

Évaluation de la teneur des composés phénoliques, des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l'espèce *Erica arborea* L. (Ericaceae) dans la médecine traditionnelle du Tell sétifien dans l'Est Algérien

Evaluation of the Content of Phenolic Compounds, Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Erica arborea* L. (Ericaceae) in Traditional Medicine of Setifian Tell in the East Algerian

K. Yaici · S. Dahamna · I. Moualek · H. Belhadj · K. Houali

© Lavoisier SAS 2019

Résumé Les sommités florales d'*Erica arborea* L. sont largement utilisées sous forme d'infusion en médecine traditionnelle et sont recommandées dans le Tell sétifien pour traiter et prévenir les infections urinaires aiguës et chroniques principalement. Nous avons soumis les extraits aqueux des feuilles et des fleurs à un dosage des polyphénols, des flavonoïdes et à la détermination des activités antioxydante et antimicrobienne. Les teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes totaux ont montré une corrélation avec les activités antioxydantes évaluées. Les tests antioxydants utilisés (DPPH, FRAP, CAT, blanchiment du β -carotène et piégeage du radical hydroxyle) ont montré que le test du DPPH a donné la meilleure activité radicalaire. En outre, l'extrait des feuilles s'est mieux exprimé dans les tests du DPPH, du FRAP et du β -carotène. Les tests de la CAT et le radical hydroxyle ont par contre révélé une activité antioxydante plus importante pour l'extrait de fleurs. Pour l'activité antimicrobienne, on a utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé en ayant recours à la méthode des puits. Les deux extraits ont montré une activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus subtilis* CLAM20302,

Bacillus cereus CLAMH300. L'extrait des feuilles a été plus actif avec une valeur variant de 15 à 23 mm comparé à celui des fleurs (17–18,5 mm). Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice ont été trouvées dans une gamme variant de 6,25 à 25 mg/ml pour les extraits des feuilles et des fleurs respectivement. Les résultats de l'étude peuvent enrichir les données existantes et montrent que les feuilles et les fleurs d'*Erica arborea* L. constituent une source d'agents antioxydants et antibactériens.

Mots clés *Erica arborea* L. · Polyphénols · Flavonoïdes · Activité antioxydante · Activité antimicrobienne · Médecine traditionnelle

Abstract Flower heads of *Erica arborea* L. are widely used as an infusion in traditional medicine and are recommended in the Setifian Tell to treat and prevent mainly acute or chronic urinary infections. In order to validate these therapeutic indications, we submitted the aqueous extracts of leaves and flowers of the species *Erica arborea* L., to assays of polyphenols, flavonoids and both of antioxidant and antimicrobial activities evaluations. Levels of phenolic compounds and total flavonoids are correlated with the antioxidant activities evaluated. The antioxidant tests used (DPPH, FRAP, CAT, β -carotene bleaching and trapping of the hydroxyl radical) showed that the DPPH test revealed the best radical activity. In addition, the leaf extract was better expressed in the DPPH, FRAP and β -carotene tests. On the other hand, the CAT and hydroxyl radical assays showed a greater antioxidant activity for the flower extract. For antimicrobial activity, the agar diffusion method was used using the well method. Both extracts showed antimicrobial activity against gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus subtilis* CLAM20302, *Bacillus cereus* CLAMH300. The leaf

K. Yaici (✉) · S. Dahamna
Laboratoire de phytothérapie appliquée aux maladies chroniques,
faculté des sciences de la nature et de la vie,
université Sétif-I, Sétif 19000, Algérie
e-mail : kyaici@yahoo.fr

I. Moualek · K. Houali
Laboratoire de biochimie analytique et biotechnologie (LABAB),
faculté des sciences biologiques et agronomiques,
université Mouloud-Mammeri, Tizi Ouzou 15000, Algérie

H. Belhadj
Laboratoire de microbiologie appliquée,
faculté des sciences de la nature et de la vie,
université Sétif-I, Sétif 19000, Algérie

extract was more active with a range of 15–23 mm compared to flowers (17–18.5 mm). MIC values were found in a range of 6.25 mg/ml to 25 mg/ml for leaf and flower extracts, respectively. The results of the study can enrich existing data and support the fact that the leaves and flowers of *Erica arborea* L. are a source of antioxidants and antibacterial.

Keywords *Erica arborea* L. · Polyphenol · Flavonoid · Antioxidant activity · Antimicrobial activity · Traditional medicine

Introduction

Les plantes de la famille des Ericaceae constituent une importante source de phytomédicaments. Les espèces de cette famille ont maintes fois été signalées pour leurs composés bioactifs, sources naturelles d'antioxydants largement utilisés par l'homme pour la prévention des maladies chroniques et infectieuses, en réduisant le stress oxydatif [1,2]. Notre choix a porté sur l'espèce *Erica arborea* L. sur la base d'une enquête ethnopharmacologique réalisée dans la région du Tell sétifien dans l'Est Algérien, qui place cette plante en bonne position dans l'arsenal thérapeutique en Algérie. Cette espèce constitue, par endroits, l'essentiel de la couverture végétale de la flore arbustive de la région de récolte, la forêt de Tamentout. Elle pousse notamment avec le chêne-liège et le chêne zen dans le site de récolte comme dans toutes les forêts sclérophylles algériennes du pourtour méditerranéen. Son aire de répartition s'étend de l'Afrique du Nord à l'ouest et au nord de la Méditerranée en Europe puis l'Afrique du Sud, l'Afrique centrale, pour arriver jusqu'en Asie [3].

Le genre *Erica* est un représentant typique de la famille des Ericaceae qui compte environ 700 espèces à travers le monde. Ces plantes à fleurs sont le plus souvent des arbrisseaux ou des arbustes et partagent avec quelques autres genres proches le nom commun de bruyères. En Algérie, les espèces du genre *Erica* sont représentées par quatre taxons (*Erica arborea*, *Erica multiflora*, *Erica cinerea*, *Erica scoparia*). L'espèce *Erica arborea* L., communément appelée lande arbustive, est un arbuste ou un petit arbre atteignant 1 à 4 m de hauteur. Il produit des feuilles persistantes de couleur blanche sous forme de cloches. Cette espèce est très répandue en Algérie et est reconnue sous le nom de *Khelndj* dans le Tell sétifien. Les sommités florales sont largement utilisées sous forme d'infusion en médecine traditionnelle et sont recommandées en Algérie pour traiter et prévenir les infections urinaires aiguës ou chroniques principalement. Dans les autres régions du monde, ce genre est connu pour ces vertus anti-inflammatoires, antinociceptives, astringentes, diurétiques, dépuratives et antirhumatismaux. Elle est

également utilisée pour prévenir les maladies cardiaques [4], traiter les problèmes de prostate, de rein et de vessie [5], et soigner les plaies et les morsures de serpents [6,7]. Il a été rapporté également que c'est un bon antiulcéreux, antimicrobien et antidiarrhéique [7–9].

Dans ce travail, nous nous sommes fixé comme objectif d'évaluer les extraits de cultivars locaux du Tell sétifien par le dosage des polyphénols totaux et la teneur des flavonoïdes en utilisant des méthodes spectrophotométriques ; les effets antioxydants des extraits aqueux des feuilles et des fleurs par les tests de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), FRAP, CAT, blanchiment de β -carotène et piégeage du radical hydroxyle ainsi que leurs effets antimicrobiens.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal a été récolté dans la forêt de Tamentout située dans la région de Beni-Aziz (Est Algérien) en mai 2013, période de floraison de l'espèce *Erica arborea* L. L'identification a été confirmée par Boulaacheb (botaniste au département de pharmacie de l'université de Sétif). Des spécimens de référence ont été déposés dans un herbier au laboratoire de phytothérapie appliquée aux maladies chroniques de la faculté des sciences naturelles de l'université de Sétif. Les fleurs et les feuilles ont été séparées puis séchées à l'ombre et enfin broyées en une poudre fine.

Préparation des extraits

Les préparations des extraits aqueux des feuilles et des fleurs sont réalisées selon la méthode de Markham [10]. Les extraits aqueux destinés aux activités antioxydante et antimicrobienne sont soumis à une macération à partir de 20 g de poudre dans 200 ml d'eau distillée. Le mélange est chauffé à 90 °C pendant 15 minutes puis agité (700 rpm) et enfin filtré et soumis à une évaporation rotative à 45 °C. Après macération, le filtrat a été lyophilisé.

Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques des extraits aqueux des feuilles et des fleurs est déterminée selon la méthode spectrophotométrique au Folin-Ciocalteu [11]. On a mélangé 200 ml d'extrait (40 mg/ml) avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois) et 800 ml de carbonate de sodium (75 mg/ml). Ce mélange est incubé pendant 45 minutes à température ambiante, et l'absorbance est mesurée par rapport à un blanc à 760 nm. La même procédure est répétée pour la solution standard de l'acide gallique afin de réaliser

la courbe étalon. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent acide gallique par gramme (EAG/g) d'extrait.

Teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes sont quantifiés selon la méthode spectrophotométrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) [12]. On mélange 1 ml de l'extrait de plante avec le même volume d'une solution méthanolique contenant 2 % de trichlorure d'aluminium. Après une incubation de dix minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 430 nm. Une courbe standard est établie avec la quercétine, les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine (EQ/mg) par gramme d'extrait.

Évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante est évaluée par cinq méthodes in vitro, à savoir DPPH, FRAP, CAT, blanchiment de β -carotène et le piégeage du radical hydroxyle.

Détermination du DPPH

Le principe de ce test se résume en la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH de couleur violet foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie [13].

La méthode adoptée est celle décrite par Sharma et Bhat et Santos et al [14,15]. Un total de 250 ml de DPPH à 0,8 mmol/l dans de l'éthanol est mélangé à 3,75 ml de l'extrait. La réaction est effectuée en triple, et la lecture se fait par la mesure de l'absorbance à 517 nm. Les résultats sont exprimés en activité antiradicalaire ou en inhibition des radicaux libres en pourcentage (I %) en utilisant la formule suivante :

$$I \% = [1 - (\text{Abs Échantillon} - \text{Abs Contrôle négatif})] \times 100$$

Où : I % : pourcentage de l'activité antiradicalaire (AAR %);

Abs Échantillon : absorbance de l'échantillon ;

Abs Contrôle négatif : absorbance du contrôle négatif.

Détermination du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)

La technique consiste à mesurer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) [16].

Le pouvoir réducteur est déterminé par la méthode décrite par Oyaizu et Hazra et al. [16,17]. Différentes concentrations de l'extrait sont mélangées à 1,25 ml de tampon phosphate de sodium à 0,2 mol/l, pH 6,6 et à 1,25 ml de ferricyanure de potassium (1 %). Le mélange est incubé à 50 °C pendant 20 minutes. Après incubation, le mélange réactionnel est aci-

difié avec 1,25 ml d'acide trichloroacétique (10 %) et centrifugé à 3 000 tr/min pendant dix minutes. À la fin, 0,5 ml de FeCl_3 fraîchement préparé à 0,1 % est ajouté à cette solution, et l'absorbance est mesurée à 700 nm. L'acide ascorbique à différentes concentrations est utilisé comme standard.

Détermination de la capacité antioxydante totale

Cette technique est fondée sur la réduction du molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} en molybdène Mo (V) MoO^{2+} , en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/Mo(V) à pH acide. La capacité antioxydante totale (CAT) est estimée par dosage du phosphomolybdène selon la méthode décrite par Prieto et al. et Rao et al. [18,19], en mélangeant dans des tubes contenant l'extrait et la solution du réactif (acide sulfurique à 0,6 mol/l, phosphate de sodium à 28 mmol/l et molybdate d'ammonium à 4 mmol/l). Les tubes sont incubés à 90 °C pendant 90 minutes, ensuite, la solution est refroidie à la température ambiante, et l'absorbance est mesurée à 695 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme standard.

Détermination du blanchiment du β -carotène

Le niveau d'hydroxytoluène butylé (BHT) est mesuré selon la méthode publiée par Aslan et al. et Dawidowicz et Olszowy [20,21]. On prépare une émulsion dans un ballon de 50 ml composé de 1 ml de chloroforme, 0,5 mg de β -carotène, 25 ml d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Le chloroforme est complètement évaporé en utilisant un évaporateur sous vide à 40 °C pendant dix minutes. Après évaporation, le mélange est dilué dans 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène. La solution mère éthanolique de l'extrait contenant 350 μl a été mélangée à 2,5 ml de l'émulsion. Différentes concentrations correspondant à 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 et 1,0 mg/ml sont utilisées pour évaluer l'émulsion obtenue. La même procédure est répétée avec le témoin positif BHT. L'absorbance des mélanges est mesurée à 470 nm immédiatement après leur préparation (à $t = 0$ minute) et au temps d'incubation $t = 120$ minutes contre le blanc. Le pourcentage d'inhibition est calculé avec l'équation suivante :

$$\text{Inhibition \%} = [(A_{a120} - A_{c120}) / (A_{c0} - A_{c120})] \times 100$$

Où, A_{a120} est l'absorbance de l'antioxydant à $t = 120$ minutes, A_{c120} est l'absorbance du contrôle à $t = 120$ minutes et A_{c0} est l'absorbance du contrôle à $t = 0$ minute.

Piégeage du radical hydroxyle

L'activité du piégeage du radical hydroxyle de l'extrait est mesurée selon la méthode de Rajamanikandan et al. [22]. Trois millilitres de la solution réactionnelle contenant des

fractions aliquotes (500 µl) de différentes concentrations de l'extrait auxquelles on a rajouté 1 ml de FeSO₄ (1,5 mmol/l), 0,7 ml de peroxyde d'hydrogène (6 mmol/l) et 0,3 ml de salicylate de sodium (20 mmol/l) sont incubés pendant une heure à 37 °C. L'acide ascorbique est utilisé comme standard. Le développement de la couleur est mesuré à 560 nm par rapport à un blanc.

Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des extraits est déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé en utilisant la méthode des puits.

Souches microbiennes

Six souches microbiennes sont testées, il s'agit de : *Bacillus subtilis* CLAM20302, *Bacillus cereus* CLAMH300, *Streptococcus sp.*, *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et deux champignons, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*.

Protocole expérimental

La méthode consiste à transférer des colonies bien isolées des souches microbiennes dans des tubes contenant du bouillon nutritif, afin d'avoir des suspensions bactériennes, les tubes sont incubés à 37 °C pendant 18 heures. Des boîtes de Pétrie contenant la gélose Mueller-Hinton sont ensemencées à partir des suspensions microbiennes après ajustement de la turbidité de l'inoculum (DO 600 nm = 0,1). Sur chaque boîte, on réalise trois puits (06 mm de diamètre) dont le premier et le deuxième correspondent aux extraits de la plante (feuille et fleur) et le troisième au témoin positif (céfotaxime). Chaque puits recevra 40 µl d'extrait aqueux des feuilles et des fleurs, ces derniers ont été solubilisés dans de l'eau distillée (témoin négatif). Les boîtes ont été incubées 24 heures à 37 °C pour les bactéries et de trois à cinq jours à 28 °C pour les champignons. L'action inhibitrice s'est manifestée par la formation d'une auréole autour des puits, et la lecture des résultats est effectuée par mesure des diamètres des zones d'inhibition.

Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la concentration la plus faible de l'extrait qui inhibe la croissance des bactéries. Elle est déterminée par la méthode standardisée de microdilution en milieu liquide, réalisée sur microplaques contenant le bouillon Mueller-Hinton. Les dilutions d'échantillons sont distribuées dans les puits de la microplaque en partant d'une concentration mère d'extrait de 100 mg/ml à la plus faible (dilutions binaires). Les microplaques sont ensuite incubées 24 heures à 37 °C en aérobiose. La lecture de la CMI consiste à voir la concentration du premier puits dans lequel il n'y a plus de trouble bactérien.

Résultats et discussion

Les résultats du dosage et des activités antioxydantes ont été réalisés en triple et sont exprimés en moyenne ± ET en ayant recours aux programmes de l'Excel 2007 et au GraphPad Prism 5.0. Une analyse par le test Anova univarié suivi du test de Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification avec des valeurs de *p* inférieures ou égales à 0,05 considérées statistiquement significatives ont été intégrés.

Dosage des polyphénols totaux et teneur des flavonoïdes

Le choix de quantifier les polyphénols et les flavonoïdes est lié à l'importance de ces substances dans la composition chimique particulièrement relatée dans les travaux antérieurs chez l'espèce. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 1.

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait aqueux des feuilles et des fleurs d'*Erica arborea* est exprimée en équivalent d'acide gallique par rapport à l'équation linéaire de la courbe d'étalonnage : $y = 0,009x + 0,110$, ($R^2 = 0,984$). L'analyse quantitative des flavonoïdes est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimée en mg/EQ/mg : $y = 0,0175x$, ($R^2 = 0,980$).

Les résultats révèlent que les concentrations en polyphénols et en flavonoïdes au niveau des feuilles sont plus élevées qu'au niveau des fleurs.

Tableau 1 Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits aqueux des feuilles et des fleurs d' <i>Erica arborea</i> L		
Les extraits	Polyphénols (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg EQ/g MS)
E. Aq. fleurs	60,88 ± 0,02	28,18 ± 0,31
E. Aq. feuilles	74,22 ± 0,01	55,54 ± 0,47
Les valeurs représentent la moyenne ± ET (n = 3) ; EAG : équivalent acide gallique ; EQ : équivalent quercétine		

Activité antiradicalaire du DPPH

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes représentées sur la figure 1, qui montrent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits aqueux des feuilles et des fleurs. Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondant à 50 % d'inhibition (IC_{50}). La valeur obtenue d' IC_{50} de l'acide ascorbique est à $2,61 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$, elle s'est révélée inférieure à celle des deux extraits aqueux des feuilles et des fleurs. Concernant les extraits, l'inhibition la plus élevée a été relevée pour l'extrait aqueux des feuilles avec $9,42 \pm 0,19 \mu\text{g/ml}$, alors que la valeur de IC_{50} de l'extrait aqueux des fleurs a été trouvée inférieure avec $15,31 \pm 1,2 \mu\text{g/ml}$.

Pouvoir réducteur ferrique

Les résultats montrent que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons. Les extraits aqueux pour les feuilles et les fleurs ont cependant présenté des activités antioxydantes différentes avec des valeurs respectives de $115,25 \pm 6,51 \mu\text{g/ml}$ et de $232,50 \pm 5,29 \mu\text{g/ml}$ qui soulignent que l'activité antioxydante des feuilles est supérieure à celle des fleurs. Ces résultats sont nettement inférieurs à ceux du standard (acide ascorbique = $44,78 \pm 3,06 \mu\text{g/ml}$) (Fig. 2).

Capacité antioxydante totale

On relèvera que les concentrations variant de 100 à 500 $\mu\text{g/ml}$ évoluent proportionnellement (dose-dépendantes) pour les extraits et le standard. Les résultats obtenus montrent que les activités antioxydantes sont différentes. Ainsi, les valeurs de la capacité antioxydante de l'acide ascorbique est retrouvée avec une IC_{50} de $85,55 \pm 8,19 \mu\text{g/ml}$. Cette valeur est supérieure à celle de l'extrait aqueux des fleurs et des feuilles trouvée respectivement à $238,66 \pm 25,14 \mu\text{g/ml}$

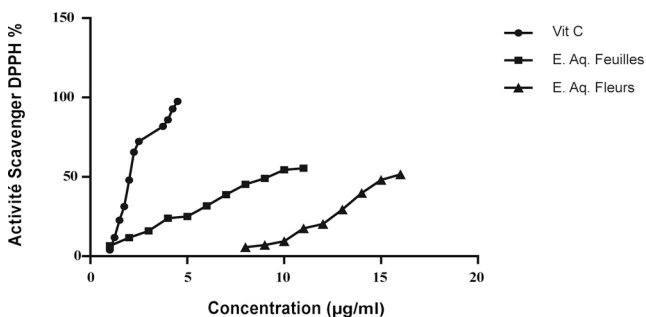


Fig. 1 Activité de piégeage des radicaux libres de l'extrait (E. Aq.) des feuilles, de l'extrait (E. Aq.) des fleurs d'*Erica arborea* L. et de l'acide ascorbique (les valeurs sont des moyennes \pm ET [$n = 3$])

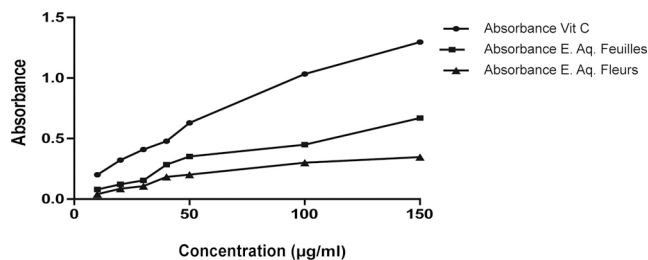


Fig. 2 Pouvoir réducteur de l'extrait (E. Aq.) des feuilles, de l'extrait (E. Aq.) des fleurs d'*Erica arborea* L. et de l'acide ascorbique (les valeurs sont des moyennes \pm ET [$n = 3$])

ml et à $528 \pm 10,44 \mu\text{g/ml}$. Il ressort également que l'activité antioxydante de l'extrait des fleurs est supérieure à celle des feuilles (Fig. 3).

Blanchiment du β -carotène

Le pourcentage d'inhibition de l'activité antioxydante par le système β -carotène/acide linoléique est proportionnel à la concentration. Pour nos extraits, nous remarquons une variation des valeurs du pourcentage d'inhibition marquée par un taux plus élevé chez les feuilles avec $26,86 \pm 0,86$ et seulement $15,13 \pm 0,17$ pour les fleurs à 1 000 $\mu\text{g/ml}$ de concentration. Ces valeurs montrent une activité antioxydante potentiellement inférieure à celle du BHT ($86,20 \pm 0,43$) (Fig. 4).

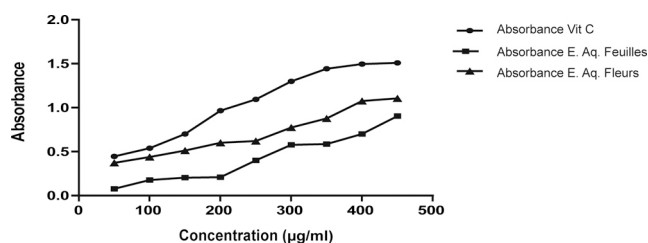


Fig. 3 Capacité antioxydante de l'extrait (E. Aq.) des feuilles, de l'extrait (E. Aq.) des fleurs d'*Erica arborea* L. et de l'acide ascorbique (les valeurs sont des moyennes \pm ET [$n = 3$])

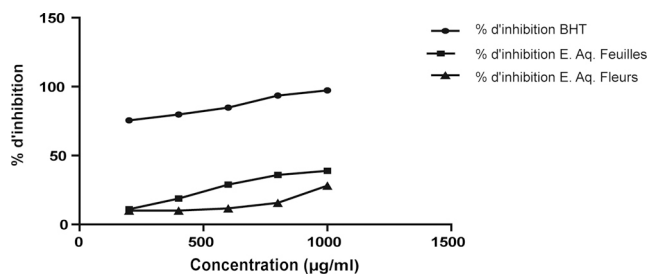


Fig. 4 Inhibition du blanchiment du β -carotène de l'extrait (E. Aq.) des feuilles, de l'extrait (E. Aq.) des fleurs d'*Erica arborea* L. et du BHT (les valeurs sont des moyennes \pm ET [$n = 3$])

Piégeage du radical hydroxyle

L'activité du piégeage du radical hydroxyle des extraits aqueux des feuilles et des fleurs d'*Erica arborea*, comme le montre la figure 5, augmente avec les concentrations. L'acide ascorbique présente une IC_{50} de $829,07 \pm 9,32 \mu\text{g/ml}$ qui correspond à une capacité de piégeage plus efficace par rapport à celle de l'extrait aqueux des fleurs ($IC_{50} = 1\ 204,21 \pm 16,54 \mu\text{g/ml}$) suivie par l'extrait aqueux des feuilles ($1\ 747,11 \pm 41,61 \mu\text{g/ml}$). Ainsi, l'inhibition la plus élevée est fournie par l'acide ascorbique ($53,23 \pm 0,10 \%$) suivie par l'extrait aqueux des fleurs ($41,87 \pm 0,44 \%$) et en dernier lieu par l'extrait aqueux des feuilles ($29,87 \pm 0,46 \%$).

Activité antimicrobienne

Les résultats présentés dans le tableau 2 montrent que les extraits aqueux des feuilles et des fleurs d'*Erica arborea* se sont avérés totalement inactifs contre l'ensemble des trois bactéries *Escherichia coli*, *Streptococcus sp.* et *Pseudomonas aeruginosa* ainsi que les deux champignons testés *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* ; par contre, ils sont actifs contre les bactéries *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilus*, *Bacillus cereus*.

Ces extraits soulignent un potentiel inhibiteur relativement intéressant envers les bactéries sensibles. L'extrait des

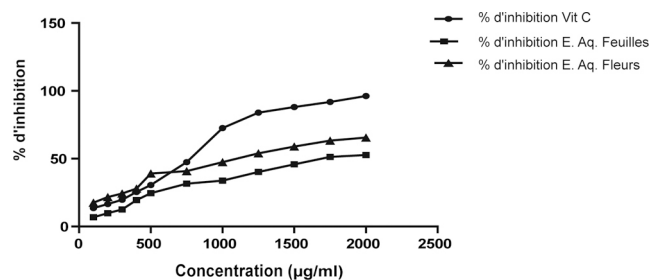


Fig. 5 Activité de piégeage du radical hydroxyl de l'extrait (E. Aq.) des feuilles, de l'extrait (E. Aq.) des fleurs d'*Erica arborea* L. et de l'acide ascorbique (les valeurs sont des moyennes \pm ET [$n = 3$])

feuilles est significativement plus actif avec une valeur variant de 15 à 23 mm comparé à celui des fleurs qui est situé entre 17 et 18,5 mm.

Il ressort que l'inhibition de bactéries Gram positif est bien confirmée, alors que les bactéries Gram négatif et les champignons sont résistants.

Les valeurs de la CMI varient de 6,25 à 12,50 mg/ml pour les extraits de feuilles, et elle est de 25 mg/ml pour les extraits de fleurs (Tableau 3).

Ainsi, la réceptivité des micro-organismes s'est avérée relativement variable selon la souche testée et selon la partie utilisée de l'extrait (feuille ou fleur).

Les résultats obtenus des analyses quantitatives des composés phénoliques totaux des extraits aqueux d'*Erica arborea* par spectroscopie montrent qu'ils contiennent $74,22 \pm 0,02 \text{ mg EAG/g MS}$ et $60,88 \pm 0,01 \text{ mg EAG/g MS}$ pour les feuilles et les fleurs respectivement. Les flavonoïdes par contre sont retrouvés à $55,54 \pm 0,47 \text{ mg EQ/g MS}$ pour les feuilles et à $28,18 \pm 0,31 \text{ mg EQ/g MS}$ pour les fleurs. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par des études antérieures réalisées sur la même espèce. Ainsi, Ay et al. [23] ont trouvé $75,83 \mu\text{g PEs/mg}$ (équivalent pyrocatechique) sur l'extrait aqueux des feuilles pour les polyphénols et seulement $2,27 \pm 0,20 \mu\text{g EQ/mg}$ pour les flavonoïdes. Amezouar et al. [24] ont trouvé $78,49 \pm 0,047 \text{ mg EAG/g MS}$ et $54,08 \pm 0,031 \text{ mg EQ/g MS}$ respectivement pour les extraits éthanoliques des feuilles et Guendouze-Bouchefa et al. [7] ont trouvé $70,8 \pm 2,5 \text{ mg GAE/g MS}$ et $9,5 \pm 0,1 \text{ mg QE/g MS}$ respectivement, pour l'extrait méthanolique des parties

Tableau 3 Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits aqueux des feuilles et des fleurs d'*Erica arborea*

Les souches bactériennes	E. Aq. feuilles (mg/ml)	E. Aq. fleurs (mg/ml)
<i>Bacillus subtilus</i>	12,50	25
<i>Bacillus cereus</i>	6,25	25
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,50	25

Tableau 2 Diamètres de la zone d'inhibition des extraits aqueux d'*Erica arborea* L. et de l'antibiotique (témoin) exprimés en mm

Souches microbiennes	E. Aq. feuilles	E. Aq. fleurs	Céfotaxime
<i>Bacillus subtilus</i> CLAM20302	22	18,5	36
<i>Bacillus cereus</i> CLAMH300	15	17	22
<i>Escherichia coli</i> ATCC25923	—	—	—
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25922	23	17	33
<i>Streptococcus sp.</i>	—	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	—	—	—
<i>Aspergillus flavus</i>	—	—	—
<i>Aspergillus niger</i>	—	—	—

aériennes. Une étude plus récente toutefois a montré que la concentration de l'espèce a atteint $877,5 \pm 19,29$ mg EAG/g MS dans l'extrait d'acétate d'éthyle [25].

Il est souvent rapporté que les composés phénoliques sont abondants dans les espèces appartenant à la famille des Ericaceae [26] ; toutefois, les conditions géographiques et climatiques peuvent entraîner des différences significatives dans les concentrations des composés bioactifs dans les plantes, ce qui se répercute sur leurs activités biologiques [7]. De même, la solubilité dans les solvants organiques de ces composés phénoliques jouerait un rôle dans la quantification de ces composés [27].

Dans la présente étude, l'examen de l'activité antioxydante réalisé sur les deux extraits a été exprimé en termes d'IC₅₀ et du pourcentage d'inhibition. Ces valeurs sont représentées dans le tableau 4.

Le plus fort potentiel antioxydant a été relevé par le test du DPPH avec une IC₅₀ de $9,42 \pm 0,19$ µg/ml pour les feuilles et de $15,31 \pm 1,2$ µg/ml pour les fleurs. Ces valeurs sont inférieures à celle du standard indiquant un effet scavenger moins important (Tableau 4). En comparant avec d'autres travaux sur d'autres extraits de feuilles d'*Erica arborea*, elles seraient relativement inférieures à celle obtenue par Amezouar et al. [24] à $10,22$ µg/ml pour l'extrait éthanolique et avec $41,10 \pm 0,36$ mg/ml pour l'extrait aqueux [23], cette valeur est supérieure par contre à celle enregistrée par Guendouz-Bouchefa et al. [7] avec $5,7 \pm 0,08$ mg/ml pour l'extrait méthanolique, soulignant donc une plus grande activité de piégeage, ce qui serait lié probablement au type de solvant d'extraction [28].

Pour les résultats des autres tests, nous remarquons pour le test FRAP, selon la figure 2, que plus la concentration de l'extrait augmente plus le pouvoir réducteur augmente. Cela souligne que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à la concentration des extraits qui se manifeste par la

réduction de l'ion ferreux (Fe³⁺) à l'ion ferrique (Fe²⁺). Cette réduction est plus importante dans l'extrait des feuilles ($115,25 \pm 6,51$ µg/ml) comparée à l'extrait des fleurs ($232,50 \pm 5,29$ µg/ml). Cette valeur est inférieure à celle enregistrée par Amezouar et al. [24], pour ce test, concernant l'extrait feuilles, évaluée à $9,48 \pm 0,05$ mg VEE/g MS (mg équivalent vitamine E par gramme de matière sèche).

Dans le cas de la CAT, on notera que le pouvoir réducteur augmente avec la concentration de l'extrait, ce pouvoir exprimé par une IC₅₀ (Tableau 4) est plus important dans l'extrait de fleurs comparé à l'extrait de feuilles (Tableau 4). Les deux extraits ont montré une moindre activité antioxydante comparativement au standard utilisé, l'acide ascorbique dans les deux tests.

Les deux extraits se sont avérés être des piègeurs moins efficaces du radical hydroxyle comparé à l'acide ascorbique (Tableau 4). Par ailleurs, ces résultats permettent de constater que le pourcentage d'inhibition est plus important dans l'extrait de fleurs comparé à l'extrait de feuilles (Tableau 4). La capacité de l'extrait aqueux à inhiber la peroxydation lipidique dans le blanchiment du β-carotène à 1 mg/ml de concentration, pour les deux extraits, s'est manifestée par des pourcentages d'inhibition inférieurs au standard (Fig. 5). L'extrait des feuilles a montré une inhibition plus importante que celle de l'extrait des fleurs (Tableau 4).

Sur la base de ces résultats, on constate que chaque test utilisé dans l'activité antioxydante présente un effet scavenger dépendant de la concentration en phénols. De nombreuses études sur l'activité antioxydante d'extraits de plantes ont confirmé une corrélation linéaire significative entre la teneur en composés phénoliques totaux et l'activité antioxydante. Cela est particulièrement mis en évidence par le test du DPPH. On relèvera que l'extrait des feuilles s'est mieux exprimé dans les tests du DPPH, du FRAP et du β-carotène. Les tests de la CAT et le radical hydroxyle ont par contre

Tableau 4 Activités antioxydantes (PI %) et concentration efficace (IC₅₀) des extraits aqueux des feuilles et des fleurs d'*Erica arborea*

Extraits	Tests							
	DPPH		FRAP	CAT	OH		β-carotène	
	PI %	IC ₅₀	IC ₅₀	IC ₅₀	PI %	IC ₅₀	PI %	IC ₅₀
Ext. Aq. feuilles	55,78 ±	9,42 ±	115,25 ±	528 ±	29,87 ±	29,87 ±	26,86 ±	1253,47 ±
	0,43	0,19	6,51	10,44	0,46	0,46	0,86	28,24
Ext. Aq. fleurs	32,53 ±	15,31 ±	232,50 ±	238,66 ±	41,87 ±	41,87 ±	15,13 ±	2026,03 ±
	0,69	1,2	5,29	25,14	0,44	0,44	0,17	211,76
A. ascorbique	22,69 ±	2,61 ±	44,78 ± 3,06	84,55 ±	53,20 ±	53,23 ±	86,20 ±	
	0,47	0,01		8,19	0,10	0,10	0,43	
BHT								666,3 ± 25,13

Les valeurs sont exprimées en µg/ml, elles représentent les moyennes ± écarts-types de trois mesures différentes

montré une activité antioxydante plus importante pour l'extrait de fleurs comparée à celle de l'extrait des feuilles.

L'analyse de ces résultats nous mène à déduire que le potentiel antioxydant est tributaire du comportement de chaque test biologique qui reflète un aspect différent du pouvoir antioxydant de l'extrait. On pense que cela est en rapport avec leurs composés phytochimiques qui contribuent différemment aux activités des différents extraits.

Ces résultats sont mis en évidence par l'analyse statistique univariée Anova et le test de Tukey ($p \leq 0,05$) pour les comparaisons multiples qui attestent bien qu'il existe une différence significative entre les différents tests et le standard (acide ascorbique).

Les effets antimicrobiens de la plante répertoriés dans les tableaux 2, 3 montrent que les deux extraits aqueux ont une activité relativement intéressante contre les bactéries à Gram positif, mais pas contre les bactéries à Gram négatif bien connues pour leur résistance supérieure liée aux lipopolysaccharides de leur membrane externe [29]. Elle s'est manifestée essentiellement contre trois bactéries *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*. Concernant les résultats de la CMI, il apparaît que les concentrations inhibitrices pour l'extrait brut aqueux, que ce soit pour les feuilles ou les fleurs, sont des valeurs relativement modérées, ce qui est certainement lié à la composition complexe de l'extrait ou à certaines molécules bioactives.

Ces résultats corroborent ceux de Guendouze-Bouchefa et al. [7] qui n'ont trouvé une sensibilité que contre les bactéries à Gram positif sur les parties aériennes d'*Erica arborea*. Ces derniers rapportent également que les extraits d'*Erica arborea* et d'*Erica multiflora* étaient additifs avec le céfotaxime et la streptomycine contre *Staphylococcus aureus* uniquement. Par ailleurs, une étude menée sur *Erica arborea* et *Erica bocquetii* en Turquie a été trouvée avec des effets actifs pour tous les extraits des deux espèces. Elles inhibaient notamment *Escherichia coli*. La CMI fluctuait dans une plage de 31,25 à 62,50 $\mu\text{l/ml}$ d'extraits [30].

Selon Hatano et al. [31], ce sont les composés phénoliques qui agiraient soit directement, soit indirectement en restaurant les effets antibactériens des antibiotiques. Les études sur certaines espèces du genre *Erica* confirment que les composés phénoliques et les flavonoïdes étaient responsables de l'inhibition de la croissance des souches bactériennes.

Dans le cas d'*Erica arborea*, des études soulignent que la présence du carvacrol, une substance isolée dans les feuilles d'*Erica arborea*, modifie la perméabilité des membranes bactériennes et inhibe la production de toxines chez *Bacillus aureus* [23].

On estime toutefois que l'hydrolyse d'une hydroquinone glycoside (arbutoside), présente chez *Erica arborea* d'après Drissi et al. et Ay et al. [23,33], par des bactéries et son oxydation spontanée en benzoquinone, serait plus responsable de ces effets antimicrobiens observés. Une réelle effi-

cacité de l'arbutine sur les problèmes des voies urinaires a été décrite en médecine traditionnelle en associant la bruyère à une autre Ericaceae, *Arctostaphylos uva-ursi* (la busserole). En effet, une récente étude menée en Inde sur cette dernière [34] a démontré qu'en métabolisant la liaison entre les deux molécules d'hydroquinone et du glycoside, cela entraîne une concentration intracellulaire bactérienne élevée d'hydroquinone in vitro. La dose recommandée chez *Uva-ursi* est comprise entre 420 et 600 mg, prise une fois par jour en trois doses. Par ailleurs, Goetz [34] dans son travail sur la phytoaromathérapie de l'infection urinaire précise que c'est l'arbutine et ses dérivés hydroquinonines qui sont actifs comme antibactériens dans les voies urinaires chez cette plante. Cependant, la biodisponibilité et la proportion de cette substance chez *Erica arborea* n'ont pas été clairement élucidées bien que les études qui se sont intéressées à l'activité antibactérienne de cette plante associent très souvent la teneur de cette substance aux effets antibactériens. Il serait donc intéressant de faire des études supplémentaires pour déterminer les agents antimicrobiens et d'évaluer notamment l'effet de la teneur de l'arbutine afin de définir sa contribution dans le cadre de la création de nouveaux médicaments destinés au traitement des maladies infectieuses des voies urinaires en intégrant d'autres bactéries pathogènes ayant des effets sur différents extraits.

Conclusion

L'étude des composés phénoliques et des activités biologiques des deux extraits aqueux des feuilles et des fleurs d'*Erica arborea* récoltées dans la forêt de Tamentout dans la région de Beni-Aziz nous a permis de constater que ces dernières sont des sources riches en contenu phénolique et ont un potentiel antioxydant et une activité antibactérienne assez intéressante. Ces deux activités sont toutefois plus marquées chez les feuilles que les fleurs. Les résultats de l'activité antioxydante restent relativement inférieurs à ceux de l'acide ascorbique, mais il s'agit d'extraits bruts contenant un grand nombre de composés différents. Il est donc très probable que la plante contient des composés qui, une fois purifiés, pourraient contribuer de manière plus efficace dans l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne.

Ces résultats corroborent les études réalisées sur les espèces du genre *Erica*, ce qui nous conduit à suggérer que l'extrait aqueux pourrait avoir un effet significatif sur la santé humaine. Ces résultats sont donc prometteurs et semblent justifier les indications thérapeutiques en médecine traditionnelle.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

1. Johari H, Jahromi HK (2015) The effects of hydroalcoholic extract of Chicoree on atherosclerosis plaque formation of cardiovascular diseases in rabbit. *Adv Environ Biol* 9:319–25
2. Suna S, Özcan-Sinir GS, Tamer CE, et al (2018) Antioxidant capacity and physicochemical characteristics of carbonated *Erica arborea* tea beverage. Department of Food Engineering, Faculty of Agriculture, Uludag University, 16059 Bursa, Turkey
3. La Mantia T, Giaini G, Salvatore D, et al (2007) The role of traditional *Erica arborea* L. management practices in maintaining northeastern Sicily's cultural landscape. Dipartimento di Colture Arboree, University of Palermo, Viale delle Scienze, Italy. *Forest Ecology and Management* 249:63–70 p
4. Carvalho I, Cavaco T, Brodelius M (2011) Phenolic composition and antioxidant capacity of six *Artemisia* species. *Ind Crops Prod* 33:382–8
5. Neves JM, Matos C, Moutinho C, et al (2009) Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trás-os-Montes (northern of Portugal). *J Ethnopharmacol* 124:270–83
6. Gunther RT (1934) Greek herbal of discorides. Oxford University Press
7. Guendouze-Bouchéfa N, Madani K, Chibane M, et al (2015) Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of Three Ericaceae from Algeria. *Ind Crop Prod* 70:459–66
8. Akkol E, Yesilada A, Guven CA (2007) Evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Erica* species native to Turkey. *J Ethnopharmacol* 116:1–257
9. Márquez-García B, Fernández MA, Córdoba F (2009) Phenolics composition in *Erica sp.* differentially exposed to metal pollution in the Iberian Southwestern pyritic belt. *Bioresour Technol* 100:446–51
10. Markham KR (1982) Techniques of flavonoid identification. Academic press, London, chap 1 and 2, pp 1–113
11. Li HB, Wong CC, Cheng KW, et al, (2008) Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Sci Technol* 41:385–90
12. Bahorum T, Gressier B, Trotin F, et al (1996) Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneimittelforschung* 46:1086–9
13. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Leben. Smittel-Wissenschaft und Tehnologie* 28:25–30
14. Sharma OP, Bhat TK (2009) DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chem* 113:1202–5
15. Santos SA, Pinto PC, Silvestre AJ, et al (2010) Chemical composition and antioxidant activity of phenolic extracts of cork from *Quercus suber* L. *Ind Crops Prod* 31:521–6
16. Oyaizu M (1986) Studies on product of browning reaction prepared from glucoseamine. *Jpn J Nutr* 44:307–15
17. Hazra B, Biswas S, Mandal N (2008) Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *BMC Complement Altern Med* 8:63
18. Prieto P, Pineda M, Aguilar M (1999) Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem* 269:337–41
19. Rao AS, Reddy SG, Babu PP, et al (2010) The antioxidant and antiproliferative activities of methanolic extracts from Njavara rice bran. *BMC Complement Altern Med* 10:4
20. Aslan A, Güllüce M, Sökmen M, et al (2006) Antioxidant and antimicrobial properties of the Lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Everinia divaricata*, *Evernia prunastri*, and *Neofuscella pulla*. *Pharm Biol* 44:247–52
21. Dawidowicz AL, Olszowy M (2010) Influence of some experimental variables and matrix components in the determination of antioxidant properties by b-carotene bleaching assay: experiments with BHT used as standard antioxidant. *Eur Food Res Technol* 231:835–40
22. Rajamanikandan S, Sindhu T, Durgapriya D, et al (2011) Radical scavenging and antioxidant activity of ethanolic extract of *Molugo nudicaulis* by in vitro assays. *Indian J Pharm Educ Res* 45:310–6
23. Ay M, Bahadori F, Öztürk M, et al (2007) Antioxidant activity of *Erica arborea*. *Fitoterapia* 78:571–3
24. Amezouar F, Badri W, Hseine M, et al (2013) Antioxidant and anti-inflammatory activities of Moroccan *Erica arborea* L. *Pathology-Biology* 61:254–8
25. Koroğlu A, Hürkul M, Kendir G, et al (2018) In vitro antioxidant capacities and phenolic contents of four *Erica* L. (Ericaceae) taxa native to Turkey. *J Res Pharm* 23:93–100
26. Lebreton P, Bayet C (2002) The physiological and biochemical variability of the strawberry tree *Arbutus unedo* L. (Ericaceae). *Acta Pharm* 52:83–90
27. Aires A, Carvalho R (2017) Screening of polyphenol composition and antiradical capacity of wild *Erica arborea*: a native plant species from the Portuguese flora. *J Chromatogr Sep Tech* 8:379. doi: 10.4172/2157-7064.1000379
28. Vucic DM, Petkovicic MR, Rodic-Grabovac BB (2013) Phenolic content, antibacterial and antioxidant activities of *Erica herbacea* L. *Acta Pol Pharm* 70:1021–6 (1021n1026, 2013 ISSN 0001-6837 Polish Pharmaceutical Society)
29. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA (2009) Medical microbiology, sixth ed. Mosby Elsevier, Philadelphia, p 960
30. Kivçak B, Erdoğan TF, Gönenç T (2013) Antioxidant, Antimicrobial and cytotoxic activities of *Erica bocquetii* p. f. stevens and *Erica arborea* L. *Gümü Ghane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi/Gümü Ghane University Journal of Health Sciences* 2(1)
31. Hatano T, Kusuda M, Inada K, et al (2005) Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry* 66:2047–55
32. Drissi A, Bennani H, Giton F (2016) Tocopherols and saponins derived from some Moroccan plants exert an antiproliferative. Effect on human prostate cancer. *Cancer Investigation* 24:588–92
33. Twinkle G, Nitin M, Shivani G (2017) Review on Uva-ursi: a miracle herb for urinary tract disorders. *World J Pharm Life Sci* 3:51–4
34. Goetz P (2017) Phytoaromathérapie de l'infection urinaire. *Phytothérapie* 15:320–3