

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة أمجد بوقرة بومرداس  
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA – BOUMERDES



Faculté des sciences  
Département de Biologie  
Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de  
MASTER

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Biotechnologie

**Spécialité :** Biotechnologie Microbienne

## THÈME

---

**Evaluation de l'activité fongicide et fongistatique des  
extraits de noyer commun (*Juglans regia*)**

---

**Présenté par :** M<sup>elle</sup>. GUERIANE Ilhem

M<sup>elle</sup>. REZIG Sara

M<sup>elle</sup>. SAIDI Chahinez

**Devant le Jury :**

M <sup>me</sup> MAHIDDINE Leila	Présidente	MCB	UMBB
M <sup>me</sup> SADAOUI Nesrine	Examinatrice	MAB	UMBB
M <sup>me</sup> AIT KAKI Sabrina	Promotrice	MCA	UMBB

2019/2020

# *Remerciements*

*Nous remercions tout d'abord le bon **Dieu**, le tout puissant qui nous a donné le pouvoir, le courage et la patience pour élaborer ce mémoire.*

*Nos remerciements vont*

*A **Mme. AIT SLIMANE-AIT KAKI Sabrina**, Maitre de Conférences A. au département de biologie de l'Université M'Hamed Bougara, d'avoir accepté de diriger ce travail avec compétence et dévouement, de partager ses connaissances et tout son soutien lors de la réalisation et la rédaction du manuscrit. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*A **M<sup>me</sup> MAHIDDINE Leila**, Maitre de Conférences (B) au département de biologie de l'Université M'Hamed Bougara, de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury. Nous la remercions vivement.*

*A **Mme SADAoui Nesrine**, Maitre Assistante (B) au département de biologie de l'Université M'Hamed Bougara, de nous avoir fait l'honneur d'être membre de ce jury et d'examiner ce travail, son expérience sera bénéfique pour la valorisation de ce travail. Nous la remercions très sincèrement.*

*A **Mme BENNACER Amel**, Notre Co-promotrice pour leur aide et soutien.*

*Nos remerciements sont aussi adressés, à toute personne ayant contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.*

# *Dédicaces*

*Je dédie cet évènement marquant de ma vie à la mémoire de mon père disparu "Afcene", j'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme, Puisse Dieu le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde*

*Je tiens à présenter mes reconnaissances à ma chère maman "Houria" pour sa tendresse, ses sacrifices, et son soutien permanent tout au long de mes études. Aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste valeur, le profond amour que je lui porte. Que Dieu lui accorde santé et longue vie*

*Dédicace à mes frères et sœurs, mes neveux et nièces, et à tous les membres de ma famille sans exception*

*Spécial remerciement à ma cher sœur "Louiza" pour son soutien infaillible et son encouragement. Merci d'être toujours là pour moi*

*Enfin je remercie tous mes amis et je leur souhaite bonheur, santé et prospérité.*

*Ilhem...*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail:*

*A l'être le plus chère dans ma vie, à celle qui m'a donné la vie, celle qui s'est sacrifiée durant de longues années, celle qui a tant donnée... sans demander en revanche.... Les mots s'épuisent maman! Mais même en remplissant des pages entières, je demeurerai ingrat à ton égard. Je te dis tout simplement que tu es la perle qui orne ma vie et au-delà et que ma réussite est la tienne !*

*A mon père, exemple de courage et de sérieux qui m'a tout donné pour me permettre de réaliser mes rêves .En ces quelques mots, je lui exprime tout mon amour et mon respect pour tout ce qu'il m'a offert comme soutien, encouragement et aide.*

*A mes chers frères et sœur.*

*A mon cher frère disparu mais toujours présent dans ma vie avec son soutien moral, « Naïm » j'aurais tant souhaité que tu sois présent le jour de ma soutenance. Que DIEU ait ton âme et l'accueille dans son vaste paradis.*

*A tous mes amis et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin dans ce modeste travail.*

**Sara...**

# *Dédicaces*

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à mes chers parents, qui m'avez dirigé et suivi pendant toute mes années d'étude et surtout ma mère pour leurs sacrifices de tous les instants, sa patience sans limite et l'éducation qu'elle m'a donnée, je lui dit merci*

*Mille fois.*

*A mes chers frères hamza et Mohamed*

*A ma chère sœur Linda*

*A mes chers binômes Sara et ilhem avec qui ils j'ai partagé mes bons moments, sans oublier leur familles.*

*A Mes très chère amies en particulier « Chourouk , Fadoua témoignage de l'amitié sincère qui nous a liées et des bons moments passés ensemble, je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux*

*A toute ma famille*

*Chahinez...*

## Résumé

L'objectif de notre travail est porté sur l'étude phytochimique de différents extraits des feuilles de *Juglans regia* : extrait aqueux et méthanolique. La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des molécules bioactives. Le screening phytochimique préliminaire des molécules bioactives a été réalisé sur la matière brutes des feuilles de la plante, et il a révélé la présence de différents constituants dont les phénoliques, les flavonoïdes, les stérols, les terpénoïdes, les coumarines, ainsi que d'autres molécules. La deuxième partie est l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de plante. La capacité antimicrobienne a été projeté contre les bactéries Gram positif (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*) et les bactéries Gram négatives (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*) et les champignons (*Aspergillus niger* et *A Aspergillus flavus*). Les feuilles de noyer ont sélectivement inhibé la croissance des bactéries à Gram positif, les bactéries Gram négatives et les champignons étaient résistants aux extraits

Les résultats trouvés dans cette étude suggèrent que les différentes parties de noyer commun et particulièrement les feuilles peuvent être considérées comme une source intéressante des agents antimicrobien pour les industries médical et pharmaceutique.

**Mots clés:** *Juglans regia*, composé phénolique, flavonoïdes, activité antimicrobienne, Screening phytochimique

# Liste des abréviations

- **CFU/ml** : Colony forming unit per milliliter
- **D** : Diamètre de zone d'inhibition
- **HIV** : Human Immuno deficiency virus
- **HPLC-DAD** : High performance liquid chromatography with diode-Array detection
- **HSV** : Herpès simplex virus
- **INRF** : Institut national de la recherche forestière
- **ISO** : International Organisation for Standardization
- **JNPs** : Nanoparticules liés au juglone
- **JR** : Juglans regia
- **m/an** : mètre par année
- **Ms** : Matière sèche
- **NFV** : Network Functions Virtualization
- **NPs** : Nanoparticules
- **OMRDD** : Office of Mental Retardation and Developmental Disabilities
- **PDA** : Potato Dextrose Agar
- **PLGA** : Poly (lactic-co-glycolic acid)
- **Ug/ml** : microgramme par litre

## Liste des figures

---

### Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Air d'origine du noyer commun en Europe.....	03
<b>Figure 2.</b> Description botanique de <i>Juglans regia</i> .....	05
<b>Figure 3.</b> Les feuilles du noyer commun.....	05
<b>Figure 4.</b> Les fleurs de <i>Juglans regia</i> .....	06
<b>Figure 5.</b> Fruits de noyer commun.....	07
<b>Figure 6.</b> Distribution géographique du noyer.....	08
<b>Figure 7.</b> Carte de répartition du noyer en Algérie.....	09
<b>Figure 8.</b> Anthracnose sur les feuilles et sur les fruits.....	15
<b>Figure 9.</b> Bactériose du noyer.....	15
<b>Figure 10.</b> Classification des polyphénols alimentaires.....	18
<b>Figure 11.</b> Feuilles séchée et poudre de noyer commun.....	28
<b>Figure 12.</b> Protocole de préparation de l'extrait aqueux.....	29
<b>Figure 13.</b> Protocole de préparation de l'extrait méthanolique.....	35
<b>Figure 14.</b> Activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de noix .....	38
<b>Figure 15.</b> Les photos des zones d'inhibition de la croissance entre la juglone-PLGA et juglone libre; méthode de dilution de l'agar .....	42
<b>Figure 16 :</b> Les photos de Petri des zones d'inhibition de la croissance entre la juglone-PLGA et juglone libre ; méthode de dilution top agar.....	44

# Liste des tableaux

---

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b> Exigences et sensibilités stationnelles pour le noyer commun.....	10
<b>Tableau II.</b> Principaux constituants chimique des fruits et feuilles du noyer commun .....	12
<b>Tableau III.</b> Activité biologique de quelque métabolite secondaire.....	22
<b>Tableau IV.</b> Les différentes souches testées et leur familles.....	27
<b>Tableau V.</b> Molécules recherché avec leurs réactions de caractérisation et les résultats attendus ...	29
<b>Tableau VI.</b> Estimation des zones d'inhibition .....	35
<b>Tableau VII :</b> Résultats des tests phytochimiques effectués sur la poudre des feuilles de noyer .....	36
<b>Tableau VIII.</b> Activité antimicrobienne de l'extrait de feuilles de différents cultivars de noix . .....	36
<b>Tableau IX.</b> Concentration minimale d'inhibition de l'extrait méthanolique de noix.....	37
<b>Tableau X.</b> Activité antifongique (exprimé en CMI) des extraits de différentes parties de plantes (1g/ml de solvant) des especes selectionnées.....	38
<b>Tableau XI.</b> Les valeurs des MFC et MIC selon la méthode de dilution agar .....	39
<b>Tableau XII.</b> Les valeurs MFC et MIC selon la méthode de dilution top agar .....	40
<b>Tableau XIII.</b> Activité antimicrobienne des divers extraits d'écorce de <i>J. regia</i> (mg=ml) par méthode de micro-dilution en bouillon.....	43

# Table de matières

---

## Table de matières

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

### Chapitre I : Données bibliographique

#### I. Le noyer commun

I.1 Historique et origine du noyer.....03

I.2 Position systématique.....04

I.3 Description botanique de *Juglans regia*.....04

I.3.1 Arbre.....04

I.3.2 Les feuilles.....05

I.3.3 Les fleurs.....06

A) Les fleurs males.....06

B) Les fleurs femelles.....06

I.3.4 Fruits.....06

I.4 Aire de répartition du noyer.....07

I.4.1 En Algérie.....08

I.5 Écologie de l'espèce.....09

I.5.1 Exigences climatiques.....09

I.5.2 Exigences édaphiques.....10

I.6 Composition chimique.....11

I.6.1 Les fruits.....11

I.6.2 Les feuilles.....11

I.7 Utilisation du noyer commun.....13

I.7.1 Coques.....13

I.7.2 Brou.....13

I.7.3 Noix.....14

## Table de matières

---

I.7.4 Feuilles.....	14
I.8 Microflore d'altération du noyer commun.....	14
I.8.1 Anthracnose .....	14
I.8.2 Bactériose.....	15
I.8.3 Le pourridié.....	15
I.9 Procédés de traitement.....	16
I.9.1 Lutte contre l'antracnose.....	16
I.9.2 Lutte contre la bactériose.....	16
I.9.3 Lutte contre le pourridié.....	16
<b>II. Mode d'action des biomolécules</b>	
II.1 Acides phénoliques.....	19
II.2 Les flavonoïdes.....	19
II.3 Anthocyanosides.....	19
II.4 Les tanins.....	20
II.4.1 Tanins hydrolysables.....	20
II.4.2 Tanins condensé ou catéchiue ou proanthocyanidols.....	20
II.5 Les coumarines.....	20
II.6 Autres composés secondaires.....	21
II.6.1 Les alcaloïdes.....	21
II.6.2 Les saponosides.....	21
II.7 Activités biologiques.....	21
II.7.1 Activité antioxydant.....	22
II.7.2 Activité anti helminthe.....	23
II.7.3 Activité antiinflammatoire.....	23
II.7.4 Activité anti microbienne.....	24
II.7.4.1 Activité antibactérienne.....	24
II.7.4.2 Activité anti virale.....	24
II.7.4.3 Activité anti fongique.....	25
II.7.5 Effets thérapeutique.....	26

## Table de matières

---

### Chapitre II: Matériels et méthodes

#### II.1 Matériel

II.1.1 Matériel biologique.....	27
II.1.1.1 Matériel végétal.....	27
II.1.1.2 Microorganismes.....	27
II.1.2 Matériel non biologique .....	27

#### II.2 Méthode

II.2.1 Méthodes de caractérisation.....	27
II.2.1.1 Préparation de la matière végétale.....	27
II.2.1.2 Caractérisation phytochimique.....	28
A) Préparation de l'infusé.....	28
B) Le screening chimique.....	28
II.2.1.3 Caractérisation physico chimique.....	31
A) Détermination de l'humidité.....	31
B) Dosage des cendres.....	31
II.2.1.4 Étude de l'activité antifongique des extraits aqueux et méthanolique des feuilles du noyer commun.....	33
II.2.1.4.1 Préparation de l'extrait aqueux.....	33
II.2.1.4.2 Préparation des souches microbiennes.....	34

### Chapitre III: Résultats et discussion

III.1 Analyse phytochimique des feuilles de noyer commun .....	36
III.2 Étude de l'activité antimicrobienne des extraits de noyer commun.....	36
III.2.1 Évaluation qualitative.....	36
A) Extraits aqueux.....	36
B) Extraits méthanolique.....	37
C) Autres extraits.....	39
III.2.2 Évaluation quantitative.....	40
A) Activité antifongique de la Juglone libre et des nanoparticules synthétisées.....	40
III.2 Discussion.....	46
IIV Conclusion.....	50

# **Introduction**

### INTRODUCTION

La médecine à base de plantes est la plus ancienne forme de soins de santé connue de l'humanité. Les herbes ont été utilisées par toutes les cultures à travers l'histoire et fournissent encore certains de nos médicaments les plus précieux. Les plantes sont une source précieuse d'une large gamme de métabolites secondaires, qui sont utilisés comme produits pharmaceutiques, agrochimiques, arômes, parfums, couleurs et bio pesticides (Snafi, 2018).

L'utilisation de plantes médicinales pour traiter des maladies remonte à l'histoire de l'être humain ; elle a donc une histoire de plusieurs milliers d'années dans de nombreux pays. Parmi les plantes médicinales fortement utilisées dans la médecine traditionnelle Algérienne, Iranienne, Chinoise ou Turque, le noyer commun (*Juglans regia* L.) (Dellile, 2010). C'est un arbre à feuilles caduques et l'un des plus de 60 espèces appartenant à la Juglandaceae, cette famille est divisée en 8 genres auquel *J.regia* est l'une des 21 espèces attribuées au genre *Juglans* L, *Juglans regia* est distribuée de l'Europe de sud-est de la Chine et de l'Himalaya (Manos *et al*, 2001 ; Aradia *et al*, 2007), depuis longtemps ces feuilles ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter par exemple l'hypoglycémie (Subramoniam, 2016)

La médecine des plantes est considérée comme une partie intégrante de la culture algérienne et joue un rôle indispensable dans la santé publique ; parmi ces plantes « le Miswak » qui est connu sous le nom scientifique *Juglans regia* Linn, très utilisé par la population algérienne pour la prévention contre les problèmes de carie dentaire et bucco dentaires et le traitement des inflammations de la gencive et même dans le traitement des irritations de la peau et les problèmes de cheveux. (Kaddem, 1990), en Algérie plusieurs villes ont le potentiel écologique idéal pour la culture de noyer comme Sétif, Khenchla, Batna, Skikda et bien d'autres villes.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes cultivées utilisées en médecine traditionnelle et suite à des travaux antérieurs (Bennacer *et al*, 2017) La présente étude a porté sur le criblage des constituants phytochimiques des feuilles pour identifier les molécules probablement responsables du potentiel thérapeutique élevé de *J. regia* et de l'évaluation qualitative et quantitative *in vitro* des propriétés antimicrobienne et antifongique de leurs extraits organiques et aqueux sur plusieurs espèces .

## **Introduction**

---

Pour répondre à ces objectifs le mémoire s'articule sur trois grands chapitres ; le premier chapitre représente une synthèse bibliographique qui portera sur le noyer commun et mode d'action des biomolécules. Le deuxième chapitre concernant l'expérimentation, le matériel et les méthodes où nous établirons les différents protocoles nécessaires pour notre étude, et le dernier chapitre illustre les résultats obtenus et leurs discussions. En fin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenues et perspectives.

# Chapitre I

## Données bibliographique

## I. Le noyer commun

### I.1 Historique et origine du noyer

L'origine et l'apparition des Juglandacées sur Terre est très ancienne car il existait déjà au Crétacé supérieur. De plus, les nombreuses traces retrouvées au Groenland attestent qu'il occupait alors une aire beaucoup plus vaste que celle d'aujourd'hui. Il est très probable qu'il existait en Europe au Tertiaire car des fossiles d'une identité indiscutable ont été trouvés en Provence ce qui semble prouver que les glaciations ont chassé cet arbre de l'Europe occidentale (Chevalier, 1941)

*Juglans regia* est originaire de la chaînes des montagnes de l'Asie centrale, qui s'étendant de la province de Xinjiang à l'ouest de la Chine, une partie du Kazakhstan, d'Ouzbékistan et du sud de Kirghizie, et à partir des chaînes inférieurs des montagnes du Népal, le Bhoutan, le Tibet, le nord de l'Inde, le Pakistan et le Sri Lanka via l'Afghanistan, le Turkménistan et l'Iran à une partie de l'Azerbaïdjan, l'Arménie, la Géorgie et la Turquie orientale (Tajamul *et al*, 2014).

Le noyer commun est spontané dans les montagnes d'Asie, particulièrement de l'Himalaya aux chaînes Pontique et dans la région méditerranéenne (Fig.1). Ce sont les Grecs et les romains qui l'ont répandu dans le bassin méditerrané (Lestrade *et al*, 2012).



**Figure 01.** Aire d'origine du noyer commun en Europe (Krüssmann, 1979 in Lestrade *et al*. 2012, modifié)

## I.2 Position systématique :

Selon le système d'information taxonomique intégré, 2011, le noyer commun (*J. regia*) est classé comme suit:

**Règne :** *Plantae*

**Sous règne :** *Viridiplantae*

**Infra règne :** *Streptophyta*

**Super division :** *Embryophyta*

**Division :** *Tracheophyta*

**Sousdivision :** *Spermatophytina*

**Class :** *Magnoliopsida*

**Superordre :** *Rosanae*

**Ordre :** *Fagales*

**Famille :** *Juglandaceae*

**Genre :** *Juglans*

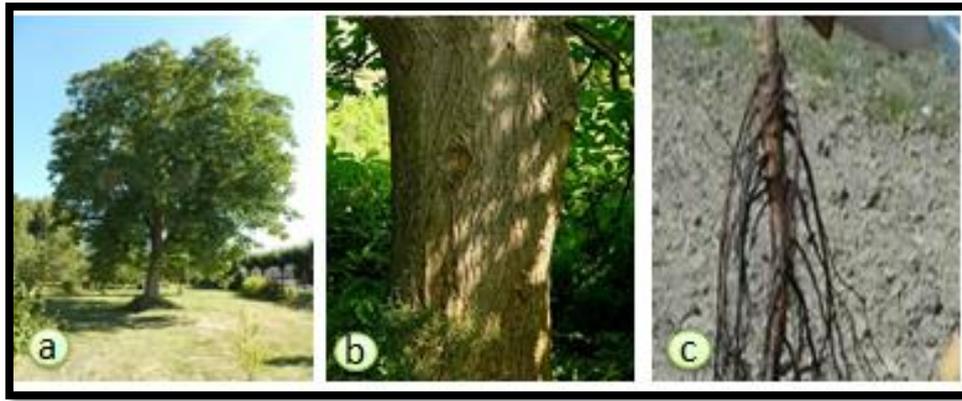
**Espèce :** *Juglans regia* L.

## I.3 Description botanique du *Juglans regia*

### I.3.1 Arbre

*Juglans regia* est un grand arbre à feuilles caduques qui peut vivre 150 à 200 ans (**Mohni et al, 2009**). L'arbre peut atteindre des hauteurs de 25 à 35 mètres, et un tronc qui atteint jusqu'à 2 mètres de diamètre, souvent court à large couronne. C'est une espèce de lumière, exigeant une exposition importante au soleil pour bien développer.

L'écorce est lisse de couleur marron avant d'être mature, gris argenté avec une texture plus rugueuse à large fissures pour les branches les plus matures (**Sabatier, 1999**). Les feuilles sont de 25 jusqu'à 40 centimètres de long, disposées en alternance, imparipennées avec 5 à 9 folioles, jumelé en alternance avec une foliole terminale. Les folioles les plus grandes sont les trois au sommet, elles mesurent de 10 à 18 cm de long et 6 - 8 cm de large; les paires des folioles basales sont les moins développée, et beaucoup plus petits, 5 à 8 cm de long (**Tajamul et al, 2014**) (**Fig.2**).

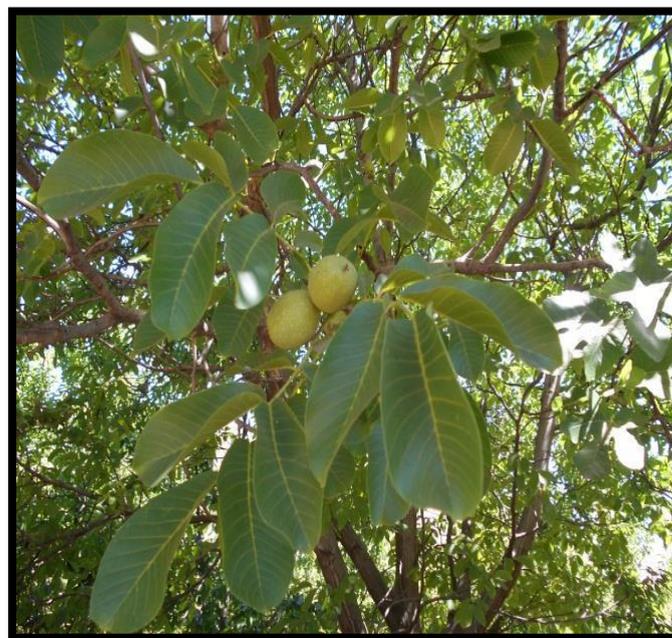


**Figure 02.** Description botanique de JR. (Bellabaci, 2016).

a) Arbre, b) Ecorce, c) Racines

### I.3.2 Les feuilles

Le noyer développe des feuilles caduques et alternes, composées de 7 à 9 folioles à bordure lisse qui peuvent chacune mesurer 15 cm de longueur (Bellabaci, 2016). La foliole terminale se continue avec le pétiole commun, tandis que les latérales, presque sessiles, alternent entre elles et sont, comme la première, penninerves : toutes, sauf les deux inférieures plus petites ont environ 6-10 centimètres de long sur 5 de large. Les jeunes feuilles sont tendres et présentent de petites touffes de poils implantés à l'aisselle des nervures secondaires (Fig.3). Les feuilles les plus âgées, au contraire, sont coriaces et glabres (Pouget, 1875)



**Figure 03.** Les feuilles du noyer commun (Rahmoun, 2016).

### I.3.3 Les fleurs

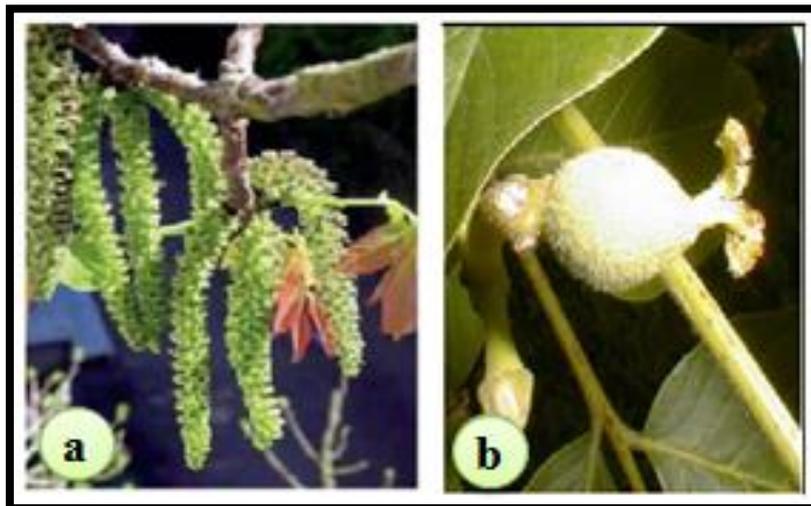
Chez le noyer les floraisons mâle et femelle se trouvent sur le même arbre unisexuées, sont monoïques (**Pouget, 1875**).

#### a) Les fleurs mâles

Sont portées sur de longs chatons simples, d'un vert brun. Il fleurit en avril ou en mai, avant la pousse des feuilles. Les chatons sont nettement reconnaissables à l'aisselle des feuilles. Les fleurs mâles (staminées) sont groupées en épis ou chatons allongés, elles comptent jusqu'à 36 étamines (**Jacoboni, 1996**) (**Fig.4a**)

#### b) Les fleurs femelles

Les fleurs femelles sont en épi, axillaires, presque sessiles, situées à l'extrémité des rameaux; involucre est uniflore, à limbe 3-4 fide ou 3-4 denté (**Pouget, 1875**). Comportant deux carpelles soudés entre eux avec 1 style court et 2 stigmates (**Barengo, 2001**) (**Fig.4b**).



**Figure 04.** Les fleurs de *Juglans regia* ; a) Fleure male

b) Fleure femelle (**Eisenman et al, 2013**)

### I.3.4 Fruits

Les fruits sont des drupes vertes, formées d'un brou charnu, contenant une coquille (noyau) à deux valves ligneuses, à l'intérieur de laquelle se trouve une amande réticulée, formée de deux cotylédons oléagineux (**Barengo, 2001**) (**Fig.5**).



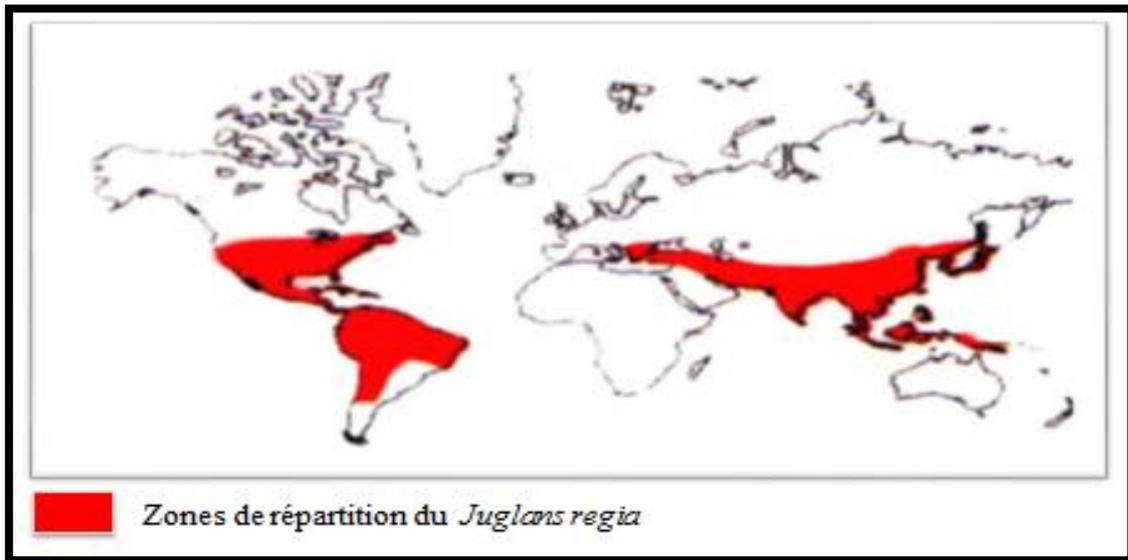
**Figure 05.** Fruits du noyer commun (Eisenman *et al*, 2013)

#### **I.4 Aire de répartition du noyer**

*Juglans regia* est originaire de la chaînes des montagnes de l'Asie centrale, qui s'étendant de la province de Xinjiang à l'ouest de la Chine, une partie du Kazakhstan, d'Ouzbékistan et du sud de Kirghizie, et à partir de la chaînes inférieurs des montagnes du Népal, le Bhoutan, le Tibet, le nord de l'Inde, le Pakistan et le Sri Lanka via l'Afghanistan, le Turkménistan et l'Iran à une partie de l'Azerbaïdjan, l'Arménie, la Géorgie et la Turquie orientale (**Fig.6**).

Dans ces pays, il y a une grande diversité génétique, en particulier les formes ancestrales avec la fructification latérale. Au cours de sa migration vers l'Europe occidentale, le noyer commun a perdu ce caractère, et il est devenu un grand arbre avec fructification terminale.

Une petite population restante de la forme originale de *J. regia* ont survie dans le sud de l'Europe, mais la majeure partie du matériel génétique sauvage trouvé dans la Péninsule balkanique et beaucoup plus en Turquie a été probablement introduit par le commerce et de la colonisation il y a plusieurs milliers d'années (**Tajamul *et al*, 2014**).



**Figure 06.** Distribution géographique du noyer (Tajamul *et al*, 2014, modifié).

#### I.4.1 En Algérie

Le noyer commun est une espèce forestière et fruitière d'une grande importance, du fait que ses fruits, son bois, son écorce et ses feuilles, trouvent une large utilisation dans la vie quotidienne algérienne (Chadda, 2008).

*Juglans regia* L. est cultivé traditionnellement, il se trouve souvent sous forme de peuplement dans différentes régions de l'Algérie constitués généralement d'hybrides naturels et sa culture n'a pas connue une grande extension car elle est confrontée à plusieurs problèmes entravant son développement (Vanier, 1999).

On le trouve principalement dans le massif de l'Aurès, les régions d'Annaba, de Sétif, la grande Kabylie, Tlemcen, Tebessa, Djelfa, Saïda, près de Sougueur au sud de Tiaret (Bonev, 1973). Il se trouve presque dans toutes les régions de Batna (Vanier, 1999) (Fig.7). Cependant, les surfaces plantées appartiennent généralement aux privés, par conséquent, il est pratiquement absent dans les statistiques officielles algériennes (Bonev, 1973).

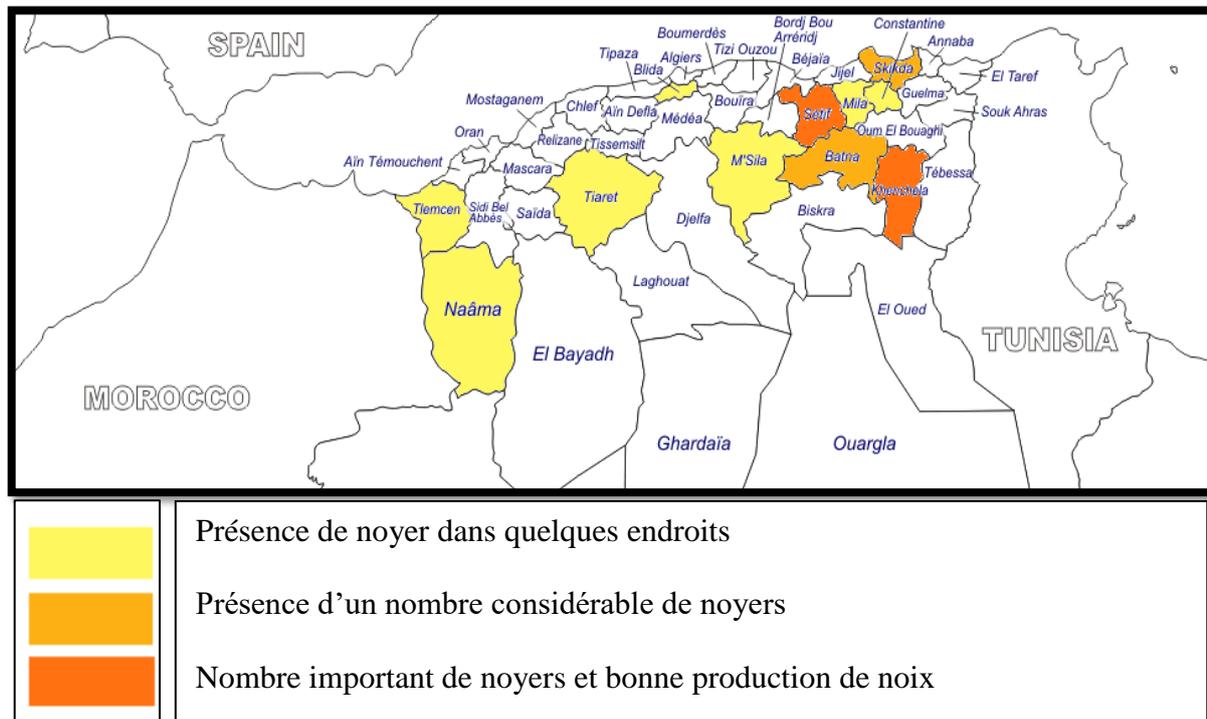


Figure 07. Carte de répartition du noyer en Algérie (source **INRF, 2010**, modifié)

## I.5 Ecologie de l'espèce

### I.5.1 Exigences climatiques

Le climat est le principal facteur de croissance pour cette espèce qui tolère cependant des conditions climatiques variées. Le noyer commun préfère les climats assez doux avec un air sec de type continental. Les climats frais et humides favorisent le développement de maladies fongiques. Il est exigeant en chaleur pendant la saison de végétation (6 mois avec  $T^{\circ} \text{ moy.} \geq 10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) ; résiste bien au froid, peut supporter  $-30 \text{ }^{\circ}\text{C}$  en plein hiver si le froid s'installe progressivement, notamment les premières années de végétation ; nécessite une saison de végétation minimale de 180 jours/an ; demande des précipitations supérieures à 700 mm/an et bien réparties ; est résistant à la sécheresse grâce à son enracinement pivotant : sur sol meuble, il peut aller chercher l'eau en profondeur, mais les précipitations minimales en période de végétation doivent rester supérieures à 100-150 mm (**Rahmoun, 2016**).

## I.5.2 Exigences édaphiques

Le noyer pousse dans tous les sols, il préfère les sols de texture Silico-argileuses, suffisamment perméables et profonds des terres schisteuses lui conviennent également. Il se développe mieux sur des sols neutres ( $6.5 < \text{pH} < 7.5$ ) à condition qu'ils ne soient pas érodés, marécageux ou à forte teneur en sel (Ounis *et al*, 2004) (Tab.I).

**Tableau I.** Exigences et sensibilités stationnelles pour le noyer commun (Becquey, 1997)

Critères		Noyer commun
<b>Sol</b>	Besoin en eau	Forts
	Sensibilité à l'engorgement temporaire	Forte
	Besoins en éléments nutritifs	Forts
	Sensibilité au calcaire actif	Faible
<b>Climat</b>	Exigence en chaleur	Forte
	Exigence en précipitations (pendant la saison de végétation)	Moyenne
	Sensibilité au froid	Moyenne
	Sensibilité aux gelées tardives	Moyenne
	Sensibilité aux gelées précoces	Forte
	Sensibilité au vent	Moyenne
	Sensibilité à la sécheresse	Faible
<b>Lumière</b>	Sensibilité à la concurrence pour la lumière	Forte
	Tendance au phototropisme	Forte

## I.6 Composition chimique

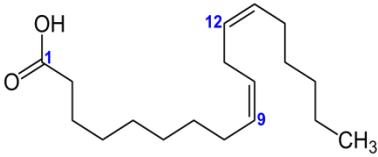
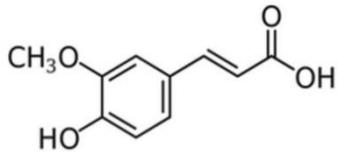
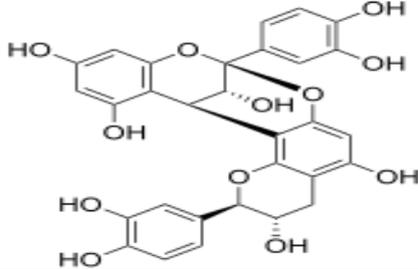
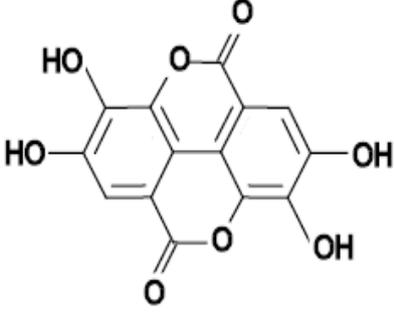
### I.6.1 Les fruits

Ils sont consommables et sont riches en acides gras insaturés (**Nabavi et al, 2011**). En effet le constituant principal des fruits est la matière grasseuse qui représente un taux allant de 78,83% à 82,14%, soit la valeur nutritionnelle autour de 720kcal pour 100g de fruits. L'acide linoléique est le principal acide gras avec une valeur maximale de 60,30%, pour certaines souches, suivie d'acides oléique, linoléique et d'acide palmitique (**Pereira et al, 2008**). Légèrement astringent, le goût de fruit de noix a été associé à la présence de composés phénoliques. La plupart des composés phénoliques généralement identifiés dans la noix sont des acides phénoliques et des tanins condensés. La haute concentration des composés phénoliques se trouve dans la coque (la pellicule qui entoure le grain). Les noix fournissent des quantités appréciables de protéines (en hausse de 24 % du poids de graine de noix), des glucides (12- 16 %) fibre (1.5-2 %) et minéraux (1.7-2%) (**Santos, 2013**).

### I.6.2 Les feuilles

Elles laissent échapper une odeur aromatique et possèdent une saveur amère et astringente. Elles contiennent une huile essentielle de couleur jaune verdâtre, une matière acre appelée "juglandine" et une matière sucrée. Des Naphtoquinones dont la juglone (5-hydroxy-1,4 Etude bibliographique 25 naphtoquinone) engendrée par oxydation de l'hydrojuglone est le principe actif le plus important pour ce végétal et il s'apparente à la lawsone (**Ait Youssef, 2006**). Le saccharose est le sucre le plus abondant dans les feuilles avec une concentration de 5.79g pour 100g de feuilles (**Kale et al, 2010**). Les feuilles sont aussi riches en tanins hydrosolubles (3 à 4 % de tanins gallique et catéchiques) (**Hazebroucq et al, 1993 ; Ait Youssef, 2006**). On note aussi la présence des hétérosides de flavonols (hypéroside, junglanoside), des acides phénols, des sérotonines graines : - acides gras insaturés : acide linoléique et linoléique, inosite, carotène, pyrogallol (**Tab.II**).

Tableau II. Principaux constituants chimique des fruits et feuilles du noyer commun

Partie de l'arbre	Composants principaux	Structure
<b>-Fruit</b>	-Acide gras insaturé : +++ Acide linoléique (Pereira <i>et al</i> , 2008)	
	-Acides phénoliques (Santos, 2013)	
	-Tannin condensé (Santos, 2013)	
	-Glucides -protéines -Vitamines : +++ E et B -Minéraux : +++ potassium, phosphore et magnésium (Santos, 2013)	
<b>- Feuilles</b>	-Tanin hydrosoluble (Hazebroucq <i>et al</i> , 1993 ; Ait Youssef, 2006)	

	<p>-Naphtoquinones : +++ juglone et hydrojuglone (Ait Youssef, 2006).</p>	<p>GLUCOSIDE      α-HYDROJUGLONE      JUGLONE</p>
	<p>-Flavoides</p>	
	<p>-Acide phénolique : +++ acide parahydroxybenzoïque</p>	
	<p>-Acide gras insaturé</p>	

## I.7 Utilisations du noyer commun

### I.7.1 Coques

Les coques de noix furent, à une époque, utilisées comme combustible. De plus, elles étaient autrefois utilisées en boulangerie, réduites en poudre et étalée sur la sole des fours à bois pour éviter que le pain n'attache à la cuisson (Carlanucchia ,2010). Dans la pharmacopée chinoise, les cloisons des noix sont prescrites pour traiter les problèmes urinaires (hématurie, incontinence) et pour la dysenterie (Bonhomme, 2019).

### I.7.2 Brou

En ébénisterie, le brou de noix est utilisé pour colorer les bois blancs. En effet, les coques vertes, une fois séchées, prennent une couleur marron foncé. Dans l'Antiquité, le brou de noix servait également à colorer les laines, les tissus, le cuir et les cheveux. En outre, ce produit était prisé par de nombreux peintres : il reste d'ailleurs aussi présent dans l'aquarelle et la calligraphie. Le brou de noix riche en tanins était également très employé autrefois dans le tannage des peaux (Bonhomme, 2019).

### I.7.3 Noix

Les noix fraîches ou sèches peuvent se consommer directement comme fruits secs. On les casse à l'aide d'un casse-noix. L'amande de noix constitue un aliment riche (eau, matières azotées, amidon, sucre); la composition moyenne d'amande est de 625 calories pour 100g (**Ounis et al, 1996**). Les cerneaux sont utilisés en cuisine (décoration de salades), et en pâtisserie (tartes, gâteaux). On peut également préparer de la confiture de noix. Les noix entrent également dans la composition de divers produits : pain aux noix, fromageux noix, miel aux noix, confiserie, charcuterie, liqueur, apéritif... Dans la médecine traditionnelle iranienne, le noyau était utilisé pour traiter les maladies inflammatoires intestinales (**Jaiswal et al, 2017**).

### I.7.4 Feuilles

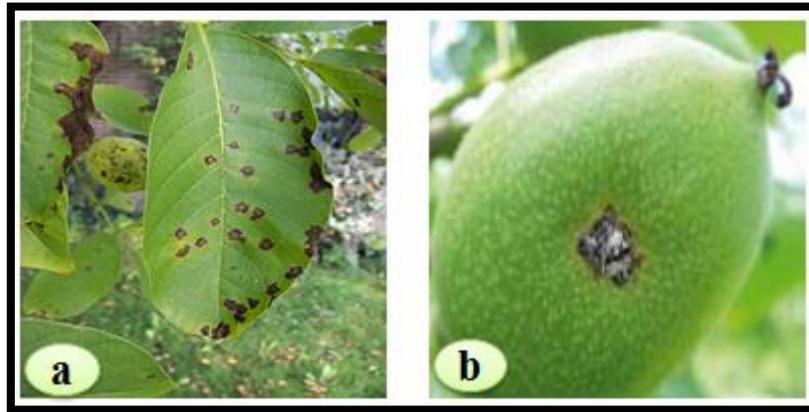
Les feuilles, quant à elles, riches en juglone, sont utilisées pour éloigner les insectes et comme herbicide (**Carlanucchia, 2010**). Au début du XIX<sup>ème</sup> siècle, les feuilles de noyer étaient reconnues pour leur propriété antiscrofuleuse. La scrofule est une inflammation des ganglions. Elles étaient notamment utilisées contre l'adénite suppurante dans la tuberculose ganglionnaire en infusion et en cataplasme. Cependant, l'action du traitement était lente bien qu'assez fidèle, la guérison ayant lieu dans les  $\frac{3}{4}$  des cas. Dans la médecine populaire turque, des feuilles fraîches de JR sont utilisées sur le front pour soulager la fièvre et sur les articulations pour atténuer les douleurs dues aux rhumatismes. Les tribus Angami, Lotha et Sumi de Kohima (capitale de l'Etat du Nagaland) utilisaient les feuilles comme astringents, antihelminthiques et contre l'herpès (**Jaiswal et al, 2017**).

## I.8 Microflore d'altération du noyer commun

Le noyer est principalement touché par les maladies suivant :

### I.8.1 Anthracnose

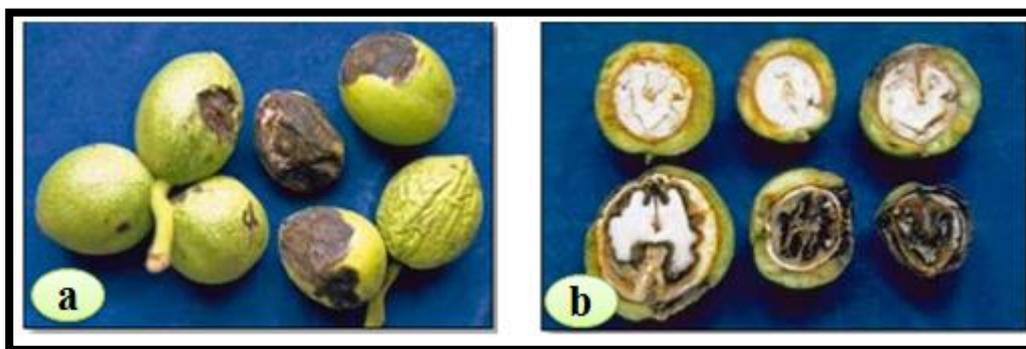
Due à champignon, *Gnomonia leptostyla*, cette maladie se développe par un temps froid et humide les arbres vigoureux se révèlent plus sensibles : taches brunes sur les feuilles, les rameaux ou les fruits (**Bellabaci, 2016**) (**Fig.8**).



**Figure 08.** Anthracnose : a) sur feuilles ; b) sur fruits (Giraud *et al*, 2011)

### I.8.2 Bactériose

Bien plus tôt dans la saison, la bactérie *Xanthomonas arboricola* pv *juglandis* peut également infecter les noyers. On observe tout d'abord sur les feuilles des taches anguleuses brun-noir et limitées par les nervures, qui sont rarement atteintes dans un premier temps. Plus tard, des symptômes apparaissent également sur la peau du brou sous forme de taches noires irrégulières, tout d'abord visqueuses et humides, puis séchant par plaques (Rüegg *et al*, 1993) (Fig.9).



**Figure 09.** Bactériose du noyer : a) Sur la peau du brou ; b) Dégâts observé en coupe (Rüegg *et al*, 1993).

### I.8.3 Le pourridié

Sur les racines, l'armillaire provoque le brunissement puis le noircissement de l'écorce. Des mycéliums blancs apparaissent sous l'écorce des racines atteintes les feuilles jaunissent, l'arbre s'affaiblit, les noix deviennent plus petites, la production diminue (Bellabaci, 2016).

**I.9 Procédés de traitement****I.9.1 Lutte contre l'anthracnose**

Une lutte biologique préventive est possible par une décoction à base de prêle ou d'ail, ou grâce à du purin de consoude ou d'ortie, en pulvérisation toutes les deux semaines. La lutte chimique se fait grâce aux fongicides simples, comme le mancozèbe par exemple **(Rahmoun, 2016)**.

**I.9.2 Lutte contre le bactériose**

Pour la lutte, il faut pulvériser un antibiotique (streptomycine terramycine) avec une dose de 2 à 5g/l dans une bouillie bordelaise très basique **(Rahmoun, 2016)**.

**I.9.3 Lutte contre le pourridié**

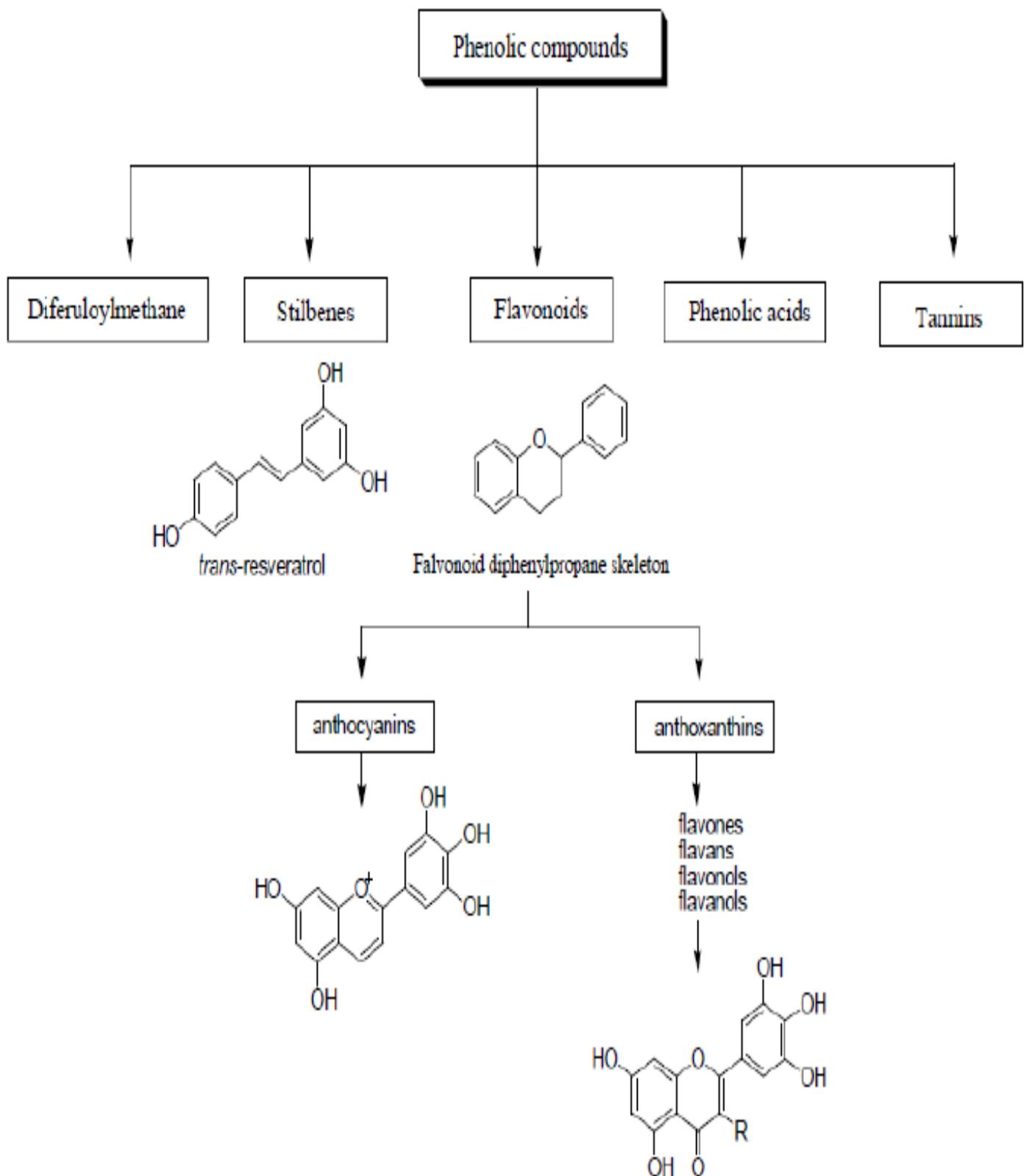
Il n'existe aucun moyen de lutte curatif véritablement efficace. La seule lutte est préventive. Éviter de planter dans des terrains infestés par le pourridié. Le déclenchement de cette maladie est subordonné à la présence de bois mort dans le sol. Aussi, après l'arrachage d'une culture arbustive (forets, verger). Il faut nettoyer le sol et enlever tous les débris ligneux. Si cette opération est mal faite, les racines oubliées vont devenir des réservoirs d'inoculum. Dans les terrains atteints par le pourridié Il faut attendre plusieurs années après avoir soigneusement enlevé **(Bellabaci, 2016)**.

## II. Mode d'action des biomolécules

Les fruits et les légumes présentent plusieurs intérêt, faible densité énergétique, apport de fibres, minéraux et vitamine, mais ils sont aussi source d'une grande variété de composés bioactifs appelés phyto micronutriments (**Holst *et al*, 2008**).

Parmi ces phyto micronutriments, les polyphénols sont de loin les plus abondants et les plus consommés. Au cours des dix dernières années, ils ont d'ailleurs fait l'objet d'un fort engouement de l'industrie agroalimentaire et de la communauté scientifique, avec des résultats qui mettent en exigüe les effets santé potentiel associés à ces composés, notamment en lien avec la protection vasculaire (**Williamson *et al*, 2005**).

Les polyphénols sont des métabolites secondaire des plantes (**Salas *et al*, 2010**). Élaborés par la voie de shikimate et caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide (**Charpentier *et al*, 2006**). Ces phyto nutriments sont responsables de la pigmentation (teinte des feuilles, couleur des fruits et des fleurs) (**Serrano *et al*, 2010**) et jouent également un rôle dans la croissance, la reproduction et la protection des plantes contre les agressions pathogènes (**Drewnoski *et al*, 2000**). Ils sont communément subdivisés en phénols simple, acides phénoliques, coumarine, naphtoquinones, stilbénoides, flavonoïdes, isoflavonoides, et en anthocyanes. Les formes polymérisées sont les lignanes et les tanins condensés (**Salas *et al*, 2010**) (**Fig.9**).



**Figure 10.** Classification des polyphénols alimentaires (Xiuzhen *et al*, 2007)

## II.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques se sont des composés phénoliques non flavonoïdes divisés en deux groupes principaux, les dérivés de l'acide hydroxy benzoïque et les dérivés de l'acide hydroxycinnamoïque (**Adom *et al*, 2002**)

Des données antérieures ont révélé la présence de différents acides phénoliques dont ; l'acide parahydroxybenzoïque, vanillique, genistique, protocatechuique, paracoumarique, caféique, gallique, acide chlorogénique, et néo-chloroénique (**Luczak *et al*, 1989 ; Blumenthal, 2000**).

## II.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, ce sont des pigments responsables de coloration jaune, orange et rouge de différents organes de végétaux (**Ghedira, 2005**).

Les flavonoïdes sont classés en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavanones, les flavonols, les flavones, les isoflavones et les anthocyanes (**Tsao, 2010**).

Les feuilles contiennent environ 3,4 % des flavonoïdes principalement sous forme de quercétine (**Carnat *et al*, 1993; Wichtl 2004**), répartis respectivement à environ 0,6% d'hypéroside (quercétine 3-O-galactoside) (**Carnat *et al*, 1993**), entre 0,2 et 0,6% de quercétine 3-O-rhamnoside (**Wichtl, 2004**). Plusieurs autres flavonoïdes comme la quercétine 3-galactoside, quercétine 3-arabinoside, quercétine 3-xyloside, quercétine 3-rhamnoside et deux autres partiellement identifiées ; la quercétine 3-pentosides et le kaempférol ont été détectés (**Amaral *et al*, 2004 ; Liu *et al*, 2004**).

La quantification des composés flavonoïdes dans la vérité de noyer cultivé en Portugal effectuée par HPLC-DAD, a révélé que les flavonols étaient toujours les principaux composés, variant entre 54,8 % et 62,9 % du total des composés phénoliques, tandis que la quercétine 3-galactoside était toujours le principal constituant (**Pereira *et al*, 2007**).

## II.3 Anthocyanosides

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits. Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (les anthocyanosides). Leurs génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylium. Ces pigments représentent des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs (insectes, oiseaux) (**Bahorun, 1997**).

## II.4 Les tanins

Les feuilles contiennent environ 10 % de tanins du type ellagitanins (**Blumenthal, 2000**), et pas moins de 2% de tanins pyrogallo (**Wichtl, 2004**).

Les tanins sont des composés polyphénoliques ayant la propriété de tanner la peau c'est-à-dire de la rendre dure et imputrescible en se fixant sur les protéines, la masse moléculaire des tanins peut aller jusqu'à 20000 daltons (**Haslam, 1989**).

### II.4.1 Tanin hydrolysables

Il se compose de deux sous-groupes qui sont les tanins gallique et les tanins ellagique. En fait, le terme « ellagique » concerne l'unité de base. Ce sont des esters d'un sucre ou d'un polyol apparenté et d'un nombre variable de molécules d'acides phénols. Les acides phénols en question sont l'acide gallique et l'acide ellagique (**Dharmananda, 2003**).

### II.4.2 Tanin condensé ou catéchique ou proanthocyanidols

Ce sont des polymères flavanique constitué d'unité flavan-3-ols, également appelée « catéchine ou epicatechine » (**Oyenih et al, 2014**).

## II.5 Les coumarines :

Constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : *Légumineuses*, *Rutacées*, *Apiécées*, et *Thymeleacées*. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (**Guignard, 1998 ; Deina et al, 2003 ; Booth et al, 2004**)

Les coumarines tirent leurs noms de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipteriodorota* Wild, Fabaceae) d'où fut isolée en 1982 (**Bruneton, 1993**).

## II.6 Autres composés secondaires

### II.6.1 Les alcaloïdes

Parmi les premiers produits naturels isolés des plantes médicinales ; les alcaloïdes (Schauenberg *et al*, 2005), ils forment un vaste groupe de métabolites secondaires (El Tahchy, 2010), qui ont eu un impact majeur dans l'histoire médicale de l'homme (Al-Fartosy, 2013).

Un alcaloïde est un composé organique hétérocyclique d'origine naturelle, azoté, plus ou moins basique (Ameyaw *et al*, 2009), de distribution restreinte et dotés, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées (El Tahchy, 2010). Ils constituent une classe présentant une grande diversité structurale (Muniz, 2006). Ils se produisent normalement dans la plante sous forme de sels ou de bases libres ou en combinaison (avec les tanins en particulier) (Breneton, 1999 ; Kashani, 2012).

### II.6.2 Les saponosides

Le terme saponoside est dérivé de mot « savon », sont des terpènes glycolyses comme ils peuvent aussi se trouver sous forme aglycones, ils ont un gout amer et ancre (Hopkins, 2003). Ils se trouvent sous forme amorphe et sont solubles dans les solvants organiques polaires et l'eau. Ils sont pratiquement insolubles dans les solvants organiques apolaires. Leur point de fusion est compris entre 200°C et 300°C (Dohou *et al*, 2003). Actuellement, les recherches montrent que les saponosides isolés à partir des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle, possèdent des propriétés antibactérienne et antifongique (Bouhadjera, 2005).

## II.7 Activités biologiques

Les métabolites secondaires constituent une grande classe chimique, ils disposent une extrême variété biologique (Queiroz *et al*, 2005) (Tab.III).

Tableau III. Activité biologique de quelque métabolite secondaire

Métabolites secondaires	Les composés	Activité
Les polyphénols	Acides phénoliques	Antibactérien ( <b>Cowan, 1999</b> ) Antifongique ( <b>Lattanzio et al, 2007</b> ) Antioxydant ( <b>Bouayed et al, 2007</b> )
	Les flavonoïdes	Antibactérien ( <b>Harikrishna et al, 2004</b> ) Antifongique ( <b>Afolayan et al, 1997</b> )
	Les tanins	Antibactérien ( <b>Chung et al, 1998</b> ) Antioxydant ( <b>Macheix et al, 2005</b> )
	Les coumarines	Antifongique ( <b>Cottiglia et al, 2001; Khan et al, 2005 ; Laure, 2005</b> )
Les Composés azotés	Les alcaloïdes	Antibactérien ( <b>Karou, 2006</b> ) Antioxydante ( <b>Karou, 2006</b> )
Les composés terpéniques	Les saponosides	Antibactérien ( <b>Bouhadjera, 2005</b> ) Antifongique ( <b>Bouhadjera, 2005</b> )

### II.7.1 Activité antioxydant

Le terme «antioxydant » a été formulé comme une substance qui en faible concentrations, en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats (**Vansant, 2004**).

Le potentiel antioxydant des extraits d'acétate d'éthyle, butanol, méthanol et d'éther de pétrole de *J. regia* a été mesuré par différentes méthodes telles que la réduction d'activité, la méthode des radicaux de DPPH et la méthode de l'inhibition d'oxydation des lipides par le système  $\beta$ -Carotène. Tous les extraits ont montré une forte activité antioxydants (**Almeida et al, 2008; Oliveira et al, 2008 ; Pereira et al, 2008 ; Zhang et al, 2009 ; Abbasi et al, 2010 ; Carvalho et al, 2010 ; Rahimipanah et al, 2010 ; Qamar et al, 2011**).

Les noix des noyers sont riches en composés phénoliques qui possèdent des propriétés antioxydantes. Plus le contenu en phénols est élevé, plus l'action antioxydante sera importante. (**Qamar et al, 2011**).

Les polyphénols alimentaire ont été largement étudiées pour leurs fortes capacités antioxydantes et d'autres propriété par lesquelles les activités cellulaires sont réglementés plusieurs études ont montrés que les polyphenols en particulier, sont le contributeur prédominant de la totalité des activités antioxydantes dans les fruits, plutôt que de la vitamine C et que les polyphenols sont des antioxydants très puissants car ils peuvent neutraliser les radicaux libre en donnant un atome d'électron ou d'hydrogène (**Xiuzhen et al, 2007**) du point de vue chimique, une fois les molécules de polyphenoles cède un atome d'électron ou d'hydrogène elles deviennent elles-mêmes des radicaux libre, donc en cas de concentration très élevées, ils peuvent potentiellement causer des activités pro oxydante. Cependant, si oui ou non cette activité pro oxydante se produit in vivo et cause des dommages à la santé humaine (**Halliwell et al, 2008**).

### **II.7.2 Activité anti helminthe**

Les noyers font partie des plantes qui possèdent des propriétés antihelminthiques. En effet, les polyphénols et tanins qui sont présents en fortes concentrations dans le noyer, ont la capacité de paralyser et d'induire la mort des helminthes. Une étude a notamment permis de mettre en évidence que différents extraits de *Juglans regia* avaient une activité helminthique significative contre *Eisenia fetida* ou ver du fumier par rapport à l'étalon d'albendazole. (**Asha et al, 2011**).

### **II.7.3 Activité anti inflammatoire**

De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athéro sclérosique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires d'autres sont capables d'inhiber l'histamine (**Haioun, 2015**).

## II.7.4 Activité antimicrobienne

### II.7.4.1 Activité antibactérienne

Le noyer possède un large spectre d'activité antibactérienne contre les bactéries Gram+ et Gram-. Sur les Gram + on retrouve notamment une activité antibactérienne sur *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, et *Enterococcus faecalis*. Sur les Gram – on retrouve notamment une activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* et *Proteus sp.* (Aissi *et al*, 2014 ; Gülçin *et al*, 2003 ;Bennacer *et al*, 2017).

Ce sont les flavonoïdes qui permettent notamment au noyer d'avoir une action antimicrobienne. En effet, celle-ci est attribuée à la fonction phénolique. Cette activité est censée augmenter avec le nombre de substituant hydroxyles (R-OH), méthoxyles (R-O-CH<sub>3</sub>) ou glucosyles. Les structures les plus efficaces étant les flavones et les flavanones. Plusieurs hypothèses sont proposées pour expliquer l'effet antimicrobien des flavonoïdes :

- Inhibition de la synthèse d'acide nucléique
- Inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique
- Séquestration du substrat nécessaire à la croissance microbienne et inhibition du métabolisme énergétique microbien.

Les tannins possèdent également une activité antimicrobienne ; en effet on peut observer une activité bactériostatique sur *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Clostridium botulinum* (Aissi *et al*, 2014).

### II.7.4.2 Activité antivirale

On retrouve également des propriétés antivirales. Il a été prouvé que les extraits méthanolique de *Juglans regia* avaient une activité antivirale contre les 3 virus testés : *Herpès simplex virus* (HSV), *Sindbis virus* (virus transmis par les moustiques *Culex* qui provoque des fièvres, des malaises, des arthralgies et un exanthème) et le *poliovirus* (polyomyélite) (Mouhadjir *et al*, 2001).

Dans une autre étude, on a pu constater que les flavonoïdes avaient une interaction sélective avec une glycoprotéine de surface (gp120) du rétrovirus HIV ce qui empêcherait la liaison du virus à la cellule hôte. De plus, certaines flavones inhibent in vitro des transcriptases inverses de certains rétrovirus et notamment celle du VIH (Naheed *et al*, 1993).

Il a été prouvé que les extraits d'éthanol et d'acétate d'éthyle de *Juglans regia*, inhibent jusqu'à 95% du virus de mosaïque de tabac (Mei-zhi *et al*, 2007). Alors que l'extrait méthanolique inhibe le virus Sindbis à une concentration minimale de 1,5 µg/ml (Mouhajir *et al*, 2001).

#### II.7.4.3 Activité antifongique

Les feuilles et l'écorce de *Juglans regia* présentent une forte activité antifongique contre un large spectre de champignons notamment sur *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata* (Aissi *et al*, 2014).

Les tannins présents dans le noyer possèdent une activité antifongique sur *Aspergillus niger*, sur le genre *Penicillium* et *Colletotri chumgraminicola*. Les flavanoïdes possèdent également une forte activité antifongique : ils ont la capacité d'inhiber la germination des spores pathogènes. En effet, une étude sur les flavones et les flavanones a permis de mettre en évidence une activité contre *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium phareospermum*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum*. *Aspergillus flavus* est notamment retrouvé chez les sujets immunodéprimés et causent de graves affections pulmonaires (Aissi *et al*, 2014 ; Afolayan, 1997).

Une autre étude a permis de montrer que *Juglans regia* avait une forte activité antifongique contre les dermatophytes notamment *Microsporium canis*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Trichophyton violaceum* (Ali-Shtayeh *et al*, 1999).

### II.7.5 Effets thérapeutique

Une étude réalisée en 2004, par l'institut des recherches fondamentales en déficiences intellectuelles (OMRDD) a révélé qu'un extrait méthanolique de *Jugulans regia* était capables d'inhiber et dé-fibrillaire la protéine  $\beta$  amyloïde fibrillaire, le principal composant de plaques séniles dans le cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer (**Zhang et al, 2009**).

Il s'y avéré également que les extraits de la plante possèdent une activité anticancéreuse. En effet, l'extrait méthanolique des feuillies et écorces de *J. regia* a montré un pouvoir d'inhibition de la croissance des cellules A-498, et 769-P du cancer rénal humain et les cellules Caco-2 de cancer du côlon. Tous les autres extraits testés exposés une similaires inhibition de l'activité de croissance des cellules cancéreuses 498 de l'insuffisance rénale (**Carvalho et al, 2010**).

*Jugulans regia* présente aussi une activité antidiabétique, (**Fukuda et al, 2004**) ont montré une forte activité inhibitrice des poly-phénols et autres composants poly-phénoliques comme la casuarictin, tellimagradin I et tellimagradin II contrer des différents enzymes comme glycosidase, maltase et amylase. Outre les conclusions ci-dessus, les chercheurs ont également remarqué un effet descente de triglycérides et de peroxyde d'urine en diabète héréditaire de type II (**Teimori et al, 2010**).

Les extrais de benzène, de méthanol et d'éthanol de l'écorce de *J. regia* sont dotés d'une importants activité anthelminthique contre les vers de terre *Pheretima posthuma*, comparable à celle du médicament standard prescrit dans ce genre de cas le citrate de pipérazine (**Upadhyay et al, 2011**).

De nombreuses études montrent que les extraits de *J. regia* présentent différentes autres activités comme l'activité anti-inflammatoire, anti-dépressif, hypo triglycériémique, et hépato-protective (**Rath et Pradhan, 1992 ; Erdemoglu, et al, 2003 ; Hiroshi et al, 2006 ; Mokhtari et al, 2008**).

# **Chapitre II**

## **Matériel et méthodes**

### Chapitre II. Matériel et méthodes

Le présent travail porte sur l'évaluation in vitro de l'activité antifongique des extraits de feuilles du noyer commun (*Juglans regias*)

#### II-1- Matériel.

##### II-1-1- Matériel biologique.

##### II-1-1-1- Matériel végétal.

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes du noyer commun (*Juglans regias*) collectées dans la région de Blida.

##### II-1-1-2-Microorganismes

Les souches sont entretenues par repiquage sur milieux nutritif favorable à leur croissance (Sabouraud pour les bactéries et PDA pour les champignons) pendant 48h à 27°C. Les caractéristiques sont développées en annexe 1.

**Tableau IV** : Les différentes souches testées et leurs familles

Souches	Famille	ATCC (référence)	Source
<i>Escherichia coli</i>	Enterobacteriaceae	ATCC25922	Collection laboratoire de recherche
<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylococcaceae	ATCC25923	
<i>Aspergillus flavus</i>	Trichomaceae	/	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Trichomaceae	/	
<i>Aspergillus niger</i>	Trichomaceae	/	
<i>Mucor sp</i>	Mucoraceae	/	

##### II-1-2- Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé pour réaliser cette étude est composé de verrerie, d'équipements, d'appareils. Il comprend aussi un ensemble de réactifs et produits chimiques  
Annexe 2

#### II-2-1- Méthode de caractérisation

##### II-2-1-1- Préparation de la matière végétale.

Les feuilles fraîchement récoltées sont séchées à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 3 à 4 semaines. Une fois séchées, les feuilles sont broyées à l'aide d'un broyeur maison de marque « Moulinex ». Une poudre plus ou moins fine est obtenue.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

Après pesage à l'aide d'une balance analytique (De marque KERN), environ 200 g de poudre de feuilles de noyer commun ont été obtenus. La poudre ainsi obtenue est conservée dans un bocal hermétique à l'abri de la lumière et l'humidité



(A)

(B)

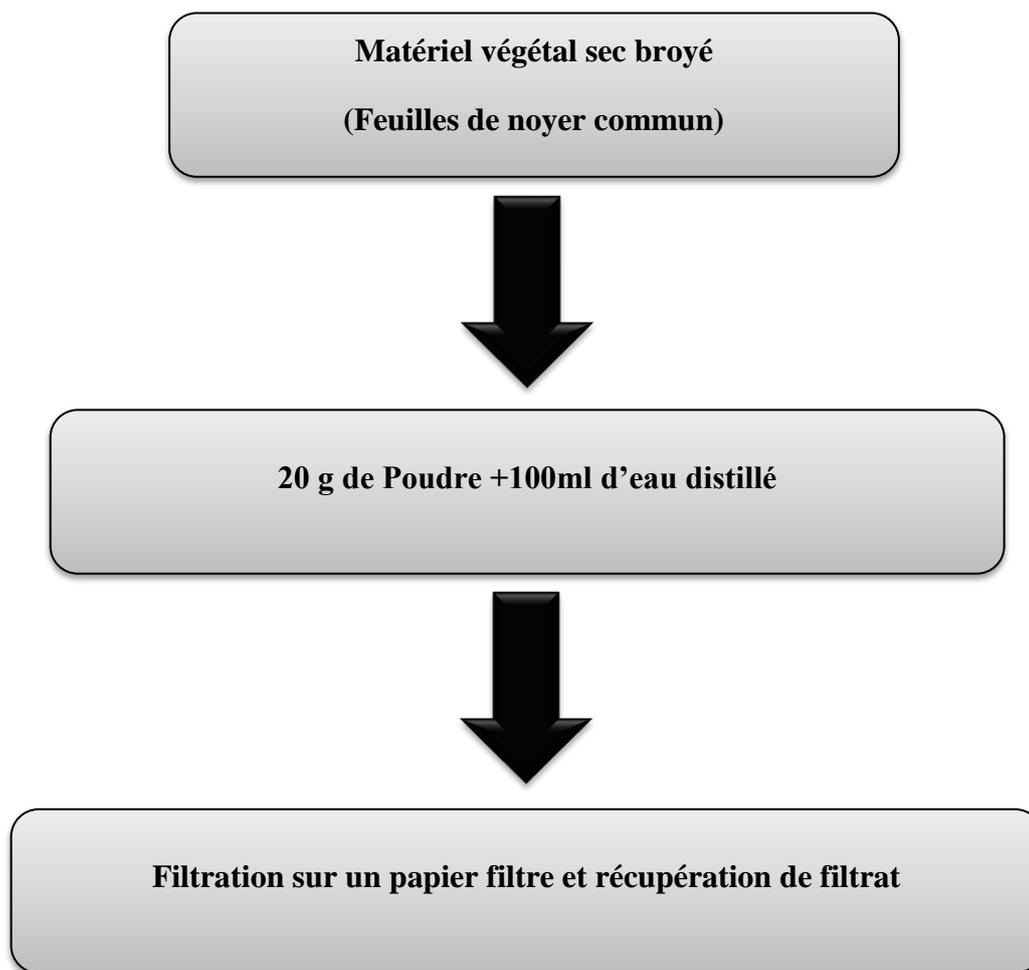
**Figure 11.** **A.** Feuilles de *Juglans regia* séchées. **B.** Poudre des feuilles de noyer commun

### II-2-1-2-Caractérisation phytochimiques.

Dans le but de connaître la composition polyphénolique de notre plante, des tests phytochimiques sont réalisés en présence de certains réactifs de caractérisation.

#### a. Préparation de l'infusé

- ✓ Nous avons versé 100 ml d'eau distillée chaude sur 20g de poudre de la plante déposée au fond d'un Becher.
- ✓ Après refroidissement et filtration, le filtrat résultant est complété par l'eau distillée jusqu'à 100 ml.



**Figure 12:** Protocole de préparation de l'extrait aqueux

### **b. Le screening chimique**

Les tests phytochimiques effectués sur les feuilles du noyer commun (*Juglans regias*) sont résumés dans le tableau suivant.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

**Tableau V.** Les molécules recherchées, réactions de caractérisation et les résultats attendus (Trease et Evans, 1989 ; Harborne, 1998)

Type d'échantillon	Composé mis en évidence		Réactifs ajoutés	Résultat positif	
Infusé	Composé Phénoliques	Tanins	<b>Totaux</b>	5 ml de l'infusé + quelques gouttes de FeCl <sub>3</sub> à 5%.	Coloration bleue noire
			<b>Galliques</b>	5 ml de l'infusé + 2g d'acétate de sodium + quelques gouttes de FeCl <sub>3</sub>	Coloration bleu foncé
			<b>Catéchiques</b>	15 ml d'infusé + 10 ml du formol à 40% + 5ml d'HCl concentré	Coloration rouge
			<b>Flavonoïde</b>	5 ml d'infusé + 5ml d'HCl + coupeau de Mg + 1 ml d'alcool isoamylique	Coloration rouge-orangé
			<b>Anthocyanes</b>	5 ml d'infusé + quelques gouttes d'HCl	Coloration rouge
	Composés réductifs		<b>Mucilages</b>	1 ml d'infusé + 5 ml d'alcool 100° (éthanol) et laissés 10 mn	Un précipité floconneux
	Composés glucosides		<b>Iridoides</b>	Chauffé 2 ml d'infusé + quelques gouttes de HCL	Coloration bleue
	Composés terpéniques		<b>Saponosides</b>	2ml d'infusé + quelques gouttes d'acétate de plomb	Formation d'un précipité blanc
	<b>Polyphénoles</b>			2ml d'infusé+une goutte de FeCl <sub>3</sub> à 2%	Une coloration bleue noire ou vert foncé
	<b>Caroténoïdes</b>			10ml d'infuse + 3ml de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Une coloration vert bleu
	<b>Leuco-anthocyanes</b>			Rajoute 2g de poudre dans 20ml d'un mélange de propanole, le mélange et porte en Bain-marie bouillant pendant quelque minute.	Une coloration rouge

## Chapitre II : Matériel et méthodes

<b>Poudre</b>	<b>Alcaloïdes</b>		5g de poudre macérés dans 20 ml de l'eau distillée pendant 24 h + après filtration on ajoute quelques gouttes de Dragendroff.	Coloration rouge.
	<b>Coumarines</b>		2g de poudre sont bouillies a reflux dans 20ml d'alcool éthylique pendant 15 minute, puis filtrés. Le filtrat obtenu est mélangé avec 5 gouttes d'hydroxydes de potassium (KOH) à 10% et quelque goutte d'HCL à 10%.	Formation d'un trouble.
	<b>Quinones</b>		2g de poudre sont humectés avec 2ml d'HCL puis ajout 20ml de chloroforme après 3h le filtra récupéré est agité avec 5ml d'ammoniaque a 50%.	Formation d'une coloration rouge
	<b>Protéines</b>		1g de poudre végétale est dissout dans 2ml d'hydroxyle de sodium (NaOH) à 20% rajouté quelque gouttes de CuSO <sub>4</sub> à 2%.	Une coloration violette avec une teinte rougeâtre.
	<b>Lipoïdes</b>		Macérer 5 g de poudre dans 30 minute puis on filtre, on évapore le filtrat sur la plaque chauffante, ajoute au résidu grassex 3 goutte de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .	Une coloration violette
	<b>Glucosides</b>		2g de poudre +quelque goutte d'acide sulfurique (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ).	La formation d'une coloration rouge brique.
	<b>Amidon</b>		2 g de poudre +quelques gouttes d'iode.	La formation d'une coloration violette.

### II-2-3-Caractérisation physico-chimique

#### ✓ Détermination de l'humidité

La teneur en eau dans les plantes médicinales est l'un des indices important qui caractérise la bonne qualité de celle-ci. (**Bernardet, 1983**).on calcule le taux d'humidité afin d'obtenir la vraie masse de la matière végétale utilisée.

#### Méthode pondérale.

La détermination de la matière sèche a été réalisée juste à l'arrivée des échantillons au laboratoire. La dessiccation été réalisée par évaporation à  $103 \pm 2$  °C dans une étuve pendant 24h. La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subie lors de la dessiccation (**Audigie et al, 1978**).

La détermination de la teneur en eau se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la dessiccation selon la formule suivante.

$$H\% = \frac{M1 - M2}{P} \times 100$$

H% : Teneur en eau.

M1 : masse en g avant étuvage (échantillon + capsule).

M2 : masse en g avant de l'ensemble après étuvage.

P : masse en g de la prise d'essai.

$$\text{La matière sèche (MS) \%} = 100 - H\%$$

#### ✓ Dosage des cendres

Elle caractérise la quantité de substances résiduelles non volatilisées lorsque l'échantillon de drogue est complètement calciné (**Paris, 1976**).

#### Principe :

Les méthodes de détermination de taux de cendres basés sur le principe de l'incinération dans des conditions strictement définis, d'une masse contenus dans l'échantillon.

**Mode opératoire :** la teneur en cendres est déterminée par la peser des résidus obtenus par incinération d'une prise d'essai dans une atmosphère oxydant à une température de 900° jusqu'à combustion complète de la matière organique. On détermine également la teneur en eau de l'échantillon séparé selon la norme **ISO 712**.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

Le dosage des cendres a été réalisé selon les étapes suivantes :

**1/ Nacelles d'incinération** : étant donné le poids très faible des cendres après incinération la masse de la nacelle ne doit absolument pas varier lors de l'incinération et pendant les chocs thermiques. Les nacelles en quartz ou silice peuvent être employés pour la méthode à 550°C. Il convient de choisir des nacelles rectangulaires à fond plat et de forme basse.

### 2/ Four électrique

- a) Vérifier la géographie thermique du four en le remplissant de nacelles contenant un témoin vérifier la température 900° (+-) 25° à l'aide d'une canne pyrométrique.
- b) L'incinération doit être réalisé en atmosphère oxydant, c'est à dire en présence d'oxygène.

### 3/ Appareil de refroidissement

Un dessiccateur de 180mm de diamètre intérieur, muni d'une plaque perforée en métal ou porcelaine et d'un robinet.

### 4/ Balance analytique

- a) Précision 1/10 mg pour les pesées – nacelles vides nacelles + cendres.
- b) Précision 1mg pour la pesée de la prise d'essai.

**5/ Pré- incinération** : la précaution à prendre, pour éviter une usure rapide des nacelles par choc thermique.

- On place la première nacelle à l'entrée du four et l'enflamme, lorsque la flamme a disparu, on pousse progressivement la nacelle à l'intérieur du four.
- On répète la même opération pour chaque nacelle.

**6/ L'incinération** : On compte le temps d'incinération à partir du moment où le four, porte fermé, atteint la température de 550° ou 900°.

Pour la méthode à 900°, il faut impérativement respecter la durée d'incinération de 1h-1h 15.

**7/ Refroidissement** : Après la durée d'incinération prescrite par la méthode, On fait sortir les nacelles progressivement avant de les placer dans un dessiccateur. Duré de refroidissement : 30 - 40min (Audigie *et al*, 1978).

**8/ Détermination : selon la norme NF V03 – 720.**

$$C (\%) = [(M2 - M1) / (M1 - M0)] \times 100 / 100 - H.$$

Avec,

**C(%)** : Teneur en cendre.

**M0**. Masse en gramme de nacelle vide.

**M1**. Masse de la nacelle vide + prise d'essais (avant séchage).

**M2**. Nacelle et prise d'essais (après séchage).

### **II-2-4 Étude de l'activité antifongique des extraits aqueux et méthanolique des feuilles du noyer commun**

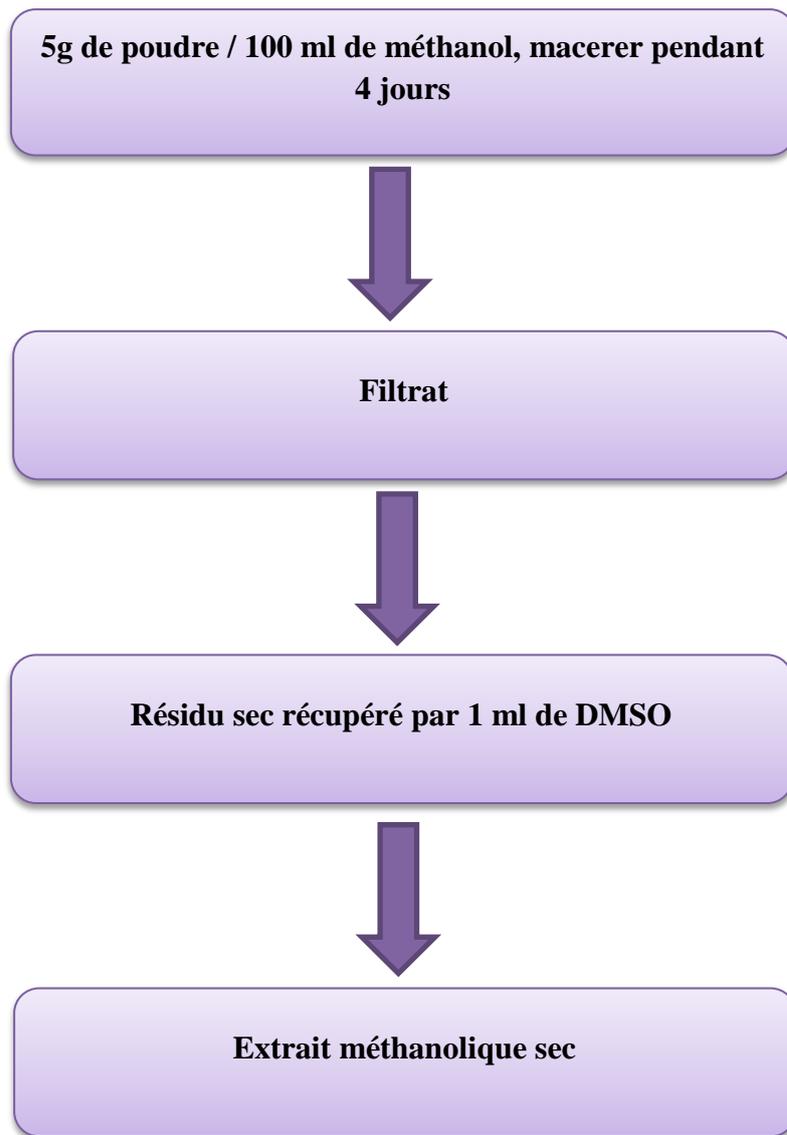
#### **II-2-4-1 Préparations de l'extrait aqueux**

Nous avons suivi la méthode motionnée par (**Bruneton, 1999**) ;

- a. Extrait aqueux à 10%** :5g de poudre végétale dans 50ml d'eau distillée bouillante. Laisser infuser pendant 15 à 20 min (on a couvert la préparation). Puis filtrer et conserver à 4°C.
- b. Extrait aqueux à 5%** :10ml de la solution précédente (extrait aqueux a 10%) + 10ml d'eau distillée.
- c. Extrait aqueux a 2,5%** : 5ml de la solution d'extrait aqueux a 5% + 5ml d'eau distillée.

#### **II-2-4-2 Préparations de l'extrait méthanolique**

Nous avons opté pour le protocole décrit par (**Romani, 2006**), nous avons laissé macérer 5g de poudre végétale dans 100ml de méthanol 70% pendant 4 jours, filtrer et évaporer à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu sec est récupéré avec 1ml de méthanol est conservé à l'abri de la lumière à 4°C jusqu'à utilisation ultérieure (**Fig.13**)



**Figure 13 :** Protocole de préparation de l'extrait méthanolique

### II-2-4-3 Préparation des souches microbiennes

#### **a. Revivification des champignons :**

Les champignons étudiés ont été repiqués dans un milieu Sabouraud par la méthode des stries puis incubés à 27°C pendant 5 jours. Annexe 4

#### **a. Activité antimicrobienne :**

**Préparation des boîtes pour les champignons :** le milieu Sabouraud a été liquéfié dans un Bain- Marie, puis coulé dans des boîtes de Pétri.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

Après refroidissement et solidification du milieu de culture et à l'aide d'un écouvillon (préalablement trempé dans la suspension) nous avonsensemencé les boîtes de Pétris par la méthode des stries.

**Remarque :** nous réalisons trois essais d'extraits pour chaque champignon.

### Préparation de l'inoculum

Les spores des moisissures sont préparées d'une culture de 7 à 10 jours sur gélose de PDA jusqu'à ce que la sporulation soit complète, on prélève quelque colonie de moisissure à l'aide d'une anse de platine qu'été ensuite mis dans 10 ml de l'eau distillée stérile avec quelques gouttes de tween 80 pour la dispersion des spores. Après agitation, la suspension de spores est ajustée après dénombrement sur cellule de Malassez à la concentration de  $10^5$  CFU/ml.

L'ensemencement du champignon se fait en étalant 0.1 ml de cette suspension à la surface d'une boîte de Pétri contenant le milieu PDA solide. Annexe 4

**Préparation des disques :** les disques de 9mm de diamètre sont mis dans un tube à essai, stériliser à l'autoclave, puis stockes à une température ambiante. Dans les conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques précédemment imbibés avec 5 $\mu$ l des extraits sont déposés dans les boîtes de Pétris. Ces dernières sont maintenues à 4°C pendant 1h pour que l'extrait puisse diffuser (**Rozman et Jersek, 2009**). Chaque essai a été réalisé en triplicata pour chaque espèce fongique.

Deux disques témoins (l'un imbibé dans l'eau distillée et l'autre imbibé dans le méthanol) sont déposés dans une boîte de Pétri (et cela pour chaque champignon).

### Lecture des résultats

L'absence de la croissance mycélienne se traduit par un halo translucide autour du disque du papier Wattman contenant la concentration de l'extrait aqueux et méthanolique dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle (y compris le diamètre du disque de 9 mm). D'après **Ponce et al, (2003)**, la sensibilité des souches aux différents agents antimicrobiens a été classifiée selon le diamètre de la zone d'inhibition

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

**Tableau VI.** Estimation des zones d'inhibition (Ponce *et al*, 2003)

Diamètre des Zones d'inhibition (mm)	Sensibilité des souches
<b><math>D \geq 20</math> mm</b>	Extrêmement sensible (+++)
<b><math>15 \text{ mm} \leq D \leq 19</math> mm.</b>	Très Sensible (++)
<b><math>10 \text{ mm} \leq D \leq 14</math> mm</b>	Sensible (+)
<b><math>D \leq 9</math> mm.</b>	Non sensible (résistante) (-)

# **Chapitre III**

## **Résultats et discussion**

### III. Résultats

#### III.1 Analyse phytochimique des feuilles de noyer commun

L'analyse phytochimique des extraits de plantes est une étape préliminaire et d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactives responsables des vertus thérapeutiques.

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant la poudre des feuilles de noyer a été faite selon les méthodes standards du screening phytochimique (**tableau VII**).

Ces tests préliminaires sont en relation avec l'intensité du précipité et de turbidité où la coloration est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

**Tableau VII** : Résultats des tests phytochimiques effectués sur la poudre des feuilles de noyer

Metabolites secondaires	Quantité
Alcaloïdes	+++
Anthocyane et leuco anthocyanes	+
Coumarines	+++
Flavonoïdes	+++
Glucides	+++
Quinones libre et combinées	++
Saponines triterpéniques	+++
Saponines stéroïdique	+
Senosides	++
Tanins	+++

(+++): Abondance ; (++) : moyen ; (+) : faible ; (-) : absence

Les résultats de cette analyse montrent que toutes les substances organiques testées étaient présentes dans la poudre des feuilles de noyer, mais à des proportions différentes (**Chemoul et al, 2015**)

#### III.2 Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de noyer commun

##### III.2.1 Evaluation qualitative

###### A) Extraits aqueux

Les extraits aqueux de feuilles de noix ont été sélectionnés pour leurs propriétés antimicrobiennes contre *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *C. albicans* et *C. neoformans*. Les valeurs de concentration minimale inhibitrice

(CMI) des bactéries et champignons testés (**Tab.VIII**) ont été déterminées comme une évaluation de l'activité antimicrobienne des échantillons.

**Tableau VIII.** Activité antimicrobienne de l'extrait de feuilles de différents cultivars de noix

Cultivar	CMI(mg/ml)							
	<i>B.cereus</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>K.peumoniae</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.neoformans</i>
Lara	0.1 (++++)	10 (++++)	0.1 (++++)	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )
Franquette	0.1 (++)	10 (+++)	0.1 (++)	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )
Milanaise	0.1 (++)	10 (+++)	0.1 (++)	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )
Mayette	0.1 (++)	10 (++++)	1 (++++)	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )
Parisienne	0.1 (++)	10 (++)	1 (++++)	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )
Marbot	0.1 (++++)	10 (++)	1 (++++)	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )	100 ( )

Aucune activité antimicrobienne ( ), zone d'inhibition <1 mm.

Légère activité antimicrobienne (+), zone d'inhibition 2–3 mm.

Activité antimicrobienne modérée (+ +), zone d'inhibition 4–5 mm.

Activité antimicrobienne élevée (+ + +), zone d'inhibition 6–9 mm.

Forte activité antimicrobienne (+ + + +), zone d'inhibition > 9 mm.

Écart type ± 0,5 mm

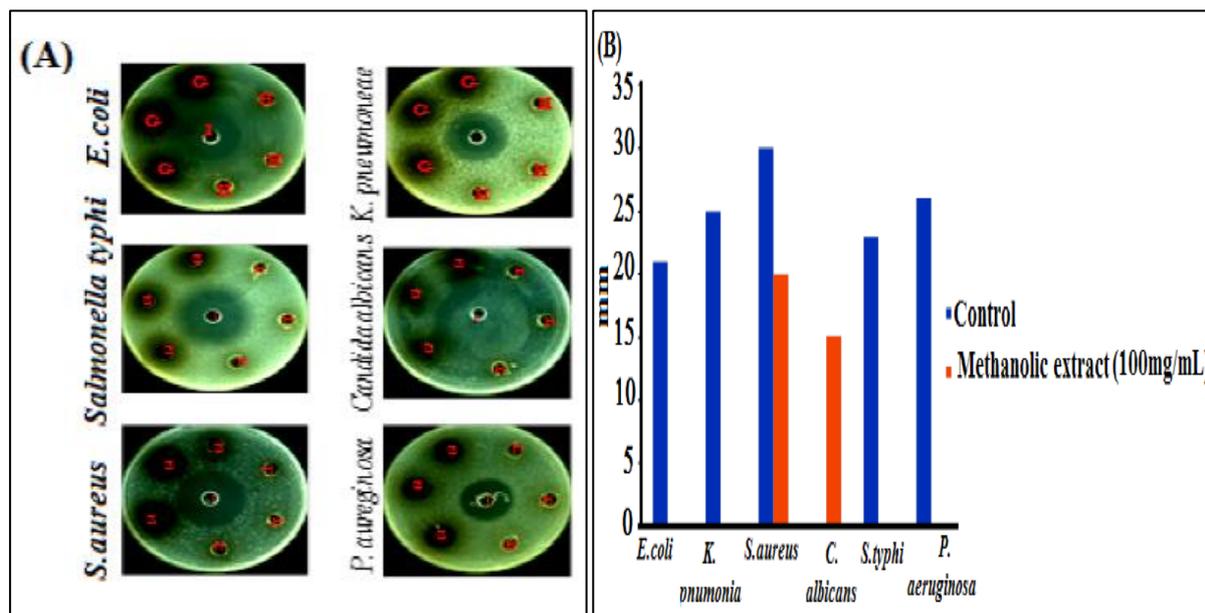
L'activité d'un même extrait varie d'une espèce à une autre. Cette variation peut être observée avec les diamètres de zone d'inhibition qui montre que certaines espèces sont résistantes ou plus sensibles que d'autres.

Les résultats obtenus dans le tableau montrent l'inhibition des bactéries Gram positif et dans l'ordre *B. cereus*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus* était le micro-organisme le plus sensible, présentant des CMI de 0,1 mg / ml. Les bactéries Gram - testées (*E. coli*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*) et champignons (*C. albicans* et *C. neoformans*) étaient les espèces résistantes à tous les cultivars (**Pereira et al, 2007**)

## B) Extraits méthanolique

L'effet antimicrobien de l'extrait méthanolique obtenu à partir de noix a été testé contre quatre bactéries Gram négatif (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella enterica* (ATCC 25566), et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC13883) et deux bactéries Gram positif *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* et le champignon *Candida albicans*. Les bactéries ont été initialement réactivées à partir de

cultures de stock, et maintenues sur bouillon Mueller Hinton (MHB) à 37 O C pendant 18 heures.



**Figure14.** Activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de noix.

(A) la méthode de diffusion d'agar a été réalisée pour examiner les activités antimicrobiennes de 100mg / ml (G) et 1mg / ml (H) d'extrait méthanolique de noyer commun contre *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, des agents antimicrobiens (ciprofloxacine et Fluconazole) ont été utilisés comme contrôle positif avec une concentration de 1 pg / ml.

(B) Zone de mesure d'inhibition

Dans cette étude, l'extrait de feuille a montré une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, et *Candida albicans* tandis que ; il n'y avait aucun effet sur les autres espèces microbiennes (Fig.14). En général, l'extrait présente une activité antimicrobienne plus forte et une concentration inhibitrice minimale (CMI) contre *Staphylococcus aureus* (25 mg / ml) que *Candida albicans* (50 mg / ml) (Tab.IX)

(Asma et al, 2019).

**Tableau IX.** Concentration minimale d'inhibition de l'extrait méthanolique de noix

Concentration d'extraits méthanolique				
Micro-organisme	100 mg/ml	50 mg/ml	25 mg/ml	12.66 mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	18.33mm	14.33mm	10 mm	-
<i>Candida albicans</i>	15mm	10.33mm	-	-

## C) Autres extraits

Extraits de racines de *Rumex nepalensis*, *Berberis aristata*, *Arnebia benthamii*, écorce de *Taxus wallichiana*, *Juglans regia* et pétales de *Jacquinia scifolia* ont été testés pour leur activité antifongique contre douze pathogènes fongiques différents (**Tab.X**).

**Tableau X.** Activité antifongique (exprimé en CMI) des extraits de différentes parties de plantes (1g/ml de solvant) des espèces sélectionnées

Espèce	Partie de la plante	Fraction utilisée (ul)	<i>A.fl</i>	<i>A.fu</i>	<i>A.ni</i>	<i>A.v</i> <i>e</i>	<i>B.c</i> <i>a</i>	<i>F.m</i> <i>o</i>	<i>F.o</i> <i>x</i>	<i>F.se</i>	<i>P.s</i> <i>p</i>	<i>R.s</i> <i>p</i>	<i>S.sp</i>	<i>T.sp</i>
<i>R. nepalensis</i>	Racine	EE	12.0	-	-	12.0	-	12.0	12.0	15.0	12.0	10.0	12.0	12.0
		EAE	10.0	-	-	-	-	-	-	-	-	10.0	-	-
		CE	-	-	-	-	10.0	-	-	-	-	-	-	-
		HE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. benthamii</i>	Racine	EE	-	10.0	-	-	22.0	-	-	22.0	-	22.0	-	-
		EAE	-	10.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		CE	-	-	-	22.0	22.0	-	-	-	-	-	-	-
		HE	-	-	-	22.0	22.0	-	-	22.0	-	15.0	-	-
<i>J. ruscifolia</i>	Pétale de fleur	EE	12.0	-	12.0	-	12.0	12.0	15.0	15.0	12.0	12.0	12.0	12.0
		EAE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		CA	-	-	-	-	-	-	10.0	-	-	-	-	-
		HE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. aristata</i>	Racine	EE	-	10.0	-	-	-	12.0	-	15.0	15.0	-	-	-
		EAE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		CE	-	-	-	-	22.0	-	-	-	-	-	-	-
		HE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>J. regia</i>	Ecorce du tronc	EE	-	-	-	-	22.0	-	-	-	-	-	-	-
		EAA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		CE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		HE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>T. wallichiana</i>	Ecorce du tronc	EA	-	-	-	-	22.0	-	-	-	-	-	-	-
		EAE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		CE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		HE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22.0	-	-

EE=ethanol extract; EAE=ethyl acetate extract; CE=chloroform extract; HE=hexane extract;(-) :no inhibition.

A. fu: *A. fumigatus*; A. fl: *A. flavus*; A. ve: *A. versicolor*; A. ni: *A. niger*; B. ca: *Blastoschizomyces capitatus*; F. ox: *Fusarium oxysporum*; F. mo: *F. moniliforme*; F. se: *F. semitectum*; P. sp: *Pythium sp.*; R. sp: *Rhizopus sp.*, S. sp: *Sporotrichum sp.*; T. sp: *Thermomyces sp.*

Les extraits éthanoliques étaient significativement actifs contre les pathogènes fongiques étudiés par rapport à l'extrait d'acétate d'éthyle, de chloroforme et d'hexane. Les racines de *R. nepalensis* et les pétales de *J. ruscifolia* ont montré le spectre d'activité le plus large. Les racines de *B. aristata* et *A. benthamii* ont montré un spectre modéré tandis que l'écorce de *T. wallichiana* et *J. regia* a montré une activité contre un seul pathogène fongique. *R. nepalensis* (racines) et *J. ruscifolia* (pétales) ont inhibé la croissance de neuf et dix pathogènes fongiques respectivement, sur douze espèces fongiques testées.

Les deux espèces végétales n'ont pas inhibé la croissance d'*A. Fumigatus*, cependant *A. niger* et *B. capitatus* n'ont pas été affectés par *R. nepalensis* et *A. versicolor* par *J. ruscifolia*. *B. aristata* (racine) et *A. benthamii* ont montré une activité antifongique contre cinq espèces fongiques. Les deux espèces végétales ont montré une activité contre *A. fumigatus*, *B. capitatus* et *F. semitectum*, mais *B. aristata* a également inhibé la croissance de *A. moniliforme* et *Pythium sp.* et *A. benthamii* a inhibé *A. versicolor* et *Rhizopus sp.* (Sharma et al, 2007).

### III.2.2 Evaluation quantitative

#### A) Activité antifongique de la Juglone libre et des nanoparticules synthétisées

Dans la méthode de dilution sur gélose, l'activité antifongique de la juglone libre et des juglone-PLGA-NPs ont été évalués sur la base de la croissance fongique. Les valeurs MIC et MFC sont indiquées dans le tableau XI.

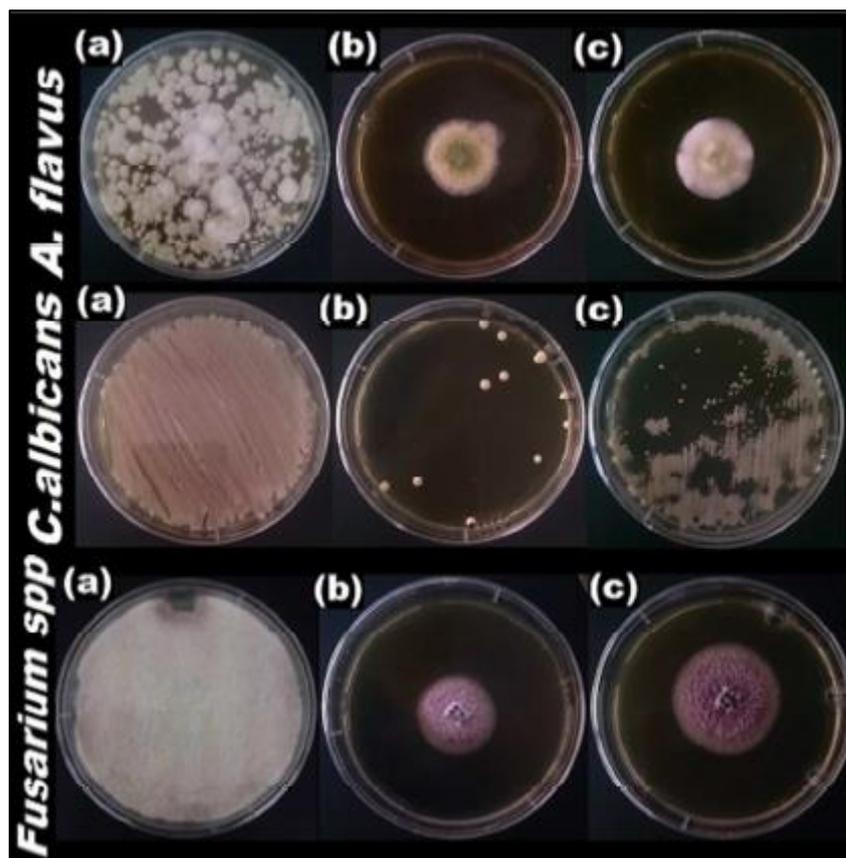
**Tableau XI.** Les valeurs des MFC et CMI selon la méthode de dilution agar.

Echantillon de test	Valeurs de MFC (ug/ml)			Valeurs de CMI (ug/ml)		
	Organisme fongique			Organisme fongique		
	<i>A.flavus</i>	<i>C.albicans</i>	<i>Fusarium spp.</i>	<i>A.flavus</i>	<i>C.albicans</i>	<i>Fusarium spp.</i>
Juglone-NPs	500	62.5	125	250	31.25	62.5
Juglone libre	500	250	250	250	62.5	125

Il a été observé que les systèmes de nanoparticules PLGA provoquaient une diminution remarquable des valeurs de CMI contre *C. albicans*, *Fusarium spp.* Parmi les trois espèces fongiques, la valeur de CMI la plus faible valeur des nanoparticules PLGA encapsulées dans la juglone était de 31,25 µg / mL, tandis que la CMI la plus basse de la juglone libre a été trouvée 62,5 µg / ml contre *C. albican*.

La valeur de CMI de la juglone libre a été déterminée à 125 µg / ml pour *Fusarium spp.*, alors que c'était deux fois plus élevé pour les juglone-PLGA-NP. Selon les valeurs MFC, le juglone libre était plus élevé quatre fois pour *C. albicans*, deux fois pour *Fusarium spp* que sa formulation de nanoparticules. Dans le cas de *A. flavus*, les valeurs MIC et MFC pour les nanoparticules PLGA encapsulées dans la juglone ont été obtenues à 250 ug / ml, comme pour la juglone libre

La figure 14 montre des zones d'inhibition de croissance entre juglone-PLGA-NP, Juglone libre et groupes de contrôle selon les valeurs CMI détectées pour JNP5 par la méthode de dilution de l'agar contre toutes les souches. Comme le montre cette figure, la différence de croissance entre juglone-PLGA-NPs et le juglone libre pour *C. albicans et Fusarium spp.* Était légèrement observé. En outre, cette différence semble être beaucoup plus élevée pour les deux groupes par rapport au témoin



**Figure 15.** Selon la méthode de dilution de l'agar, les photos des zones d'inhibition de la croissance entre la juglone-PLGA et juglone libre en raison des valeurs de MIC de JNP5 (250  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , 31,25  $\mu\text{g} / \text{ml}$  et 62,5  $\mu\text{g} / \text{ml}$  pour *A. flavus*, *C. albicans* et *Fusarium spp.* respectivement).

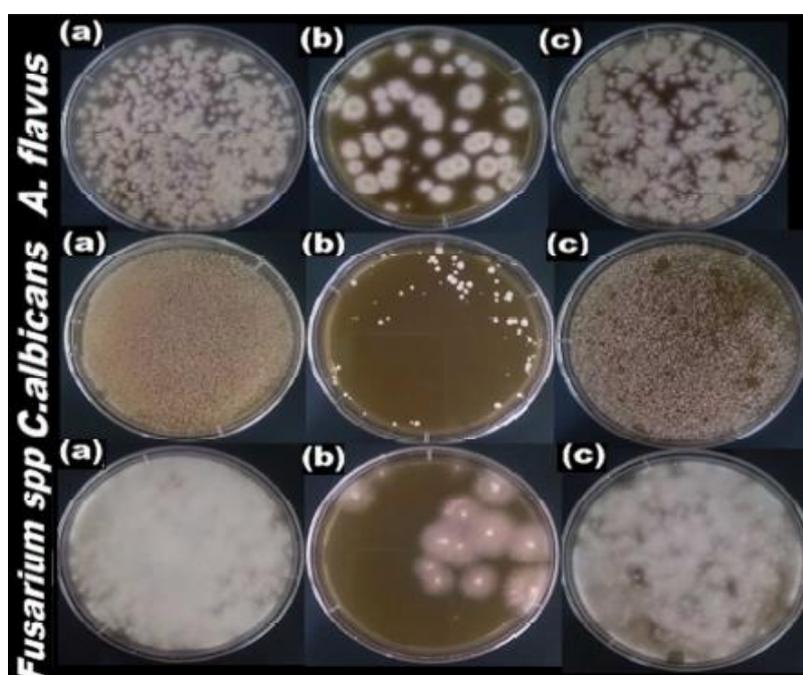
(a) contrôle, (b) Juglone-PLGA-NPs, (c) Juglone libre

La méthode de dilution top agar a été réalisée en ajoutant la gélose top fondue sur les spores fongiques exposé directement à la juglone et à sa formulation de nanoparticules dans le milieu tamponné pour un bref délai. Dans cette méthode, la diminution de la croissance fongique visible a été interprétée comme activité antifongique ou activité fongicide. Selon nos résultats, la valeur MIC et MFC de juglone libre était quatre fois plus élevé pour *C. albicans*, quatre fois pour *Fusarium spp.* Et deux fois pour *A. flavus*, par rapport aux formulations de nanoparticules (**Tab.XII**). Les NP vide ont été évaluées car le groupe témoin n'a montré aucun effet dans les deux études (données non présentées).

**Tableau XII.** Les valeurs MFC et MIC selon la méthode de dilution top agar

Echantillon de test	Valeurs de MFC (ug/ml)			Valeurs de CMI (ug/ml)		
	Organisme fongique			Organisme fongique		
	<i>A.flavus</i>	<i>C.albicans</i>	<i>Fusariumspp</i>	<i>A.flavus</i>	<i>C.albicans</i>	<i>Fusariumspp</i>
Juglone-NPs	250	125	62.5	125	62.5	31.25
Juglone libre	>500	500	250	250	250	126

Dans la figure 16, de fortes preuves visuelles d'un effet inhibiteur de croissance ont été observées dans le juglone-PLGA-NPs exposé à des plaques de Petri par rapport à la fois au juglone libre et aux groupes de témoin dans la méthode de dilution top agar.



**Figure 16.** Les photos Petri des zones d'inhibition de la croissance entre la juglone-PLGA et juglone libre en raison des valeurs de CMI de JNP5 (125  $\mu\text{g} / \text{ml}$ , 62,5  $\mu\text{g} / \text{ml}$  et 31,25  $\mu\text{g} / \text{ml}$  pour *flavus*, *C. albicans* et *Fusarium spp.* respectivement) dans la méthode de dilution de la gélose supérieure (a) contrôle, (b) JNP5, (c) juglone libre.

Des extraits d'écorce de *J. regia* et un composé marqueur juglone ont été testés pour leur activité antimicrobienne contre 16 micro-organismes et les résultats sont donnés dans le tableau XIII.

**Tableau XIII.** Activité antimicrobienne des divers extraits d'écorce de *J. regia* (mg=ml) par méthode de micro-dilution en bouillon.

Microorganismes	Extrait méthanolique		Extrait ethylacetate		Extrait aqueux		Juglone		Ampicillin <sup>a</sup> /Nystatin <sup>b</sup>	
	CMI	CMM	CMI	CMM	CMI	CMM	CMI	CMM	CMI	CMM
<i>Candida albicans</i> (3017)	-	-	-	-	-	-	-	-	7.8	7.8
<i>Issatchenkiaorientalis</i> (231)	-	-	-	-	-	-	-	-	31.3	31.3
<i>Aspergillusflavus</i> (277)	1000	1000	-	-	-	-	-	-	62.5	62.5
<i>Aspergillusniger</i> (404)	500	500	-	-	-	-	-	-	15.6	15.6
<i>Aspergillusochraceous</i> (4893)	1000	1000	-	-	-	-	-	-	62.5	125
<i>Aspergillusparasiticus</i> (2797)	-	-	-	-	-	-	-	-	62.5	125
<i>Aspergillus sydowii</i> (4335)	500	500	-	-	-	-	-	-	3.9	3.9
<i>Trichophyton rubrum</i> (296)	1000	2000	250	500	2000	2000	-	-	31.3	62.5
<i>Staphylococcus aureus</i> (3160)	500	1000	500	1000	1000	2000	-	-	2.0	3.9
<i>Bacillus subtilis</i> (121)	250	500	125	250	-	-	-	-	3.9	7.8
<i>Micrococcusluteus</i> (2470)	1000	2000	1000	2000	2000	-	-	-	2.0	3.9
<i>Burkholderiacapacia</i> (438)	500	500	1000	1000	500	500	250	500	2000.0	2000.0
<i>Escherichia coli</i> (43)	-	-	-	-	-	-	-	-	31.3	62.5
<i>Enterobactercloacae</i> (509)	-	-	-	-	-	-	-	-	2000.0	2000.0
<i>Klebseillapneumoniae</i> (109)	-	-	-	-	-	-	-	-	2000.0	2000.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (424)	250	500	250	500	250	500	125	250	1000.0	1000.0

a: antibiotique pour les bactéries.

b: antibiotique pour les champignons.

Les extraits ont montré une activité antimicrobienne contre la plupart des micro-organismes alors que la juglone n'était active que contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Burkholderia cepacia*. L'activité accrue des extraits peut être due à l'effet synergique d'autres composés qu'ils contiennent. La plupart des organismes d'essai fongiques étaient résistants aux extraits de plantes susmentionnés, à l'exception de *Trichophyton rubrum*. L'extrait méthanolique a montré une activité antimicrobienne à large spectre contre les bactéries et les champignons filamenteux à l'étude, tandis que *Bacillus subtilis* semble être le plus sensible parmi les organismes d'essai.

De plus, les valeurs CMI et MMC des antibiotiques standard utilisés (ampicilline et nystatine) se sont avérées relativement plus élevées que les extraits contre *Pseudomonas aeruginosa* et

*Burkholderia cepacia* (Tab.XIII). Un fractionnement supplémentaire des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle n'a conduit à aucune amélioration de l'activité antimicrobienne (Sharma *et al*, 2007).

## Discussion

Au cours des dernières décennies, une tendance croissante à l'utilisation de substances naturelles au lieu de substances synthétiques a été observée (**Silva et al, 2004**). Un exemple de l'une des herbes précieuses et médicinales utiles est *Juglans regia*, qui appartenait à la famille des Juglandacées. Il est généralement connu sous le nom de noix, qui est un grand arbre distribué dans le monde entier. La racine, l'écorce de tige, les feuilles, les graines et les cotylédons sont utilisés pour traiter une variété de problèmes de santé (**Bahmani et al, 2014 ; Chopra et al, 1986**).

Les feuilles de *Juglans regia* sont riches en flavonoïdes, acides phénoliques, acides gras essentiels, acide ascorbique, acide caféique, acide paracomarique et tanins (**Mohammadi et al, 2012**). Des études faites par (**Shah et al, 2013**) sur divers extraits (methanoliques, cétoniques, benzéniques et aqueux) de feuilles de noyer (*Juglans régia* L.) ont révélés la présence de nombreux métabolites. La richesse des feuilles de noyer (*Juglans régia* L.) en divers métabolites secondaires, permettent d'avoir une bonne idée sur ses propriétés pharmacologiques à condition d'extraire ses principes actifs (**Pereira et al, 2008**).

La plante est utilisée comme remède topique pour l'inflammation cutanée et la transpiration excessive des mains et des pieds. C'est aussi un remède maison courant pour le traitement de l'eczéma chronique, de la scrofule et de l'inflammation des paupières. Il a été approuvé que l'utilisation des feuilles de *J. regia* pour les inflammations légères et superficielles de la peau. Comme elles sont également utilisées par voie topique pour traiter les démangeaisons et les brûlures superficielles du cuir chevelu, la desquamation et les coups de soleil, ainsi qu'un traitement d'appoint émollient et anti-démangeaisons dans les troubles cutanés (**Baytop, 1999; Blumenthal, 2000 ; Gruenwald et al, 2001; Voleurs et al, 1999; Ali-Shtayeh et al, 1999**).

L'activité antimicrobienne de composés synthétiques et naturels, y compris les extraits de plantes, est reconnue depuis de nombreuses années et a constitué la base de nombreuses applications, notamment la conservation des aliments, les produits pharmaceutiques et la médecine (**Narad et al, 1995; Tzoris et al, 2003; Murthy et al, 2006**). *J. regia* contient des naphthaquinones comme principaux composés phénoliques (**Wichtl et al, 1999**) qui posséderaient un spectre très intéressant d'activités antimicrobiennes (**Babula et al, 2009**).

Le résultat de cette activité dépend de plusieurs facteurs à savoir l'espèce de la plante, la méthode choisie pour la préparation de l'extrait, le solvant utilisé et la sensibilité des bactéries vis-à-vis de la molécule testée (**Loziene et al, 2006**).

Les observations effectuées sur l'effet des différents extraits sur la croissance des souches bactériennes démontrent que presque tous les extraits de *Juglans regia* ont une activité antimicrobienne contre toutes les souches testées. Un certain nombre de substances qui se rencontrent couramment chez les végétaux tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes, sont les responsables des propriétés antibactériennes (**Nguyen, 1983**).

Un extrait est considéré comme antimicrobien lorsqu'il induit une zone d'inhibition supérieur ou égale à 10 mm (**Tekwi et al, 2012**), le diamètre de la zone d'inhibition dépend principalement de nombreux facteurs, par exemple : capacité de diffusion de substances présentes dans les extraits, dans le milieu gélosé, pouvoir antimicrobienne des substances diffusées, la croissance et activité métabolique des microorganismes dans le milieu (**Bandeira, 2006**).

Les résultats obtenus par (**Periera et al, 2007**) démontrent que les bactéries à gram positive (*B. subtilus*, *B. cereus*, *S. aureus*) sont plus sensibles aux extraits aqueux par rapport aux autres souches gram négative (*E. coli*, *P. airogenosa*) et levures (*Candida albican*) qui sont résistantes. Ceci peut être attribué à la différence structurale entre les bactéries gram positives et les bactéries gram négatives (**David et al, 2013**), cette différence est en relation avec la nature de leur membranes imperméable à la plupart des agents biocides (**Bouزيد et al, 2011 ; Faucher et al, 2002**).

Chez les bactéries à Gram+, le peptidoglycane est très épais et associé à des protéines pariétales exposées et à des structures polysidiques (acides lipoteichoïques et acides teichoïques). En revanche chez les bactéries à Gram-, le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique. Cette membrane externe est une bicouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (porines) et de lipopolysaccharides (LPS). L'espace périplasmique est rempli d'enzymes qui dégradent les substances complexes pour qu'elles puissent traverser la membrane cytoplasmique, et inactivent les produits chimiques toxiques (antibiotiques).

La résistance des bactéries à Gram - aux glycopeptides et aux macrolides est due à l'incapacité de ces molécules à franchir la membrane externe (Cristani *et al*, 2007 ; Boukhatem *et al*, 2014), et peut être due également aux mécanismes de défense des bactéries contre les molécules antimicrobiennes (Tsuchiya *et al*, 2000).

Ces résultats sont similaires avec ceux trouvés dans l'étude d'une activité antibactérienne des extraits aqueux des feuilles de *J. regia* collecté à Blida (Bennacer *et al*, 2017) qui ont trouvé un effet antibactérien sur *B. subtilis* , *S. aureus*, et aucun effet à été marqué sur *E. coli* et *P. aeruginosa*.

D'autres études menées par (Pereira *et al*, 2008) ont montré que des extraits aqueux de la cosse verte de *Juglans regia* possèdent une activité antibactérienne contre des bactéries gram positives tandis que les bactéries à gram négatives et champignon sont résistants. Ce qui est en accord avec ces résultats.

Selon (Farooqui *et al*, 2015), *Juglans regia* n'a pas montré d'activité avec les bactéries Gram-négatives; seule *E. coli* s'est avérée sensible à 1,06 mg / ml d'extrait méthanolique sans zone d'inhibition. La cinétique d'élimination temporelle a montré un effet bactéricide a dose-dépendante sur les souches de *S. aureus* résistantes et sensibles à la méthicilline, indiquant une forte activité anti-staphylococcique de *Juglans regia* quel que soit le spectre de résistance à d'autres agents antimicrobiens.

D'autres résultats de (Eswayah *et al*, 2019) sont cohérents avec certaines des études précédentes dans lesquelles l'extrait de feuilles ont montré des propriétés antimicrobiennes contre Gram positif et ne pas Gram négatif bactéries car elles étaient résistantes à l'extrait de feuilles.

Emira *et al*, (2011) ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle est efficace contre la souche *S. aureus* ATCC 25923 avec un diamètre de 19.66 mm et sur l'extrait méthanolique des feuilles avec un diamètre de 13.66 mm. Cette différence entre la résistance et la sensibilité des *S. aureus* aux extraits méthanoliques est peut-être due soit aux conditions d'extraction soit au volume du solvant utilisé.

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques est due probablement à leur composition en molécules bioactive où il contient les flavonoïdes, les alcaloïdes, les composés réducteurs, les protéines, les stérols et les terpènes (Ganesh *et al*, 2013).

Les résultats de l'activité antifongique de quatre extraits des différentes plantes obtenu par (Radhy *et al*, 2007) ont montré que l'extrait éthanolique présente une activité antifongique efficace contre les souches fongiques par rapport aux autres extraits (chloroforme acétate d'éthyle, hexane), ça peut être dû à la composition de chaque partie de plante et de la richesse de chacune aux composés bioactifs par rapport à l'autre.

L'efficacité d'un extrait dépend de sa concentration, de la plante à partir du quelle il est issu et de la souche testée (Klervi, 2005).

Selon Vishesh *et al*, (2010) la zone d'inhibition de croissance la plus élevée a été mise en évidence par des extraits de méthanol et de chloroforme (300 µg / ml) contre *Aspergillus niger* et *Trichoderma virens* respectivement (9,33 mm). A même concentration (300 µg / ml) de benzène, acetone. L'extrait d'éther aussi a inhibé la croissance de *Fusarium solani*, *Alternaria alternata* et *Aspergillus niger* (9 mm, 8,33 mm, 7,33 mm) respectivement. Les extraits d'éther, de chloroforme et méthanolique n'ont montré aucune activité contre *Fusarium solani*, *Alternaria alternata* et *Aspergillus niger*.

Ces résultats montrent que ces espèces fongiques sont connues pour être résistantes à l'action d'extraits testés. L'extrait méthanolique s'est avéré plus efficace que les autres extraits, ce qui indique la puissance des composants bioactifs de la plante contre toutes les espèces testées.

D'autre part les résultats de (Noumi *et al*, 2010) ont révélés que *Candida albicans* était résistant à l'extrait de feuilles de *Juglans regia*. Une autre étude a rapporté que l'alcaloïde de la fraction méthanolique d'extrait de *Juglans regia* produit une inhibition modérée de croissance *Candida albicans* (Chopra *et al*, 1933).

Des études ont également démontré l'activité antimicrobienne des produits à base de noix, en particulier de l'écorce ( Alkhawajah, 1997), feuilles (Clark *et al*, 1990; Pereira *et al*, 2007), des fruits (Pereira *et al*, 2008), le juglone dans l'écorce verte et les parties des feuilles présentent une activité antioxydante, en particulier une substance spécifique de juglone (5-hydroxy-1,4-naphtoquinone) présente des propriétés antimicrobiennes (Chobot *et al*, 2009).

La Juglone est une naphthoquinone synthétisée dans le noyer et les propriétés antifongiques de ces composés sont connus depuis de nombreuses années, la recherche sur l'activité antifongique des dérivés de la naphthoquinone est prédominante (Sasaki *et al*, 2002; Tandon *et al*, 2004), mais il n'y a que quelques études sur la molécule de juglone (Clark *et al*, 1990).

L'activité antifongique du JNP5 synthétisé a été évalué par deux méthodes différentes contre *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* et *Fusarium spp.* Pour la première fois dans la littérature (**Strugstad et al, 2013**).

Les nanoparticules PLGA, en raison de leur charge négative, forment une interaction électrostatique avec les parois cellulaires fongiques. Cette situation permet d'accéder aux nanoparticules à la surface des cellules, leur accumulation et plus tard, l'entrée de la substance actives ou les nanoparticules dans les cellules et augmente donc l'activité antifongique en formant une attraction électrostatique entre les organismes et les PLGA-NP (**Patel et al, 2011**) En outre, les hydrophobines sécrétées par les organismes fongiques forment une membrane amphipathique structure et ainsi assurer le contact entre le milieu hydrophile et les agents hydrophobes comme la juglone en raison de leurs régions hydrophobes et hydrophiles (**Patel et al, 2010**).

# **Conclusion et perspective**

### Conclusion

Cette étude a comme objectif de contribuer à la valorisation d'une plante *Juglans régia* L. par un criblage phytochimique qui a permis la mise en évidence de quatre grands groupes chimiques (tanins, flavonoïdes, Stéroïls et Terpenoïdes et saponines) dans les différents extraits de plantes. Ces groupes chimiques qui sont connus pour leurs activités antimicrobiennes pourraient être responsables des activités antifongiques observées. L'étude de l'activité antifongique des extraits de feuilles de noyer a révélé que les extraits aqueux et méthanolique, possèdent une activité antifongique liée à leur richesse en composés bioactifs largement répandus dans les plantes médicinales.

L'extrait aqueux possède une activité microbienne sur la majorité de souches bactériennes et fongiques (*B. subtilis*, *B. cereus*, *S.aureus*) à l'exception d'*E. coli*, *P. aeruginosa*. Concernant l'extrait méthanolique l'activité antimicrobienne s'est révélée importante sur *S. aurus* et *Fusarium sp.*

Concernant les CMI, exprimées en mg/ml, montrent un pouvoir inhibiteur remarquable pour les extraits méthanolique et aqueux de feuille de *Juglans regia*. Les différentes valeurs de CMI obtenues nous permettent de constater que l'activité antifongique est en fonction de la souche, ce qui confirme que le type de microorganismes est un paramètre important déterminant l'activité antifongique (**Bouguerra, 2012**).

A travers cette étude on peut dire que *J. regia* élabore une importance non négligeable grâce à leurs extraits biologiques qui ont un effet remarquable sur les souches microbiennes et peuvent être donc utilisés dans la phytothérapie comme traitement contre les souches pathogènes. L'ensemble de ces résultats nous ont permis d'évaluer la richesse des feuilles de noyer commun en substance chimique et qui pourraient représenter une nouvelle source potentielle de molécules bioactives dans le domaine phytosanitaire.

Comme perspective, il serait intéressant de :

- Faire plus d'analyses sur la composition chimique des extraits (HPLC, CGMS, ECT..).
- Faire plus d'analyse sur d'autres souches résistantes.
- Elargir la recherche de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux et méthanolique sur des espèces bactériennes et fongiques pathogènes pour la santé humaine.
- Effectuer plus d'études in vivo et in vitro sur l'interaction entre les juglanes PLGA-NP et les champignons, pour fournir une explication plus détaillée de l'effet antifongique de système de nanoparticule PLGA.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

---

### A

- Adom KK., et Liu RH., (2002).** Antioxidant activity of grains. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21): 6182-6187.
- Afolayan AJ., et Meyer JJ., (1997)** .The antimicrobial activity of 3, 5,7-trihydroxyflavone isolated from the shoots of *Helichrysum aureonitens*, *Journal of ethnopharmacology*, 57(3) :177-181
- Aissi A., et Boudjelal Y., (2014).** Phytochemical screening and antimicrobial activity of the leaves and bark of *Juglans regia* Linn (walnut) collected from the region of Batna, Algeria, These de master, Université Elhadj-lakhdar Batna.
- Ait Youssef M., (2006).** Plantes médicinales de Kabylie, Ibis press, Paris, 349 p.
- Al-Fartosy A., Zearah S., et Alwan N.A., (2013).**Totat antioxidant capacity and antihyperlipidemic activity of alkaloid extract from aerial part of *Anethum graveolens* L. plant, *European scientific journal*, Edition 9(33): 413-423.
- Ali-Shtayeh M.S., Abu Ghdeib S.L., (1999).** "Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes" *Mycoses*, 42: 665-772
- Alkhawajah A.M., (1997).** "Studies on the antimicrobial activity of *Juglans regia*", *Journal of chinese medecine*, 25: 175-180
- Almeida I.F., (2008).** Walnut (*Juglans regia*) leaf extracts are strong scavengers of pro-oxidant reactive species, *Food chemistry*, 106: 1014-1020.
- Amaral JS.,Valentão P., Andrade PB., Martins RC., Seabra RM., (2008).** Do cultivar, geographical location and crop season influence phenolic profile of walnut leaves? *Molecules*, 13:1321-1332.
- Ameyaw Y., Duker-Eshun G., (2009).** The alkaloid contents of the ethno-plant organs of three antimalarial medicinal plant species in the eastern region of Ghana, **International journal of chemical science**, 7, 48- 58.

### B

- Baerwolf S., Geffers C., Behnke M., (2002).** Correlation between transmissions and the nosocomial infection rate in five different intensive care units in a German university hospital. *SHEA*, 216

## Références bibliographiques

---

- Bahmani M., Rafieian-Kopaei M., Hassan-zadazar H., Saki K., Karamati S. A., Delfan B., (2014).** A review on most important herbal and synthetic antihelmintic drugs. *Asian pacific journal of tropical medicine*, 7: 29-33.
- Bahorun T., (1997).** Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, Food and agricultural research council, réédité, Mauritius, 83-94.
- Bandeira M., Teixeira M., Abinader C., Parente R., Lim L., (2006).** Avaliação in vitro da sensibilidade da *Candida albicans* ao hidróxido de cálcio associado ao óleo de copaíba. *Dentística*, 6:12-22.
- Barengo N., (2001).** « Noyer commun, noyer royal, *Juglans regia L.* », Chaire de sylviculture.
- Baril E., Coroller L., Couvert O., El Jabri M., Leguerinel I., Postollec F., Boulais C., Carlin F., Mafart P., (2012).** Sporulation boundaries and spore formation kinetics of *Bacillus spp.* as a function of temperature pH and a(w). *Food microbiology*, 32: 79–86.
- Bouhairi S., (2017).** *Bacillus subtilis* caracteres et application, these de doctorat, université Mohammed 8, Rabat
- Baytop T., (1999).** Türkiye'de bitkilerle tedavi (Therapy with medicinal plants in Turkey), Nobel tıp bşimevi, İstanbul, Turkey.
- Bellabaci A., (2016).** Etude de la possibilité d'amélioration de la culture et de la production du noyer commun, *Juglans regia L.* dans la région de Tlemcen, Thèse de master, Université de Tlemcen.
- Bennacer A., Cherif M., (2017).** Contribution to the ethnobotanical, phytochemical, antimicrobial and antioxidant study of the leaves aqueous extract of the common walnut « *Juglans regia* ». *International journal of pharmacology, phytochemistry and ethnomedicine*, 7: 41-52
- Blumenthal M., (2000).** Herbal medicine (expanded commission et monographs), integrative medicine communications, Newton.
- Blumenthal M., (2000).** Herbal medicine expanded commission monographs, 1st ed, American botanical council, p 401.
- Bonev I., (1973).** Note technique sur le noyer, production des plants greffés et création des noyeraies, Bibliothèque forestière, Alger, p31.
- Bonhomme M., (2019).** Etude botanique de trois espèces de noyers, *Juglans regia*, *Juglans cinerea* et *Juglans nigra*, de leur composition chimique, de leur intérêt thérapeutique et de leur utilisation à l'officine. Thèse de doctorat, Université Toulouse III - Paul Sabatier, France, 125p.
- Booth N.L., Dejan N., Richard B., Stoci E., (2004).** New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxycoumarin and their pharmacological activity, *Clinical pharmacology and therapeutics*, 50: 120-123

## Références bibliographiques

---

**-Boukhatem M.N., Ferhat M.A., Kameli A.K., Saidi F., Taibi H., Teffahi D., (2014).** Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris L.*) en aromathérapie anti-infectieuse. International journal of innovation and applied studies, 8(4): 1418-1431.

**-Bouزيد W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M., Ayachi A., (2011).** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. Lebanese science journal, 12: 1

**-Bremer X., Dennis P., (1996).** « Modulation of chemical composition and other parameters of the cell by growth rate », dans F.C Neidhardt, R Curtiss, III, J.L Ingraham, E.C.C Lin, K.B Low, B Magasanik, W.S Reznikoff, M Riley, M Schaechter et H.E Umbarger, *Escherichia coli and Salmonella typhimurium* cellular and molecular biology, Washington, DC, ASM press, , p. 1553-1569

**-Bridiei A., Le Coq D., Dubois-Brissonnet F., Thomas V., Aymerich S., Briandet R., (2011).** The spatial architecture of *Bacillus subtilis* biofilms deciphered using a surface associated model and in situ imaging. Plos one, 6(1): 16177.

**-Bruneton J., (1993).** "Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales", 2eme Edition, Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 915.

**-Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème Edition, Technique et documentation, Lavoisier, P : 784-873.

## C

**-Cairns L., Hobley L., Stanley-Wall N., (2014).** Biofilm formation by *Bacillus subtilis* : new insights into regulatory strategies and assembly mechanisms: Regulation and assembly of *Bacillus subtilis* biofilms. Molecular microbiology, 93: 587–598.

**-Carlanucchia., (2010).** Histoire et légendes de la noix. (<http://carlanucchia.unblog.fr/2010/09/30/histoire-et-legendes-de-la-noix>)

**-Carnat A., Petitjean-Freytet C., Muller D., Lamaison L., (1993).** Teneurs en principaux constituants de la feuille de noyer *Juglans regia L.*, Plantes médicinales et phytothérapie, 26: 332-339

**-Carvalho M., (2010).** Human cancer cell antiproliferative and antioxidant activities of *Juglans regia L.* Food chemistry, Toxicol, 48: 441- 447.

**-Chadda D., (2008).** Influence des matières organiques (feuilles, châtons et racines) du noyer (*Juglans regia L.*) sur le comportement de jeunes plants de pommier (*malus domestica borkh*) dans la région de R'haouat (Hidoussa) (Belezma), Thèse de magister, Université de Batna, Algeria, 173p.

**-Chang P., Gomi N., (2014).** Encyclopedia of food microbiology, Second Edition

## Références bibliographiques

---

-**Charpentier JP., Boizot N., (2006).** Methodes rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, Amélioration génétique et physiologie forestières INRA, Le cahier des techniques de l'Inra, pp 79–82.

-**Chevalier A., (1941).** Variabilité et hybridité chez les noyers. Notes sur des *Juglans* peu connus, sur l'annamocarya et un carya d'indochine, Botanique appliquée et d'agriculture tropicale, n°241-242 : 477-509.

-**Chobot V., Hadacek F., (2009).** Milieu-dependent pro-and antioxidant activity of juglone may explain linear and nonlinear effects on seedling development. Journal of chemical ecology, 35: 383-390

-**Chopra R., Chopra I., (1933).** Indigenous drugs of India, Academic publishers.

-**Clark A. M., Jurgens T. M., Hufford C. D., (1990).** Antimicrobial activity of juglone. Phytotherapy research, 4: 11-14.

-**Cristani M., D'arrigo M., Mandalari G., (2007).** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes : implications for their antibacterial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 6300-630

### D

-**David B., Sudarsanam G., (2013).** Antimicrobial activity of *Gymnema sylvestre* (Asclepiadaceae). Journal of acute disease, 222-225

-**De vos P., Garrity G., Jones D., Krieg N., Ludwig W., Rainey F., Schleifer K., Whitman W., (2009).** Bergey's manual of Systematic Bacteriology - second edition. Bergey's manual trust

-**Deina M., Rosa A., Casu V., Cottiglia F., Bonsignore L., (2003).** Natural product: their chemistry and biological significance. Journal of the American oil chemistry society, 80: 65-70.

-**Dharmananda S., (2003).** Gallnuts and the uses of tannins in chinese médecine. Institute for traditional medicine and preventive health care, ITM, 4p.

-**Drewnowski A ., Gomez C., (2000).** Bitter taste, phytonutrients, and the consumer. The American journal of clinical nutrition, 72:1424-1435.

### E

-**El Fertas-Aissani R., (2012).** Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. **Pathologie Biologie**, 3048 p 8

## Références bibliographiques

---

-**El Tahchy A., (2010).** Étude de la voie de biosynthèse de la galanthamine chez *Leucojum aestivum L.* et criblage phytochimique de quelques *Amaryllidaceae*, Thèse de doctorat en chimie, Université Henri Poincaré, Nancy-université, Faculté des sciences. 20p.

-**Elmeskini K., (2011).** Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*, thèse de doctorat, Université Mohammed V faculté de médecine et de pharmacie, Rabat.

-**Emira N., Snoussi M., Trabelsi N., Hajlaoui H., Ksouri R., Eulogio V., Bakhrouf A., (2011).** Antibacterial, anticandidal and antioxidant activities of *Salvadora persica* and *Juglans regia L* extracts. *Medicinal Plants*, 5(17): 4138-4146.

-**Eswayah A., Labyad N., Aleanizy F., Belaid A., Alqahtani F., Alfassam H., (2019).** Antimicrobial and anti-inflammatory properties of *Juglans regia* Leaves. *Journal oriental de chimie*, 35 (6): 1756-1759.

### F

-**Faucher J., Avril J.L., (2002).** Bactériologie générale et médicale. Tome 1, Ellipses (Ed.), Paris, 365p.

### G

-**Ganesh N., Akthar S., Shah T.I., (2013).** Preliminary phytochemical evaluation and antibacterial potential of different leaf extracts of *juglans regia*: a ubiquitous dry fruit from Kashmir-India. *Pharmaceutical sciences*, 19(2): 93-96.

-**Ghedira K., (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emploi en thérapeutique. *Phytothérapie*, pp. 162-169.

-**Gruenwald J., Brendler T., Jaenke C., (2001).** PDR for herbal medicines, medicinal economic company, New York.

-**Guignard J.L., (1998).** Abrégé de botanique, Masson (Ed), Paris, 212p.

-**Guinebretière M.H., (2008).** Ecological diversification in the *Bacillus cereus* group. *Environmental microbiology*, 10: 851-865

-**Gülçin I., Oktay M., Kirecci E., Kufreviöglu O., (2003).** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L.*) seed extracts. *Food chemistry*, 83(3):371-382.

### H

-**Haioun A., Hamoudi F., (2015).** Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale Algérienne *Anethium graveolens* et leur effet cardioprotectrice, Thèse de master, Université des frères Mentouri Constantine.

## Références bibliographiques

---

-Halliwell B., (2008). Are polyphenols antioxidants or prooxidants? What do we learn from cell culture and in vitro studies? Archives of biochemistry and biophysics , 476 :107-112.

-Haslam E., (1989). Plant polyphenols-vegetal tannins revisited: Cambridge university press (Bio essays volume 12) UK, p 230

-Hazebroucq G., Dorvault F., (1993). L'officine. 23ème Edition, Vigot.

-Holst B., Williamson G., (2008). Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. Current opinion in biotechnology, 19(2): 73-82

### J

-Jacoboni N., (1996). Recherche sur la biologie florale et fructification du noyer (*Juglans regia*). Italia, pp.3-13.

-Jaiswal B., Tailang M., (2017). “*Juglans regia*: a review of its traditional uses phytochemistry and pharmacology”. Indo American journal of pharmaceutical research, 7(9).

### K

-Kale A., Sucheta A., Kavita S., Nirmala R., Jyoti P., (2010). “Elements from stem bark of orchard tree – *Juglans regia*”. International journal of chem tech research, 2 (1): 548-550.

-Karou D., Savadogo A., Canini A., Yameogo S., Montesano C., Simpire J., Colizzi V., Traore AS., (2006). Antibacterial activity of alkaloids from *Sidaactua*. African journal of biotechnology, 5,198-199.

-Kashani HH., Hoseini ES., Nikzad H., Aarabi MH., (2012). Pharmacological properties of medicinal herbs by focus on secondary metabolites, Life science journal, 509-520.

-Klervi L., (2005). Connaissance chimio taxonomique du genre Turbinaria et étude des composés de défense de différentes espèces de Sargassacées des Iles Salmon (Pacific sud), 210p

-Klervi L.L., (2005). Connaissance chimiotaxonomique du genre Turbinaria et étude des composés de défense de différentes espèces de Sargassacées des Iles Salmon (Pacific sud). 210p.

-Krüssmann G., (1979). Die Bäume Europas (2. Aufl.). Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.

### L

-Lagane C., (2007). Role de l'il-13 et des ligands de ppar-γ dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-a-vis de *candida albicans*, these doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse

## Références bibliographiques

---

-Lee P., Buswell J., Shinagawa K., (1995). Distribution of toxigenic *Bacillus cereus* in rice samples marketed in Hong-kong. *Journal of microbiology and biotechnology*, 11: 696-698

-Lestrade M., Becquey J., Coello J., Gonin P., (2012). Autécologie du noyer commun *Juglans regia* L., du noyer noir *Juglans nigra* L. et du noyer hybride *Juglans xintermedia*, Forêt entreprise n°207, p 5-12.

-Liu G., Essex A., Buchanan J., Datta V., Hoffman H., Bastian J., Fierer J., Nizet V., (2005). « *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity », *Journal of experimental medicine*, 202 (2): 209–215.

-Liu Y M., Xu P., Gao JM., Yang XP., Liu YS., (2004). Analysis of volatile components from leaves of *Juglans regia* by GC/MS. *Acta Botanica. Boreali-occidentalia Sin.* 24:1100–1102.

-Luczak S., Świątek L., Zadernowski R., (1989). Phenolic acids in leaves and pericarpium of walnut *Juglans regia* L. *Acta poloniae pharmaceutica*, 46: 494-499.

## M

-Margulis L., Jorgensen J.Z., Dolan S., Kolchinsky R., Rainey F.A., Lo S., (1998). The Arthromitus stage of *Bacillus cereus*: Intestinal symbionts of animals. *Proceedings of the national academy of sciences of the United states of america*, 95: 1236-1241.

-Mei-zhi Z., (2007). Study on extraction conditions of active antiviral substance from walnut leaves, *Chemistry and industry of forest products*, 02: 50-58.

-Milan M., Pham T., Cohen S., (2004). Osa modulates the expression of apterous target genes in the *Drosophila* wing. *Mechanisms of Development*, 121(5): 491-497

-Mohammadi J., Mirzaie A., Azizi A., Roozbehi A., Delaviz H., (2012). Les effets de l'extrait hydroalcoolique de feuille de *Juglans regia* sur les changements histologiques de l'îlot de Langerhans chez le modèle de rats diabétiques. *Iranian journal of medical sciences*, 4: 293–302

-Mohni C., Pelleri F., Hemery GE., (2009). The modern silviculture of *Juglans regia*: A literature review. *Food chemistry*, 60 (3): 14.

-Mouhajir F., Hudson JB., Rejdali M., Towers G.H.N., (2001). Multiple antiviral activities of endemic medicinal plants used by berber peoples of Morocco. *Pharmaceutical biology*, 39(5): 364-374.

## N

-Nabavi SF., Ebrahimzadeh M., Nabavi SM., Mitra M., Keyvani S., (2011). Biological activities of *Juglans regia* flowers. *Brasile farmacognosia*, 21(3):465-470

## Références bibliographiques

---

-Naheed M., Cosimo P., Rita A., Nunziatina DT., Sonia P., Susa C., Andrew B., Alan J., (1993). "Inhibition of HIV infection by flavanoids". *Antiviral research*, 22(2-3)189-199

-Nakano MM., Dailly YP., Zuber P., Clark DP., (1997). Characterization of anaerobic fermentative growth of *Bacillus subtilis*: identification of fermentation end products and genes required for growth. *Journal of bacteriology*, 179(21):7.

-Nataro JP., Kaper JB., (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 11 :142–201

-Nguyen D., (1983). Des plantes médicinales à propriétés antibactériennes. *Médecine traditionnelle chinoise*, (100) : 303-312.

### O

-Oliveira I., (2008). Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia L.*) green husks. *Journal of food and chemical toxicology*, (46) 2326- 2331.

-Ounis M., Zitouni A., (1996) .Noyer commun (*Juglans regiaL.*). Le connaître pour mieux le développer, la forêt Algérienne n°2, INRF Algérie, pp15-20.

-Ounis M., Bekka A., Zitouni A., (2004). Techniques d'élevage et de multiplication du noyer commun (*Juglans regia L.*). *Revue la forêt algérienne*, numéro spécial, INRF de Sétif, pp28-31

-Oyenihi AB., Brooks NL., Oguntibeju OO., Aboua G., (2014). Antioxydant antidiabetic agents and human health chapter antioxidant rich natural products and diabetes mellitus. *intechopen*, 10 :55772-57192

### P

-Patel N., Damann K., Leonardi C., Sabliov C. M., (2011). Size dependency of PLGA nanoparticle uptake and antifungal activity against *Aspergillus flavus*. *Nanomedicine*, 6: 1381-1395.

-Patel N. R., Damann K., Leonardi C., Sabliov C. M., (2010). Itraconazole-loaded poly (lactic-co-glycolic) acid nanoparticles for improved antifungal activity. *Nanomedicine*, 5: 1037-1050

-Pereira J., Oliveira I., Sousa A., Valentão P., Andrade P., Ferreira I., Ferreres F., Bento A., Seabra R., Estevinho L., (2007). Walnut (*Juglans regia*) leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and chemical toxicology*, 45:2287-2295

-Pereira JA, Oliveira I, Sousa A, Ferreira IC, Bento A, Estevinho L. 2008. Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia L.*) cultivars, *Food chem toxicol*, 46 (6):2103-2111

-Pouget A., (1875). Étude sur le noyer commun et sur son emploi en thérapeutique, Kessinger publishing, Paris, 100 p.

## Références bibliographiques

---

### Q

-**Qamar W., Sarwat S., (2011).** Polyphénols from « *Juglans regia* L. » (walnut) kernel modulate cigarette smoke extract induced acute inflammation, oxidative stress and lung injury in wistar rats. **Human and experimental toxicology** . 30 :499-506.

### R

-**Rahimipناه M., (2010).** Antioxidant activity and phenolic contents of Persian walnut (*Juglans regia* L.) green husk extract. *Journal of food science and technology*, 8 : 105-111.

-**Rahmoun S., (2016).** “Contribution à l’étude de la caractérisation morphologique du noyer commun (*Juglans regia* L) dans la wilaya de Tlemcen”, These de master, Page 7

-**Rüegg J., Grimm R., Vogelsanger J., Bolay A., (1993).** SchadbilderanWalnussbäumen, Merkblatt 608, Agroscope Changins-Wädenswil, 2 p.

### S

-**Sabatier S., (1999).** Variabilité morphologique et architecturale de deux espèces de noyers : *Juglans regia* L., *Juglans nigra* L. et de deux noyers hybrides interspécifiques, Thèse de Doctorat, Université des sciences et techniques du Languedoc, Montpellier, France. 224

-**Salas G., Morales-Soto A., Segura-carretero A., Fernández-Gutiérrez A., (2010).** Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples, *Molecules*, 15(12):8813-26

-**Santos A., (2013).** Leaves and decoction of *Juglans regia* L.: Different performances regarding bioactive compounds and in vitro antioxidant and antitumor effects. *Industrial crops and products*, 51 (2013) 430–436

-**Sasaki K., Abe H., Yoshizaki F., (2002).** In vitro antifungal activity of naphthoquinone derivatives. *Biological and pharmaceutical bulletin*, 25 : 669-670.

-**Sasha W. Eisenman., David E.Zaurov., Lena Struwe., ( 2013).** Medicinal plants of central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan; Springer; USA.

-**Schauenberg P., Paris F., (2005).** Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes, 2e ed, Ed Delachaux et Nestlé. 106-119.

-**Schuster E., Dunn-Coleman N., Frisvad J., Van Dijck P., (2002).** On the safety of *Aspergillus niger*. *Applied microbiology and biotechnology* , 59(4-5): 426-435.

-**Samson RA., Hoekstra ES., Frisvad JC., (2004).** Introduction to food and airborne fungi, Baarn, Central alchimmellcultures, Institute of the royal netherlands academy of arts and sciences. 389 p.

-**Simon Thierry., (2011).** Etude de la diversité génétique d'*Aspergillus fumigatus* et de

## Références bibliographiques

---

*Chlamydomypha psittaci* chez les oiseaux et mise au point de modèles expérimentaux aviaires, Microbiologie et parasitologie.

-**Serrano M., Zapata Pj., Castillo S., Guillén F., Martinez RD., Valero D., (2010).** Antioxydant and nutritive constituents during sweet pepper development and ripening are enhanced by nitrophenolate treatments, Food chemistry, 118(3): 497-503

-**Sharma N., Ghosh P., Sharma U., Sood S., Sinha A., Gulati A., (2009).** Microwave-assisted efficient extraction and stability of juglone in different solvents from *Juglans regia*: quantification of six phenolic constituents by validated rp-hplc and evaluation of antimicrobial activity. Natural plant products division, institute of himalayan bioresource technology (CSIR), Palampur, India

### T

-**Tajamul I., Ekta S., Gowhar A., (2014).** *Juglans regia*Linn : A phytopharmacological review. world journal of pharmaceutical sciences, 2321-3086.

-**Takwi A., Li Y., Buscaglia L., Zhang J., Choudhury S., Park A K., Liu M., Young K H., Park W-Y., Martin R., Li Y., (2012).** A statin-regulated microRNA represses human c-Myc expression and function. EMBO molecular medicine, 4(9): 896-909

-**Tandon V. K., Singh R. V., Yadav D. B., (2004).** Synthesis and evaluation of novel naphthoquinone derivatives as antiviral, antifungal and anticancer agents. Bioorganic & medicinal chemistry Letters. 14: 2901-2904.

-**Tulin A., (2016).** Enhancement of antifungal activity of juglone (5-hydroxy-1,4naphthoquinone) using plga nanoparticles system. Journal of agricultural and food chemistry, 64 (38) : 7087-7094.

-**Tsao R., (2010).** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols, Nutrients, 2(12): 1231-1246

-**Tsuchiya M., Meziane T., (2000).** Fatty acids as tracers of organic matter in the sediment and food web of a mangrove/intertidal flat ecosystem, Okinawa, Japan. Marine ecology progress series, 200,: 49–57.

### V

-**Vanier P., (1999).** Plantes médicinales, First Edition 1: 231p.

-**Voleurs JE., Tyler VE., (1999).** Tyler's herbs of choice: the therapeutic use of phytomedicinals, The havvorth herbal press, New York.

### W

-**Wichtl M., (2004).** *Juglandis folium*. Walnut leaf in: Herbal drugs and phytopharmaceuticals. Medpharm scientific publishers, Stuttgart: 281-282

-**Williamson G., Barron D., Shimoi K., Terao J., (2005).** In vitro biological properties of flavonoid conjugates found in vivo, Free radical research, 39(5):457-69.

## Références bibliographiques

---

### X

-**Xiuzhen H., Tao S., Hongxiang L., (2007).** Dietary polyphenols and their biological significance. International journal of molecular sciences, 8(9): 950-988

### Y

-**Yu J., Cleveland T., Nierman W., Bennett J., (2005).** *Aspergillus flavus* genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases. Revista **Iberoamericana** de Micología , 22(4): 194-202.

-**Yu J., Nierman W., Bennett J., (2010).** Genetics and genomics of *Aspergillus flavus*, Progress in mycology. Scientific publishers, India, pp 51–73

### Z

-**Zem T-L., Fernondez M-L., (2005).** Cardioprotective effects of dietary polyphenols. The journal of nutrition, 135: 2291-229.

-**Zhang Z., (2009).** Antioxidant phenolic compound from walnut kernels (*Juglans regia L.*), Food chemistry, 113: 160-165.

# Webographie

<http://sysbio.univ-lille1.fr/fiche/regia>

<http://www.auxvoletsblancs.fr/index.php/fr/patrimoine/terroir/la-noix>

<https://sites.google.com/site/arbresremarquableslorraine/organisation-du-site/arbre-8---noyer-a-euville>

[https://viagallica.com/v/noyer\\_europe.htm](https://viagallica.com/v/noyer_europe.htm)

<https://www.amazon.in/SHOP-360-GARDEN-Juglans-Carpathian/dp/B07X7PL2VX>

<https://www.couleursbois.com/techniques/les-bois/1790-noyer-commun>

<https://www.couleursbois.com/techniques/les-bois/1790-noyer-commun>

<https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/noyer.htm>

<https://www.jardindupicvert.com/arbres/3884-noyer-commun.html>

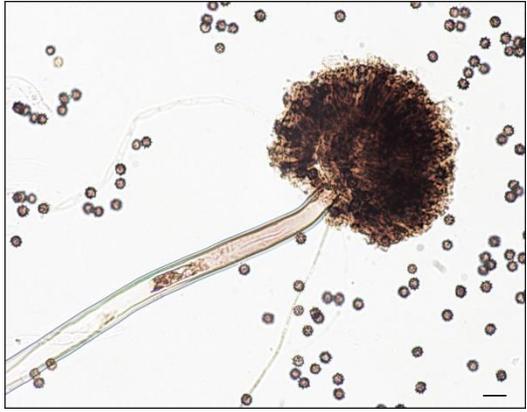
<https://www.notretemps.com/cuisine/actualites-cuisine/noix-decortiquee,i201488>

<https://www.preservons-la-nature.fr/flore/taxon/599.html>

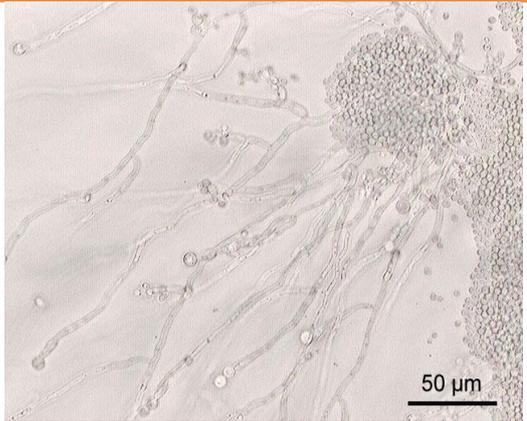
# Annexes

Annexe 1

Taxonomie et caractères généraux de différentes souches fongiques utilisées

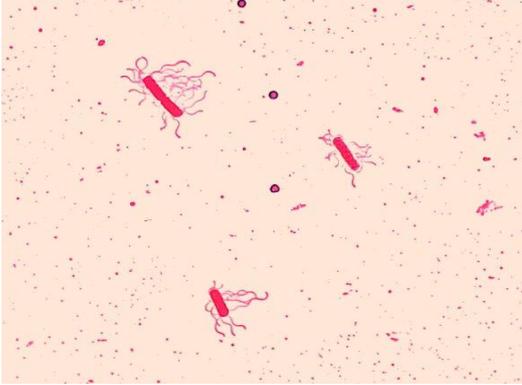
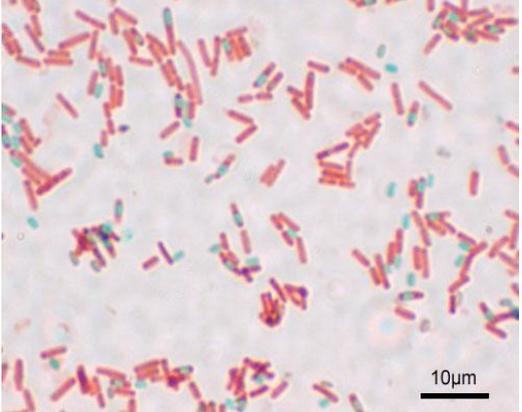
Souche fongique	Taxonomie	Caractères généraux
	<p>Règne: Fungi            Division: Zygomycota            Classe: Phycomycetes            Sous classe: Zygomycetes            Ordre: Mucorales            Famille: Mucoraceae            Genre: <i>Mucor</i>            Espèce: <i>Mucor sp</i></p>	<p>Champignons filamenteux basaux par rapport aux champignons supérieurs. Cosmopolites présents dans le sol, divers aliments (maïs, oignons, tomates, haricots, etc.), déjections d'animaux et dans l'air. Ils sont pathogènes des plantes et capables de contaminer des fruits ou des céréales (<b>Ribes et al, 2000</b>)</p>
	<p>Règne: Fungi            Division: Ascomycota            Classe: Eurotiomycetes            Ordre: Eurotiales            Famille: Trichomaceae            Genre: <i>Aspergillus</i>            Espèce: <i>Aspergillus flavus</i></p>	<p>Champignon terrestre extrêmement compétitif présent dans le monde entier. Il survit dans le sol en tant que saprobe sur de nombreuses sources de nutriments organiques, y compris les débris végétaux et animaux (<b>Payne et al, 2010</b>), un pathogène opportuniste des animaux et des humains, en particulier chez les individus immunodéprimés (<b>Chang et al, 2014</b>). Cet <i>Aspergillus</i> infecte également les récoltes et contamine les grains stockés : dans ces derniers substrats, il produit des métabolites cancérigènes des plus toxiques et des plus efficaces, telles les aflatoxines et les autres mycotoxines (<b>Yu et al, 2005</b>).</p>
	<p>Règne: Fungi            Division: Ascomycota            Classe: Eurotiomycetes            Ordre: Eurotiales            Famille: Trichomaceae            Genre: <i>Aspergillus</i>            Espèce: <i>Aspergillus niger</i></p>	<p>Cosmopolite et d'occurrence très commune : il se développe sur la matière organique en conditions aérobies (<b>Schuster et al, 2002</b>). Cette espèce est un contaminant commun sur les divers substrats (<b>Samson et al, 2004</b>); il a été trouvé dans le sol, dans le compost et sur la matière végétale en décomposition (<b>Schuster et al, 2002</b>) ; il peut même se trouver sur les sols glacés et dans les environnements marins, mais il préfère habituellement les sols secs et</p>

## Annexes

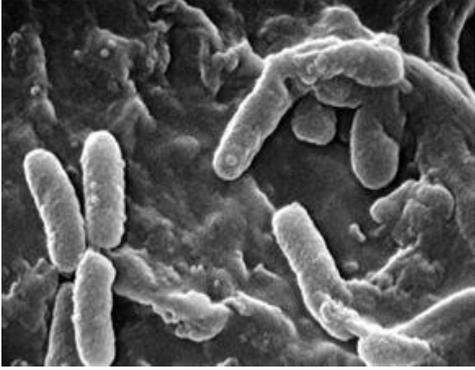
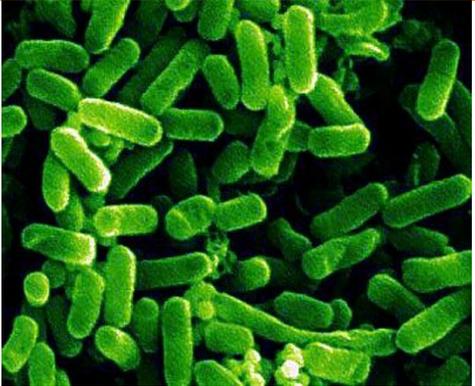
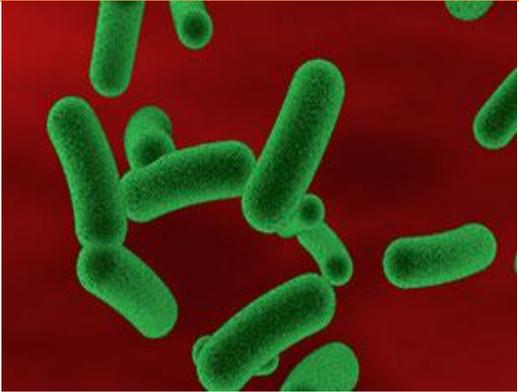
		<p>chauds. Il peut provoquer des aspergilloses, des otites et des sinusites. Il est aussi à l'origine d'infection cutanée, pulmonaire et généralisées (<b>Morin, 2003</b>).</p>
	<p>Règne: Fungi Division: Ascomycota Classe: Eurotiomycetes Ordre: Eurotiales Famille: Trichomaceae Genre: <i>Aspergillus</i> Espèce: <i>Aspergillus fumigatus</i></p>	<p>Des champignons microscopiques filamenteux x, qui vivent en saprobiose dans de très nombreux écosystèmes (<b>Thierry, 2011</b>) il joue un rôle important dans le recyclage du carbone et de l'azote organique. Exosaprophyte il vit dans le sol et les matières organique en décomposition, mais aussi sur de nombreux substrat comme les produits alimentaires (<b>Samson, 1994</b>). <i>Aspergillus fumigatus</i> est l'agent le fréquents des aspergillus humaine et animales (<b>Taylor et al, 2009</b>)</p>
	<p>Règne: Fungi Division: Ascomycota Classe: Saccharomycetes Ordre: Saccharomycetales Famille: Saccharomycetaceae Genre: <i>Candida</i> Espèce: <i>Candida albicans</i></p>	<p><i>Candida albicans</i> est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie (<b>Chu et al, 1993 ; Youssef Ali, 2014</b>) appartient à la flore commensale des individus sains, mais qui, lorsque le fragile équilibre entre le parasite et l'hôte est rompu, devient opportuniste et colonise les surfaces mucocutanées et les cavités orales et gastro-intestinales de nombreux mammifères (<b>Lagan, 2007</b>).</p>

Annexe 2

Taxonomie et caractères généraux de différentes souches bactériennes utilisées.

Souche	Taxonomie	Caractères généraux
	<p>Règne: Bacteria            Division: Firmicutes            Classe: Bacilli            Ordre: Bacillales            Famille: Bacillaceae            Genre: <i>Bacillus</i>            Espèce: <i>Bacillus cereus</i></p>	<p><i>B. cereus</i> est une bactérie correspondant à des bacilles à coloration Gram positive (De Vos <i>et al</i>, 2009). Cette bactérie est dite ubiquitaire (Guinebretière <i>et al</i>, 2008) ce qui explique donc que nous la retrouvons dans l'environnement et notamment dans les sols où elle semble pouvoir faire des cycles complets de germination, croissance et sporulation (Margulis <i>et al</i>, 1998). <i>B. cereus</i> est retrouvé dans des aliments très variés représente donc un problème pour l'industrie agro-alimentaire (Lee <i>et al</i>, 1995)</p>
	<p>Règne: Bacteria            Division: Firmicutes            Classe: Bacilli            Ordre: Bacillales            Famille: Bacillaceae            Genre: <i>Bacillus</i>            Espèce: <i>Bacillus subtilis</i></p>	<p>Bacille à Gram positif, gros, droit, mobile par des cils péritriches, capsulé (Bouhairi, 2017) aéroanaérobie, catalase positive, sporulée et mésophile, retrouvée principalement dans le sol (Baril, 2012). Elle est non pathogène et est un organisme d'altération des produits alimentaires (Bridier, 2011). Elle est capable de se développer dans de larges gammes de facteurs environnementaux, de sporuler et de former des biofilms (Cairns <i>et al</i>, 2014)</p>
	<p>Règne: Bacteria            Division: Firmicutes            Classe: Bacilli            Ordre: Bacillales            Famille: Staphylococcaceae            Genre: <i>Staphylococcus</i>            Espèce: <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p><i>Le Staphylococcus aureus</i> (ou staphylocoque doré) est une bactérie que l'on peut trouver normalement sur la peau et les muqueuses. Gram positif et catalase Positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom (George <i>et al</i>, 2005)            Elle est considérée comme l'un des germes les plus impliqués dans les toxi-infections alimentaires (Titouche <i>et al</i>, 2017)</p>

## Annexes

	<p>Règne: Bacteria          Division: Proteobacteria          Classe:          Gammaproteobacteria          Ordre: Pseudomonadales          Famille: Pseudomonadaceae          Genre: <i>Pseudomonas</i>          Espèce: <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p>Bacille à Gram négatif, droit, fin, non sporulé Très mobile (ciliature polaire), Appartient au groupe des bactéries non fermentantes, elle est Ubiquitaire, origine principalement environnementale (<b>Doléans-Jordheim et al, 2015</b>).          Naturellement résistante aux antibiotiques, qui peut devenir un pathogène opportuniste, responsable d'infections graves lorsque les circonstances favorables sont réunies (<b>Elmeskini, 2011</b>)</p>
	<p>Règne: Bacteria          Division: Proteobacteria          Classe:          Gammaproteobacteria          Ordre: Enterobacteriales          Famille: Enterobacteriaceae          Genre: <i>Escherichia</i>          Espèce: <i>Escherichia coli</i></p>	<p><i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Elle fut découverte en 1885 par Théodore Escherich. On trouve <i>E. coli</i> de façon commensale dans la flore intestinale et fécale, tant chez les humains que chez certains animaux. La flore intestinale est colonisée peu après la naissance. La bactérie et l'hôte coexistent sans impact sur leur santé respective. Cette coexistence entraîne des bénéfices mutuels <i>E. coli</i> peut non seulement être une bactérie commensale, mais aussi un pathogène (<b>Nataro et al. 2004</b>). Certains peuvent acquérir des facteurs de virulence particuliers et donner soit des pathologies extra-intestinales (infections urinaires) soit des pathologies intestinales (<b>Nataro et al, 1998</b>).</p>
	<p>Règne: Bacteria          Division: Proteobacteria          Classe:          Gammaproteobacteria          Ordre: Enterobacteriales          Famille: Enterobacteriaceae          Genre: <i>Klebsiella</i>          Espèce: <i>Klebsiella pneumoniae</i></p>	<p><i>Klebsiella pneumoniae</i> sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, diplobacilles généralement capsulées, non sporulées, anaérobies facultatifs (<b>El fertas-aissani, 2012</b>).  <i>K. pneumoniae</i> est une espèce ubiquitaire, et fréquemment isolée dans l'environnement à partir d'échantillons de sol, d'eaux de surface, d'eaux usées, de végétaux,</p>

## Annexes

---

	<p>et de muqueuses des mammifères, en particulier de la flore fécale. Chez l'homme, cette espèce végète sur la peau, les muqueuses, les voies respiratoires supérieures et elle est isolée des selles chez 30 % des individus. Pour ce qui est des infections nosocomiales, le tube digestif des patients hospitalisés et les mains du personnel sont les deux sources principales (<b>Baerwolf et al, 2002</b>).</p>
--	---

**Annexe 3****Matériels non biologique**

<b>Verreries et matériels</b>	<b>Equipements et appareils</b>
Anse de platine	Agitateur magnétique – incubateur
Barreaux magnétique	Bain-Marie
Béchers	Bec benzène
Boite de Pétri + parafilme	Microscope
Creuset	Balance
Cuve de spectrophotomètre	Règle
Disques d'antibiogrammes	Pompe à vide
Ecouvillons	pH mètre (Metler Toledo)
Embouts	Etuve
Entonnoirs	Spectrophotomètre
Eprouvettes graduées	Réfrigérateur
Erlenmeyers	Four à moufle
Fiole	Plaque chauffante
Flacon en verre	Broyeur (Moulinex)
Papier aluminium	Hotte
Papier filtre	Rotavapeur
Papier filtre	Vortex
Pince + ciseau	Micropipette
Pipettes gradués	/
Pipettes pasteur	/
Pissettes	/
Seringues	/
Spatule	/
Tubes à essai + portoir tube	/

## Annexes

---

Produits chimiques	Formule chimique
Acétate d'éthyle	$C_4H_8O_2$
Acétate de plomb	$C_4H_6O_4Pb$
Acétate de sodium	$C_2H_3NaO_2$
Acétone	$C_3H_6O$
Acide chlorhydrique	HCl
Alcool	$CH_3CH_2OH$
Alcool isoamylique	$C_5H_{12}O$
Carbonate de sodium	$Na_2CO_3$
Chlorure ferrique	$FeCl_3$
Coupeau de Mg	Mg
Dichlorométhane	$CH_2Cl_2$
DMSO	$C_2H_6OS$
Eau distillé	/
Eau physiologique	NaCl
Formol	$CH_2O$
Méthanol	$CH_3OH$
Réactif de Folin-Ciocalteu	/

**Annexe 4**

**Composition des milieux de cultures**

Milieu de culture	Gélose nutritive	Gélose Muller-Hinton	Gélose Sabouraud
<b>Composition</b>	-1g d'extrait de viande -2g d'extrait de levure -5g de chlorure de sodium. -10g d'Agar -Eau distillée (1litre pour 28g du mélange) -pH=7.4 (Sodium Igor, 2002)	-300ml d'infusé de bœuf -17.5g peptone de caséine -17g Agar -Eau distillée (1 litre pour 38g du mélange) -pH=7.4 (Sodium Igor, 2002)	-10g peptone -10g de glucose -15g Agar -10.5 chloramphénicol -Eau distillée (1litre) -pH=6.2 (Sodium Igor, 2002)

➤ **Composition de milieu PDA (Potatos Dextrose Agar)**

Laver et couper les pommes de terre en petit morceaux, les mettre dans 700ml d'eau distillée et porter à ébullition, ensuite filtrer et compléter avec :

Milieu	Caractéristiques	Compositions
<b>PDA (Guiraud,1998)</b>	<b>(Potatos Dextrose Agar)</b> Pour le dénombrement et l'isolement des champignons	Pomme de terre.....200g Glucose .....18g Agar .....20g Eau distillé .....1000ml pH=7.0+0.2 Antibiotique Augmentin 0.25g/l Autoclavage 20min à 120°C

## Résumé

L'objectif de notre travail est porté sur l'étude phytochimique de différents extraits des feuilles de *Juglans regia* : extrait aqueux et méthanolique. La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des molécules bioactives. Le screening phytochimique préliminaire des molécules bioactives a été réalisé sur la matière brutes des feuilles de la plante, et il a révélé la présence de différents constituants dont les phénoliques, les flavonoïdes, les stérols, les terpénoïdes, les coumarines, ainsi que d'autres molécules. La deuxième partie est l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de plante. La capacité antimicrobienne a été projeté contre les bactéries Gram positif (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*) et les bactéries Gram négatives (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*) et les champignons (*Aspergillus niger* et *A Aspergillus flavus*). Les feuilles de noyer ont sélectivement inhibé la croissance des bactéries à Gram positif, les bactéries Gram négatives et les champignons étaient résistants aux extraits

Les résultats trouvés dans cette étude suggèrent que les différentes parties de noyer commun et particulièrement les feuilles peuvent être considérées comme une source intéressante des agents antimicrobiens pour les industries médical et pharmaceutique.

**Mots clés:** *Juglans regia*, composé phénolique, flavonoïdes, activité antimicrobienne, Screening phytochimique

## Abstract

The objective of our work is focused on the phytochemical study of different extracts from the leaves of *Juglans regia*: aqueous and methanolic extract. The first part of this study concerns the extraction and quantification of bioactive molecules. The preliminary phytochemical screening of bioactive molecules was carried out on the raw material of the leaves of the plant, and it revealed the presence of different constituents including phenolics, flavonoids, sterols, terpenoids, coumarins, as well as other molecules. The second part is the study of the antimicrobial activity of plant extracts. Antimicrobialability has been shown against Gram positive bacteria (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*) and Gram negative bacteria (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*) and fungi (*Aspergillus niger* et *A Aspergillus flavus*). Walnut leaves selectively inhibited the growth of Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria and fungi were resistant to the extracts.

The results found in this study suggest that the different parts of common walnut and particularly the leaves can beconsidered as an interesting source of antimicrobial agents for the medical and pharmaceuticalindustry.

**Key words:** *Juglans regia*, phenolic compound, flavonoids, antimicrobialactivity, Phytochemical screening.

## ملخص

يتركز الهدف من عملنا على الدراسة الكيميائية النباتية لمستخلصات مختلفة من أوراق الجوز الشائع : المستخلص المائي والميثانولي. يتعلق الجزء الأول من هذه الدراسة باستخراج وقياس الجزيئات النشطة بيولوجيًا ، وقد تم إجراء الفحص الكيميائي النباتي الأولي للجزيئات النشطة بيولوجيًا على المادة الخام لأوراق النبات ، وكشف عن وجود مكونات مختلفة بما في ذلك الفينولات ، مركبات الفلافونويد والستيرولات والتريبينويدات و الكومارين بالإضافة إلى الجزيئات الأخرى. الجزء الثاني هو دراسة النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات النباتية. تم إثبات قدرة مضادات الميكروبات ضد البكتيريا موجبة الجرام والبكتيريا سالبة الجرام والفطريات. تثبط أوراق الجوز بشكل انتقائي نمو البكتيريا موجبة الجرام ، و كانت البكتيريا سالبة الجرام و الفطريات مقاومة للمستخلصات.

تشير النتائج التي تم العثور عليها في هذه الدراسة إلى أن الأجزاء المختلفة من الجوز الشائع وخاصة الأوراق يمكن اعتبارها مصدرًا مثيرًا للاهتمام للعوامل المضادة للميكروبات في الصناعة الطبية والصيدلانية .

**الكلمات الأساسية:** الجوز الشائع ، المركب الفينولي ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للميكروبات ، الفحص الكيميائي النباتي .