxus baccata* (Afsharzadeh et al.2013).

Partie utilisée	CMI (mg/mL)			
	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
Feuille pied mâle	25	6,25	12,5	3,12
Feuille pied femelle	50	12,5	12,5	3.12

Il est à signaler que les extraits des feuilles des sujets mâles ont présenté une CMI plus faible par rapport aux feuilles des sujets femelles sur certaines souches bactériennes testées, alors que pour d'autres souches, les deux extraits ont donné les mêmes conclusions (tableau12).

La comparaison des moyennes des pourcentages d'inhibition confirmées par (Prakash et al 2018. Milutinović et al 2015 et Karafakioğlu 2019) a montré que tous les extraits de *Taxus baccata* possèdent un pouvoir antioxydant puissants. Ils dépendent de la région, du cultivar, de la partie végétale et du solvant utilisés pour l'extraction, la méthode d'évaluation, ainsi que des propriétés chimiques des substances actives présentes dans les extraits. On peut dire que les effets de piégeage des radicaux DPPH les plus élevés ont été déterminés dans les extraits de feuilles de *Taxus baccata* avec des valeurs significatives très proches à celles des substances standards.

On ce qui concerne le pouvoir antibactérien, divers extraits des feuilles de *Taxus baccata* vis –à-vis des souches bactériens par divers méthodes a donné des résultats similaires entre les ces études, avec des degrés de puissance variables. Cette assertion est confirmée par les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et les zones d'inhibition produites par divers extraits de *Taxus baccata*. La différence de puissance peut être due au stade de collecte de l'échantillon de plante, à la sensibilité différente des souches à tester et à la méthode d'extraction ainsi qu'au sexe de la plante. En outre, les résultats obtenus par Prakash et al (2018), Bernaitis et al (2013) et Afsharzadeh al (2012), ont montré que l'extrait des feuilles de *Taxus baccata* a inhibé plus efficacement les bactéries Gram positives que les bactéries Gram négatives.

Il est également intéressant de noter que l'utilisation de solvants modérément polaires permet une extraction très efficace des composés phénoliques, et une activité antioxydante et antimicrobienne élevée dans le produit obtenu.

Ces études suggèrent que les extraits des feuilles de *Taxus baccata* possèdent une puissante activité antibactérienne et antioxydante ce qui pourrait être utile pour prévenir ou ralentir la progression de diverses maladies liées au stress bactérien et oxydatif. La forte activité antioxydante et antimicrobienne de cette plante peut être due à la présence d'une grande teneur en phénols et en flavonoïdes dans les feuilles. Selon Milutinović et al (2015), les concentrations de phénols allaient de 33,38 à 210,01 mg /g et les concentrations de flavonoïdes variaient de 5,88 à 161,98mg/g.

Karafakioğlu (2019), a également signalé la quantité totale de contenu phénolique qui s'est avérée être de 14,76 mg EAG /g d'échantillon sec, la quantité maximale de flavonoïdes était de $0,468 \pm$ mg EQ / g d'échantillon sec.



Conclusion

Conclusion

L'activité biologique a été entreprise dans cette étude dans le but d'évaluer le pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits éthanoliques des parties aériennes de *Taxus baccata* (If commun) qui est un conifère, sans résine et sans cônes, toxique mais réputé par son statut de plante médicinale.

L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir un rendement en extrait éthanolique d'environ 13,9% pour les aiguilles (feuilles) et 9,6% pour les tiges (rameaux).

Comme il a été constaté que le pourcentage d'inhibition de l'activité de piégeage des radicaux DPPH d'extraits de feuilles de *Taxus baccata* a été déterminé à 93,21%, voisinant le pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique 96,82, qui est un puissant antioxydant, utilisé comme standard ou référence. Cela indique que la partie foliaire de l'espèce a une activité antioxydante plus forte que le fruit et les branches.

L'évaluation de l'activité antiradicalaire de la partie foliaire de cette espèce à travers une gamme de concentrations (20-100 µg / ml) a révélé que cette activité augmente en générale avec l'augmentation de la concentration des extraits. Sur d'autres essais, le pourcentage de piégeage du DPPH le plus élevé (78,40%) a été obtenu avec la concentration de (100 µg / ml), en comparaison avec le pourcentage de l'acide ascorbique utilisé (83,26%). Alors que le IC₅₀ le plus faible a été atteint avec la concentration de (62,27 µg / ml). Dans tous les cas, les extraits des solvants organiques (méthanol, acétone) ont montré des activités antioxydantes qui dépassent largement celles obtenues via d'autres extraits et particulièrement aqueux qui a indiqué une activité très faible.

Cependant, l'examen des extraits de différents organes de la partie aérienne de cette espèce, à savoir, feuilles, branches, cônes et graines a révélé des activités antiradicalaires fortes. Tous les extraits d'origine foliaires ont exprimé une propriété antioxydante très importante par rapport aux autres parties étudiées, et particulièrement l'extrait d'acétone qui a indiqué un IC₅₀ (25,24±1,27). Les résultats de ces études suggèrent que les feuilles et les cônes de graines de *Taxus baccata* sont une source potentielle de substances antioxydantes naturelles.

La majorité des études ont annoncé que les extraits de méthanol et de cétone des feuilles de *Taxus baccata* se révèlent avec une activité antioxydante élevée puisqu'ils ont montré une très forte activité antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH légèrement inférieur à celle de l'acide ascorbique, ce qui pourrait être utile pour prévenir ou ralentir la progression de diverses maladies liées au stress oxydatif.

Les études qui étaient conçues pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Taxus baccata* en utilisant différentes concentrations à travers les différentes techniques testées sur certains agents pathogènes médicalement importants et contre des souches bactériennes multi résistantes (MDR) ont révélé que la valeur CMI la plus faible pour les extraits de *T. baccata* voisine 39,06 µg/ml. Elle est 16 fois supérieure à celle de l'antibiotique de référence (gentamycine), elle a été observée avec l'acétate d'éthyle sur cinq microorganismes. La plus grande activité a été trouvée contre *S. aureus* dans toutes les méthodes testées. Par contre la levure *Candida albicans* a manifesté une résistance vis-à-vis les extraits méthanolique de la plante testée.

Les extraits testés de la partie foliaire de *T. baccata* sur les souches bactériennes ont exprimé une inhibition sur une zone qui dépasse 12,18 mm, sauf pour l'extrait aqueux qui n'a pas exercé une activité antimicrobienne sur deux souches seulement. Cependant, les extraits éthanoliques ont exprimé un effet antimicrobien contre les souches MDR à Gram positif (CMI 200-210 µg/ml), comme ils ont montré une CMI plus élevée auprès des souches MDR à Gram négatif.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait des feuilles de *Taxus baccata* a inhibé plus efficacement les bactéries Gram positives que les bactéries Gram négatives. Cette activité antimicrobienne de l'espèce dépend de la région de la plante et de son sexe, de la période de prélèvement de la partie végétale et du solvant utilisés pour l'extraction, la méthode d'évaluation, ainsi que des propriétés chimiques des substances actives présentes dans les extraits.

Il est également intéressant de noter que l'utilisation de solvants modérément polaires permet une extraction très efficace des composés phénoliques, et une activité antioxydante et antimicrobienne élevée dans le produit obtenu.

Ces études suggèrent que les extraits des feuilles de *Taxus baccata* possèdent une puissante activité antibactérienne et antioxydante, ce qui pourrait être utile pour prévenir ou ralentir la progression de diverses maladies liées au stress bactérien et oxydatif. La forte activité antioxydante et antimicrobienne de cette plante peut être due à la présence d'une grande teneur en phénols et en flavonoïdes dans les feuilles.

Ces résultats ne constituent qu'une petite partie dans le domaine de la recherche des antioxydants et des antibactériens naturels. Il serait donc judicieux de poursuivre ce travail par l'identification et l'isolement des principes actifs responsables de cette activités et leur évaluation biologique par des tests in vivo sur des modèles animaux ainsi que la détermination de leur toxicité ou leur innocuité éventuelles, en préalable à leur évaluation clinique.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Abassi L., Touil H. 2019.** Contribution à l'étude phytochimique de feuilles de *pergularia tomenstosa L. dans la region d'ELOUED*. Mémoire de Master. Université Echahid Lakhder *EL-OUED* .Algérie.
2. **Abdelli W. 2017.** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis. Mostaganem. Algérie.
3. **Afsharzadeh M., Mahboobe N., Tayarani NZ., Barzin M., Seyed AEC.2013.** In-vitro antimicrobial activities of some Iranian conifers .Journal of Pharmaceutical.12 (1): 63-74.
4. **Agbossou K., Boroze TTE., Ouro-Djobo S., Djeteli G., Napo K. 2013.** Etude de l'adaptabilité des dispositifs de séchage à leur contexte et au besoin des utilisateurs au Togo. Rev. Ivoir. Sci. Technol.21(22) :1-18.
5. **Allane T .2009 .** Etude des pouvoirs antioxydant et antibactérien de quelques espèces végétales locales alimentaires et non alimentaires. Mémoire de Magister. Université M'hamed Bougara Boumerdes. Algérie.
6. **Asadi S., Ahmadiani A., Esmaeili MA., Sonboli A., Ansari N., Hodaghali F., 2010.** In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: a comparative study. Food Chem Toxicol. 48(5):1341-9.
7. **Assif M., Rizwani GH., Zahid H., Zahid K., Rao Q.2016.** Pharmacognostic studies on *Taxus baccata L.*: A brilliant source of anti-cancer agents. Journal of pharmaceutical .29(1).105-109.
8. **Aurousseau B .2002.** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA. Production Animale. 15 (1):67-82.
9. **Bélaïr S.1995.** Isolement de nouveaux *Taxanes* et biosynthèse du *Taxol* .Mémoire présenté à l'institut Armand-Frappier comme exigence partielle de la maîtrise en microbiologie appliquée. Université du Quebec. Canada.
10. **Bernaitis L., Shobha K., Ashok M., Revathi P., Shenoy., Mathew J., Diwan M Khan. 2013.** Comparative evaluation of the antimicrobial activity of ethanol extract of *Taxus baccata*, *Phyllanthus debilis*, *Plectranthus amboinicus* against multi drug resistant bacteria drug. Journal of pharmaceutical sciences and reserch.4 (8): 3147-3150.
11. **Blount ZD.2015.**The unexhausted potensiel of *E.coli*.Elife.4.

12. **Bouamar S.2019.** Activités biologiques des caroténoïdes et des poly phénols de la courge (*Cucurbita moschatad*).Thèse de Doctorat. Université Abd El Hamid Ibn Badis Mostaganem. Algérie.
13. **Boudjouref M .2011** .Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Diplôme de Magister .Université Ferhat Abbas. Sétif. Algérie.
14. **Bouhairi S.2017.***Bcillus subtilis*: Caractères et applications. Thèse de doctorat. Université Mohamed v de Rabat. Maroc.
15. **Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A., Igc R.2008.** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., *Alliaceae*). Food Chemistry. 111: 925-929.
16. **Braz I., Hanchour MF. 2018.** Etude phytochimique et activité antibactérienne de quatre plantes sahariennes (*Artemisa herba helba*, *Haloxylon scoparium*, *Peganum harmala* et *Zygophyllum album*). Mémoire de Master. Université Abdel Hamid Ibn Badis. Mostaganem. Algérie.
17. **Cadel-Six S., De Buyser ML., Vignaud M., Dao TT., Messio S., Pairaud S., Hennekine JA., Pihier N., Brisabois A.2012.** Toxi-infections alimentaires collectives' à *Bacillus cereus*:billan de la caractérisation des souches de 2006 à 2010.Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de sécurité des aliments de Maison-Alfort, Unité caractérisation des toxiques, Maison-Alfort.France.
18. **Chenni M., El Abed D.2017.** Processes for extracting bioactive products (Procédés d'extraction des produits bioactifs). Phytochem & Biosub Journal. 11(1) : 2-32.
19. **Chenni M.2016.**Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "*Ocimum Basilicum* L" extraite par Hydro-distillation et par Micro-ondes. Thèse de Doctorat. Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella .Algérie.
20. **Delahunty JL.2002.** Religion, war, and changing landscapes: an historical and ecological account of the yew tree (*Taxus baccata* L.) In Ireland. Thèse de doctorat, University of Florida. États –Unis.
21. **El kalamouni C .2010.**Caractérisation chimique et bio-organiques d'extraits de plantes aromatiques. Thèse de Doctorat en sciences des agro ressources. Université de Toulouse. France.
22. **Ela MA., El-Shaer NS., Ghanem NB. 1996.** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and tixed olls. Pharmazie. 51.993-995.

23. **Fedala G.2015.**Evaluation de l'activité antioxydante des extraits des plantes : *Urtica dioica*, *Urtica pilulifera* et *Globularia alypum* L.Mémoire de Master. Université Abderrahmane MIRA .Bejaia. Algérie.
24. **Feknous S., Saidi F., Ramdhane MS. 2014.** Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). Nature & Technologie.11 :7-13.
25. **Fetahh A .2019.** Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydant - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. Sous espèce *Thymoides* de la region Beni Souik, Biskra. Thèse de Doctorat. Université Mohamed Khider .Biskra. Algérie.
26. **Gachkar L., Yadegari D., Rezaei MB ., Taghizadeh M., Astaneh SA., Rasooli I. 2007.** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chemistry. 102 (3):898-904.
27. **Giovanni C.2018.** Distribution map of *Taxus baccata* (European yew). (<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.5117440>)
28. **Gobbi R., Khebbaz W.2014.**Traçabilité de l'identification des métabolites secondaires végétaux. Mémoire de Licence. Université Kasdi Merbah. Ouargla. Algérie.
29. **Grema HA.,Geidam YA., Gadzama GB., Ahmed JA., Suleiman A.2015.**Méthicillin Resistant staphylococcus aureus (MRSA).Advanced in Animal and Veterinary Sciences.3(2):79-89.
30. **Guechoud I.2016.** Cartographie et structure de *Taxus baccata* a Chréa en relation avec la structure de l'espèce dominante (cèdre de l'atlas).Mémoire de Magistère. Université Mouloud Mammeri .Tizi-Ouzou. Algérie.
31. **Hechifa D., Merad K.2016.** Caractérisation phénolique et mesure des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes médicinales dans le Sahara Septentrional Algérien. Mémoire de Master. Université Echahid Hamma Lakhder .El OUED. Algérie.
32. **Karafakioğlu YH. 2019.** Biological activity determination in leaf, branch and fruit of methanol extract of (*Taxus baccata* L.) speices collected from Usak Provine. Journal of agriculture-Food Science and Technology. 7 (10): 1533-1537.
33. **Khelifi Z., Medjani F .2018 .**Evaluation des activités biologiques des extraits d'une plante Algérienne appartenant au genre *Thymus*. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. Mémoire de Master .Algérie.

34. **Kohen R., Nyska A. 2002.** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologie Pathologie*.30(6):620-650.
35. **Kucukboyaci N., Bilge S .2010.** Biological activities of lignans from *Taxus baccata* L. growing in Turkey. *Journal of medicinal plants research*. 4(12).1136-1140.
36. **Martin L., Thiebault S. 2010.** L'if (*Taxus baccata* L.) : Histoire et usage d'un arbre durant la préhistoire récente. L'exemple du domaine alpin et circum-alpin. *Anthropobotanica*.1.20.
37. **Mbata TI., Debiao L., Saikia A.2006.** Antibacterial activity of the crude extract of Chinese green tea (*Camellia sinensis*) .*Journal of Biotechnology*. 7 (10). 1571-1573.
38. **Méar JB.,Kipnis E., Faure E., Dessin R., Schurtz., Faure K., Guery B.2013.***Candida albicans* and *pseudomonas aeruginosa* interactions:More than anopportunistic crimitical association. *Médecines et maladies infectieuses*.43:146-151.
39. **Migdal C., Serres M .2011.** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/sciences* .27(4) : 405-412.
40. **Mighri H., Hajlaoui H., Akrouit A., Najjaa H., Neffati M. 2010.** Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone.
41. **Milutinović MG., Stanković MS., Cvetković DM., Topuzović MD., Mihailović VB., Marković SD.2015.** Antioxidant and anticancer properties of leaves and seed cones from European yew (*Taxus baccata* L.).*Cambre. Biol. Sci*.67 (2):525-534.
42. **Mirad B., Badis A.2019.** Activité antioxydant et antibactérienne des extraits des feuilles d'Olivier sauvages et cultivés. Mémoire de Master. Université Akli Mohand Oulhadj. Bouira. Algérie.
43. **Mohammedi Z.2004** .Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelque plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen. Algérie.
44. **Molyneux P. 2003.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*.26 (2): 211-219.
45. **Patel Pk., Patel MA. Chautea BS .2009.** Antimicrobial activity of various extracts from the leaves of *Taxus baccata* linn. (taxaceae) *Pharmacologyonline*. 2: 217-224 (2009)hna segemetha kont ralra
46. **Penchev PI .2010.**Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, Thèse de Doctorat. Université Toulouse. France.

47. **Vallata .P.2009.**Interet pharmaceutique du genre *Taxus* et des *Taxanes* ; culture in vitro et dosage. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Henri Poincaré .Nancy1.France.
48. **Piochon M .2008.** Etude des huiles essentielles d'espèce végétale de la *Fiore laurentinne* : composition chimique activités pharmacologique et hémi-synthèse. Mémoire de Magistère .Université Du Quebec A Chicoutimi .Canada.
49. **Portes E.2008.** Synthèse et études de Tétrahydrocurcuminoïdes. Propriétés photochimiques et antioxydants, applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle. Thèse de Doctorat. Université Bordeaux I. France.
50. **Prakash V., Shelly R., Anand S .2018.** Analysis of antibacterial and antioxidant activity of *Taxus baccata* linn. Journal of medicinal plants studies .6(5): 40-44.
51. **Presutti S E. 2013.** Monitoraggio e gestione di faggete con tasso (*Taxus baccata* L.) Nell'appennino centrale. Thèse de doctorat .Université Degli Studi Della Tuscia. Italie.
52. **Sahabi B.2009.**Etudes phytochimiques et potentialités biologiques de cinq espèces d'*Indigofera* (*Fabaceae*) utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso. Thèse de Doctorat. Université d'Ouagadougou.
53. **Saidi I.2019.**Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae : *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives. Thèse de doctorat. Université Djillali Liabès Sidi Bel Abbés. Algérie.
54. **Savita J, S C Sati, Parikshit K .2016.**Antibacterial potential and ethnomedical relevance of Kumaun Himalayan Gymnosperms .Journal of Phytopharmacology .5(5): 190-200.
55. **Schuster E., Dunncoleman N., Frisvad JC., Vandijck PWM. 2002.**On the safety of *aspergillus niger* .appl. microbiol. Biotechnol.59.426-435.
56. **Seggani Z., Boukhil H. 2017.**Corrélation entre le contenu polyphénolique et l'activité antioxydante et antimicrobienne in vitro de *Curcuma longa* L .Mémoire de Master. Université des frères Mantouri. Constantine. Algérie.
57. **Serteser A., Kargioğlu M., Gök V., Bağcı Y., Musa Özcan M., Arslan D .2009.** Antioxidant properties of certain plants growing in the wild in Turkey. Grasas Y Aceites.60 (2) :147-154.
58. **Shah AS., Qaisar KN., Rather MA. 2017.** Estimated significance of biochemical constituents in seeds and pods reliable criteria for judging maturity of *Gleditsia triacanthos* variety inermis. Journal of pharmacognosy and phytochemistry .6(4).1719-1724.
59. **Smallfield B. 2001.** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop and Food Research. 45:1-4.

60. **Svoboda KP., Hampson JB. 1999.** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Ed: Plant Biology Department.
61. **Tekwu EM., Pieme AC., Beng VP. 2012.** Investigations of antimicrobial activity of some Cameroonian medicinal plant extracts against bacteria and yeast with gastrointestinal relevance. *Journal of Ethnopharmacology*. 142(1) 265-273.
62. **Thi Kieu Tiên DO. 2016.** Evaluation des performances de la chromatographie sur couche mince haute performance (HPTLC) dans l'analyse (qualitative et quantitative) des métabolites secondaires dans les extraits naturels. Thèse de Doctorat. Université Nice-Sophia Antipolis UFR Sciences. France.
63. **Thibaut B. 2017.** les maladies neurodégénératives. Planet-vie : santé.
64. **Thomas P A., Polwart A. 2003.** *Taxus baccata* L. *Journal of Ecology*. 91:489-524.
65. **Tongnuanchan P., Benjakul S. 2014.** Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of Food Science*. 79(7).1231-1249.
66. **Valko M., Rhodes C J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160:1-40.
67. **Vessella F., Salis A., Scirè M., Piovesan G., Schirone B. 2015.** Natural regeneration and gender-specific spatial pattern of *Taxus baccata* in an old-growth population in foresta umbra (Italy). *Dendrobiology*. 73:75-90.
68. **Wang L., Weller CL. 2006.** Recent Advances in Extraction of Nutraceuticals from Plants. *Trends In Food Science & Technology*. 17(6). 300-312.
69. **Wang SY., Wu JH ., Shyur LF., Kuo YH., Chang ST. 2002.** Antioxydant activity of Abietane-type Diterpenes from heartwood of *Taiwania cryptomerioides* Hayata. *Holzforschung*. 56(5): 487-492.
70. https://viagallica.com/v/if_commun.htm.
71. <https://www.centreatipoisons.be/nature/plantes/les-plantes-toxiques/if-taxus>.
72. <https://www.societechimiquedefrance.fr/Taxol.html>.
73. www.collect-if.com.