République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Dr YAHIA FARES de MEDEA

**Département Génie des Procédés et Environnement**



**Faculté de Technologie**

**Mémoire de fin d'études de Master**

Filière : Génie des procèdes

Spécialité : Génie chimique

# *Étude et caractérisation de quelques plantes médicinales de la région de Médéa : Effet biologique et applications thérapeutique*

**Présenté par :**

BOUGUERMI Leila & BOUZAR DILMI Safia

**Proposé et Dirigé par :**

Dr. NEDJHIOUI Mohamed.

Mme. HAMIDI Nadjia.

**Promotion 2020/2021**

# Remerciment

Nous remercions, du plus profond de notre coeur, Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Nous remercions, très chaleureusement Mr NEDJHIOUI Mohamed notre promoteur, Merci pour votre encadrement efficace, votre disponibilité et pour votre confiance qui nous a suivi et guidé tout au long de ce travail.

Au terme de ce travail nous tenons à remercier notre Co-promotrice Madame HAMIDI Nadjia pour, son attention ses encouragements sa patience, ses conseils et son grand soutien qui ont contribué énormément à la réalisation de ce travail.

Nous avons également, l'honneur et le plaisir de présenter nos profonds remerciements à Mme SEDDARI SOUMIA et à Mme SEDIRI MERIEM pour nous avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner notre travail.

Plus particulièrement, nous présentons nos remerciements les plus sincères et notre gratitude à la direction de SAIDAL pour l'opportunité qu'ils nous ont offert en nous accueillant au sein de leurs laboratoires pour mener à bien ce travail. Nous remercions vivement tout le personnel de SAIDAL pour nous avoir aidés à réaliser ce travail.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui m'ont aidé, à un titre ou un autre, qu'il s'agisse de la fourniture d'informations précieuses, ou du conseil Un grand merci à tous,

Enfin un énorme Merci à tous ceux qui nous ont aidé, conseillé, et ouvert leurs portes, parfois même avec un sourire, et qui se reconnaîtront certainement à la réalisation de ce modeste travail.

# DEDICACES

*J'ai le plaisir de dédier le fruit de mes années d'études et de sérieux travail à tous ceux qui ont sacrifié par leur amour, leur tendresse et leur confiance et surtout à ceux qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui*

*A mon Dieu «ALLAH» avant tout et après tout.*

*A mon père AMER : tu m'as donné la foi tu m'as jamais quitté tu m'as toujours aidé. Je te remercie pour ton soutien dans mes choix et ton attention sans faille, ainsi qu'à ton encouragement et l'amour inconditionnel qui m'accompagnent depuis toujours.*

*A ma mère : Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être .*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés , le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu , le très Haut , vous accorder santé, bonheur et longue vie .*

*A mes frères de leur soutien, aide, encouragement et de leurs conseils.*

*A mon oncle Kacemi Hamid .*

*A tout ma famille et mes copines que j'aime tant et qui ont toujours été là pour moi*

*« Maria », « Souhila », « khadidja », « Ahlem », « Chahrazed », « Nab ila », « Feriel ».*

*Ma collègue de travail et ma sœur «Safia» et sa famille ;*

*Ainsi que tous les amis (es) de la promotion Génie chimique 2016.*

*Leila*

# DEDICACES

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que je Dédie ce travail à :*

*Mes chers et magnifiques parents pour leur patience, leur amour, leur soutien, leur encouragement et leurs sacrifices tout au long de ma vie aucune expression ne serait exprimer mon grand amour.*

*A mon petit frère «Abd el wadoud» que j'aime trop*

*A ma chère sœur «Oumaima»*

*A ma chère tante «Saliha» que je l'aime beaucoup et qui m'encourage toujours, que dieu te garde pour moi.*

*A mes chères amies «Asma», «Asma», «Chamia» , «Sakina» et «Sarah»*

*A mes chères cousines «Meriem», «Ihssen», «Assia», «Noussaiba» et a mon cousin et mon frère «Ahmed»*

*A ma binôme «Leila»*

*A toute ma famille*

*A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.*

*Safia*

**مـلـخص:**

ركزنا في عملنا على دراسة الزيوت النباتية والمستخلصات المائية الكحولية لنبتتين في منطقة المدية بطرق مختلفة ومذيبات مختلفة : جذور وأوراق القرطم وجذور التلغودة. وكشف تحليل هذه المستخلصات عن طريق الاختبارات اللونية عن وجود مجموعات كيميائية قليلة: مركبات الفلافونويد ، والبوليفينول ، والجليكوزيدات ، والعفص في أجزاء من النباتات. تم تحديد المحصول لكل مستخلص.

تم إجراء تحديدات البوليفينول الكلي والفلافونويد من المستخلصات الخام ، والتي تم تحديد محتوياتها باستخدام منحنيات المعايرة لحمض الغال. تقييم قوة مضادات الأكسدة التي تم إجراؤها باستخدام طرق إزالة الجذور الحرة DPPH.

فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا ، يبدو أن المستخلصات من كلا النباتين لها خصائص مضادة للجراثيم مقبولة

**الكلمات المفتاحية**: النشاط البيولوجي، البوليفينول، الفلافونويد، القرطم، التلغودة

**Résumé :**

Notre travail a porté sur l'étude des huiles végétales et des extraits hydro-alcoolique pour deux plantes de la région de Médéa par différentes méthodes et différents solvants : des racines et des feuilles de *Carthamus* et des *racines des Telghouda.* L'analyse de ces extraits par les tests colorimétriques ont révélé la présence de quelques groupes chimiques : flavonoïdes, polyphénols, glycosides et des tannins dans les parties des plantes. Le rendement pour chaque extrait était déterminé.

Les dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont été effectués à partir des extraits bruts, dont les teneurs ont été déterminées à l'aide des courbes d'étalonnage de l'acide gallique. L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été déterminé en utilisant les méthodes du piégeage du radical libre DPPH.

L'étude de l'activité antibactérienne, révèle une présence des propriétés antibactériennes acceptables pour les extraits des deux plantes.

**Mot clés** : activité biologique, polyphénols, flavonoïdes, carthamus, Telghouda.

**Abstract:**

Our work focused on the study of vegetable oils and hydro-alcoholic extracts for two plants in the region of Medea by different methods and different solvents: roots and leaves of carthamus and roots of Telghouda. The analysis of these extracts by colorimetric tests revealed the presence of a few chemical groups: flavonoids,, polyphenols, glycosides and tannins in parts of the plants.

The yield was determined for each extract.

The determinations of the total polyphenols and of the flavonoids were carried out from the crude extracts, the contents of which were determined using the calibration curves for gallic acid. The evaluation of the antioxidant power, which was carried out using the DPPH free radical scavenging methods.

Regarding antibacterial activity, it appears that extracts from both plants have acceptable antibacterial properties.

***Keywords*** : biological activity, polyphenols, flavonoids, carthamus, Telghouda.

# LISTE DES TABLEAUX

**Tableau I.1 :** classification systématique de *Carthamus caeruleus.L* ..... 09

**Tableau I.2 :** classification systématique de *Telghouda*..... 11

**Tableau II.1 :** présente quelques classes distinctes des flavonoïdes..... 16

**Tableau II.2:** Estimation de la production d'huile essentielle de quelques pays en milliers de dollars..... 24

**Tableau III.1 :** Matériel utilisée..... 35

**Tableau III.2:** Les espèces végétales utilisées testées ..... 36

**Tableau III.3 :** Les souches utilisées dans le test de l'activité antibactérienne..... 57

**Tableau IV.1 :** Compositions chimiques de Carhamus et Telghouda..... 60

**Tableau IV.2 :** résultats des screening photochimiques..... 61

**Tableau IV.3 :** résultats du rendement des huiles végétales..... 62

**Tableau IV.4 :** résultats du rendement des extraits hydro-alcoolique ..... 64

**Tableau IV.5 :** résultats des propriétés physico-chimiques..... 65

**Tableau IV.6:** Teneur en polyphénols des extraits de macération dans l`eau pour différentes concentrations..... 74

**Tableau IV.7 :** courbe d'etalonnage : (acide gallique ) ..... 74

**Tableau V.8:** Teneur en polyphénols des extraits pour différentes ..... 75

**Tableau IV.9 :** l'absorbance de solution contrôle et d'essai à 517 pour chaque concentrations ..... 76

**Tableau IV.10 :** la concentration d'inhibition médiane de ces matière ..... 78

**Tableau IV.11 :** Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des souches bactérienne vis- à-vis avec l'HVC..... 79

**Tableau IV.12:** Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des souches bactérienne vis- à-vis avec l'HVT ..... 80

**Tableau IV.13:** Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des souches bactérienne vis- à-vis avec l'EHCF ..... 80

**Tableau IV.14:** Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des souches bactérienne vis- à-vis avec l'EHCR..... 81

**Tableau IV.15 :** Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des souches bactérienne vis- à-vis avec l'EHT..... .82

# LISTE DES FIGURES

**Figure I.1 :** Carte de l'Algérie ..... 05

**Figure I.2 :** Timbres postaux en Algérie..... 05

**Figure I.3 :** Différents partie de Carthamus Caeruleus L ..... 10

**Figure I.4 :** Représentation de plante Bunium mauritanicum L ..... 12

**Figure II.1 :** Structure chimique des polyphénols..... 14

**FigureII.2:**Structure de base des flavonoïdes ..... 15

**Figure II.3 :** Structure d'une molécule de coumarine ..... 18

**Figure II.4:** Structure de base de la lignine ..... .20

**Figure II.5:** représentation en 3D de la molécule de l'acide palmitique (C16:0)..... 21

**Figure II.6 :** Les huiles essentielles..... 23

**Figure II.7 :** L'entrainement a la vapeur d'eau..... 27

**Figure II.8 :** La distillation a vapeur saturée..... 28

**Figure II.9 :** Extraction par expression à froid ( ou par pression à froid ) ..... 29

**Figure III.1 :** Schéma de la méthodologie suivie ..... .34

**Figure III.2 :** carthamus..... .36

**Figure III.3 :** telghouda ..... 36

**Figure III.4 :** Les racines d'une carthamus ..... 37

**Figure III.5 :** les cendres des deux plantes ..... 39

**Figure III.6 :** Extraction a reflux..... 42

**Figure III.7 :** La Filtration des plantes ..... 42

**Figure III.8 :** Les extraits hydro-alcoolique ..... 43

**Figure III.9 :** Un extracteur Soxhlet..... 44

**Figure III.10 :** huile végétal de Telghouda..... 44

**Figure III.11:** huile végétal de carthamus ..... 44

**Figure III.12 :** l'indice de saponification ..... 47

**Figure III.13 :**Principe du spectrophotomètre UV-visible ..... 48

**Figure III.14 :** Protocole de dosage des polyphénols ..... 49

**Figure III.15 :** Principe de fonctionnement d'une chaine HPLC ..... 50

**Figure III.16 :** Spectre infrarouge ..... 51

**Figure III.17 :** Spectre UV DE DPPH..... 52

**Figure IV.1 :** Les étapes de la détermination de la composition chimique pour les deux plantes ..... 59

**Figure IV.2 :** rendement des huiles végétal ..... 63

**Figure IV.3 :** extrait hydroalcoolique pour les racines de carthamus et Telghouda et les feuilles de carthamus ..... 63

**Figure IV.4 :** rendement des extraits hydroalcoolique ..... 64

**Figure IV.5 :** Spectre de l'extrait hydroalccolique carthamus racines ..... 66

**Figure IV.6 :** Spectre de l'extrait hydroalcoolique carthamus feuilles ..... 67

**Figure IV.7 :** Spectre de l'extrait hydroalcoolique Telghouda ..... 68

**Figure IV.8 :** Spectre de l'huile végétale carthamus ..... 69

**Figure IV.9:** Spectre de l'huile végétale Telghouda ..... 70

**Figure IV.10 :** Spectre des racines de carthamus ..... 71

**Figure IV.11 :** Spectre des feuilles de carthamus ..... 72

**Figure IV.12 :** Spectre des racine de Telghouda..... 73

**Figure IV.13:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique ..... 75

**Figure IV.14 :** Résultats de l'activité antioxydant pour l'extrait aqueux de carthamus..... 76

**Figure IV.15 :** Résultats de l'activité antioxydant pour l'extrait aqueux de Telghouda .... 76

**Figure IV.16 :** Résultats de l'activité antioxydant pour l'extrait aqueux des feuilles de carthamus ..... 77

**Figure IV.17:** Résultats de l'activité antioxydant pour l'extrait aqueux d'huile végétal carthamus ..... 77

**Figure IV.18 :** Résultats de l'activité antioxydant pour l'extrait aqueux d'huile végétal Telghouda ..... 78

**Figure IV.19 :** Test de l'activité bactérienne ..... 79

**Figure IV.20 :** Résultats du test de l'activité antibactérienne ..... 82

## LISTE D'ABREVIATION

**CMI** la concentration minimale inhibitrice

**CT** Carthamus

**EH** Extrait Hydroalcoolique

**EHCF** Extrait Hydroalcoolique Carthamus Feuilles

**EHT** Extrait Hydroalcoolique Telghouda

**FTIR** La spectroscopie infrarouge à transformé de Fourier

**g** gramme

**HCl** Acide Chlorhydrique

**HCR** Extrait Hydroalcoolique Carthamus Racines

**HE** Huile Essentielle

**HPLC** Haute Performance Chromatographie en phase Liquide

$\mathbf{H_2So_4}$ acides sulfuriques

**HV** Huile Végétale

$\mathbf{I_A}$ Indice d'acide

$\mathbf{I_E}$ Indice d'ester

$\mathbf{I_S}$ Indice de saponification

**IR** Spectroscopie Infra Rouge

**MTR** Médecine Traditionnelles

**OMS** Organisation Mondiale de la Santé

**TL** Telghouda

# sommaire

**Résumé**

**Remerciments**

**Dédicaces**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste d'Abréviation**

**Introduction générale** ..... 1

## CHAPITRE I : Les plantes médicinales

I.1-Introduction ..... 03

I.2 - Généralité sur les plantes médicinale ..... 03

I.3 - Définition des plantes médicinale ..... 03

I.4 -Définition des principes actifs ..... 04

I.5 - L'histoire des plantes en Algérie ..... 04

I.6 - Intérêt de l'étude des plantes médicinales ..... 05

I.7 -Les avantages et les inconvénients des plantes médicinales ..... 06

I.8 -Importance de l'utilisation des plantes médicinales ..... 07

I.9 - La phytothérapie ..... 07

I.9.1 Définition ..... 07

I.9.2 L'intérêt de la phytothérapie ..... 07

I.9.3 Phytothérapie et connaissance des plantes médicinales ..... 08

I.9.4 Les facteurs de risques spécifiques à la phytothérapie ..... 08

I.10 -Carthamus caeruleus ..... 09

I.10.1 Définition ..... 09

I.10.2 Présentation botanique ..... 09

I.10.3 Classification systématique ..... 09

I.10.4 Description botanique ..... 09

I.10.5 Distribution géographique ..... 10
I.10.6 Utilisation traditionnelle ..... 10
I.11- Bunium incrassatum ..... 11
I.11.1 Définition ..... 11
I.11.2 Présentation botanique ..... 11
I.11.3 Classification systématique ..... 11
I.11.4 Description botanique ..... 11
I.11.5 Utilisation traditionnelle ..... 12
I.12 Conclusion ..... 12

## CHAPITRE II : Les substances actives : Huile essentielle, Lipides, Les composés phénoliques et les activités biologiques.

II.1.Introduction ..... 13
II.2.Les métabolites secondaire ..... 13
II.2.1.Définition ..... 13
II.2.2.Classification des métabolites secondaire ..... 13
II.2.2.1.Composés phénoliques ..... 14
II.2.2.1.1. Définition ..... 14
II.2.2.1.2. Polyphénols monomériques ..... 14
II.2.2.1.2.1Acide phénolique ..... 14
II.2.2.1.2.2Flavonoïde ..... 15
a- Structure des flavonoïdes ..... 15
b- Classification des flavonoïde ..... 15
II.2.2.1.3.Polyphénols sous forme de polymères ..... 17
II.2.2.1.3.1.Les coumarines ..... 17
II.2.2.1.3.2.Tanins ..... 18
II.2.2.1.3.3. Les alcaloïdes ..... 19
a - Classification ..... 19

b - Les terpenoïdes ..... 19
c - Lignines ..... 20
d - Intérêt biologique des flavonoïdes et composés phénoliques ..... 20
II.2.2.2.Les lipides ..... 21
II.2.2.2.1.Classification des lipides ..... 21
II.2.2.3.Les huiles essentielles ..... 23
II.2.2.3.1.Définition ..... 23
II.2.2.3.2. Classification des huiles essentielles ..... 24
II.2.2.3.3.Répartition systématique et caractères chimiques des huiles essentielles .... 24
II.2.2.3.4.Rôle physiologique ..... 25
II.2.2.3.5.Composition chimique des huiles essentielles ..... 25
II.2.2.3.6.Propriétés physico-chimique des HE ..... 25
II.2.2.3.7.Propriétés médicinales des HE ..... 26
II.2.2.3.8. Activités biologiques des huiles essentielles ..... 26
II.2.2.3.9. Extraction des huiles essentielles ..... 26
II.2.2.3.10 Principales méthodes d'extraction ..... 26
a- L'entraînement à la vapeur d'eau ..... 27
b- L'hydrodistillation ..... 27
c- La distillation à vapeur saturée ..... 28
d- L'hydrodiffusion ..... 28
e- L'expression à froid..... 29
II.3.Activité antioxydant ..... 29
II.3.1.Radicaux libres et leurs dommages..... 29
II.3.2. Formation des radicaux libres ..... 30
II.3.3.Le processus d'oxydation ..... 30
II.3.4.Le stress oxydant ..... 31

II.3.5.Les antioxydants ..... 31
Les sources d'antioxydants ..... 31
II.3.6.Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante ..... 31
II.3.7.Méthode de DPPH ..... 32
II.4.Activité antimicrobiennes ..... 32
II.4.1.Antibiotiques ..... 32
II.4.2.Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne ..... 32
II.4.2.1.Méthode de diffusion sur discs ..... 32
II.4.2.2.Méthode de diffusion en milieu solide ..... 32
II.4.2.3.Méthode de dilution en milieu liquide ..... 32
II.5.Conclusion ..... 33

## CHAPITRE III : Materiel et méthode.

III.1 Introduction ..... 34
III.2 Méthodologie ..... 34
III.3 Matériel utilisée ..... 35
III.4 Matière végétale ..... 36
III.4.1 Identification ..... 36
III.4.2 Prétraitement des plantes ..... 37
a - Lavage ..... 37
b - Séchage ..... 37
c - Broyage ..... 37
d - Tamissage ..... 37
III.5 Détermination de la composition chimique ..... 38
III.5.1. Détermination de la matière sèche ..... 38
III.5.2 Détermination de la matière minérale ..... 38

III.5.3 Cendres solubles et insolubles dans l'eau ..... 39
III.5.4 Détermination de la matière orgamique ..... 40
III.6 Détermination des métabolites secondaires (Screening Phytochimique) ..... 40
III.7 Préparation des extraits ..... 41
III.7.1 Extraction des polyphénols ..... 41
III.7.2 Rendement de l'extrait ..... 42
III.7.3 Extraction des lipides ..... 43
a - Principe d'extraction par soxhlet ..... 43
b - Protocol ..... 44
III.8 Détermination des constantes physico chimiques ..... 45
III.8.1 Caractérisation physique ..... 45
III.8.2 Caractérisation chimique ..... 45
III.9 Détermination quantitative des métabolites secondaires ..... 47
III.9.1 Spectrophotométrie ..... 47
III.9.2 Analyse quantitatives Dosage des polyphénols totaux ..... 48
Principe ..... 48
Mode opératoire ..... 49
III.9.3 La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ..... 49
Principe de la HPLC ..... 49
III.9.4 La spectroscopie Infrarouge ..... 50
III.10 Les activités biologiques ..... 51
III.10.1 Evaluation de l'activité antioxydant par la méthode au DPPH ..... 51
Principe ..... 51
Mode opératoire ..... 52
Expression des résultats ..... 53
Détermination d'IC50 ..... 53

III.10.2 Evaluation de l'activité antibactérienne ..... 53

III.10.2.1 Les souches Utilisées ..... 54

III.10.2.2 Milieux de cultures utilisées ..... 55

A- Principe ..... 56

B- Protocol ..... 57

Préparation des milieux de culture ..... 57

Application du test ..... 57

## CHAPITRE IV : Résultat et discutions.

IV.1. Introduction ..... 59

IV.2 Résultats de la composition chimique des plantes ..... 59

IV.3. Résultats des screening phytochimiques ..... 61

IV.4. Rendement en huiles végétales et les extraits poly phénolique ..... 62

IV.4.1. Huiles végétales ..... 62

IV.4.2. Extrait hydro-alcoolique ..... 63

IV.5. Détermination des constantes physico chimiques ..... 65

IV.6. Résultats de l'IR ..... 65

IV.7. Résultats d'analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible) ..... 74

IV.7.1.dosage des polyphénols ..... 74

IV.7.2 Courbe d'étalonnage : (acide gallique) ..... 74

IV.8.Résultats des activités biologiques ..... 75

IV.8.1. Activité antioxydant ..... 75

IV.8.2. Activité antibactérienne ..... 78

**Conclusion générale** ..... 83

# Introduction générale

# INTRODUCTION GENERALE

Les plants présentent depuis longtemps un rôle très important pour l'humanité, car elles peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complexes dotées souvent d'activités biologiques potentielles. On s'en sert traditionnellement pour se soigner, se détendre, aromatiser la nourriture et conserver les aliments. Elles constituent donc de merveilleuses usines végétales qui nous donnent la joie de guérir par un geste thérapeutique

Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances, si l'on considère que chacune de ces plantes peut contenir des centaines, voire des milliers de métabolites secondaires *(Hostettmann et al. 2002).* Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400000 espèces végétales connues ont été étudiées sur les plans phyto chimique et pharmacologique *(Hostettmann et al. 1998).*

Dans le but d'améliorer l'état de santé, les patients des pays développés ou ceux en voie de développement on a souvent recours à la thérapie médicale à cause de son efficacité.
En raison des effets secondaires qui peuvent être engendrés par cette thérapie médicale et le coût relativement élevé, beaucoup d'attention a été prêtée aux extraits bruts des plantes qui commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives .

Jusqu'à nos jours, l'usage populaire des plantes reste d'une grande importance. D'après les données fournies par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 80% de la population mondiale traitent leurs problèmes de santé par des remèdes traditionnels, d'une part parce qu'elles n'ont souvent pas accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne et, d'autre part, parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité *(Novais M.H. et al, 2004).* La majorité des médicaments actuels, sont d'origine végétale ou fabriqués à partir de leurs modèles (synthèse ou hémi synthèse chimique des principes actifs). La médecine par les plantes est donc devenue une grande science, dans laquelle on part de la plante vers le principe actif.

L'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée représentée par des plantes aromatiques et médicinales dont la plupart existe à l'état spontané. La valorisation de ces plantes demeure un domaine de grande importance pour le pays.

La région de Médéa, offre un paysage botanique excentrique et très diversifié, lié aux circonstances du climat, du sol et du relief. Elle est caractérisée par de nombreuses plantes médicinales qui suscitent un grand intérêt, par leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont, donc, à l'origine de produits à forte valeur ajoutée (extraits, résines…)

La communauté scientifique continue de chercher des composés chimiques capables d'atténuer les fièvres, de lutter contre les maladies cardiovasculaires, contre les plaies et enfin contre des vecteurs de douleurs que sont les virus et les bactéries.

Cette nécessité passe par la recherche de molécules naturelles nouvelles isolées des plantes médicinales qui sont utilisées par la médecine traditionnelle.

Le but de cette étude vise, dans un premier temps, à préparer des extraits aqueux pour connaitre les composés des plantes: la « *Carthamus caeruleus. L* », et la « *bunium incrassatum » appelée* aussi **«** *Telghouda* **»** par des solvants et de faire des dosages de ces extraits.

Pour notre travail, dans le premier chapitre, on donne des généralités, un historique des définitions et des classifications des plantes en général avec les plantes étudiées de notre travail. En donnant

Ensuite, dans le chapitre deux, l'étude est consacrée à la recherche et l'analyse des principaux métabolismes secondaires.

Enfin, on axe notre travail sur l'étude des activités biologique « antioxydantes » et « antibactériennes »

Dans ce travail, on traite aussi les différentes méthodes de travail et un travail expérimental incluant les interprétations des résultats. Et enfin une conclusion générale sur le travail est synthétisée.

# Chapitre I

## *Les plantes médicinales*

## I.1. NTRODUCTION:

Les plantes médicinales étaient et sont encore utilisées comme remèdes pour se soigner surtout dans les pays en voies de développement, des remèdes retrouvés dans la nature et pas chers et qui, avec le progrès de la chimie et de la pharmacologie, servent aujourd'hui à l'industrie pharmaceutique d'exemples pour la synthèse des médicaments non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi de sources pour l'invention de nouvelles molécules. Le nombre total de plantes utilisées par l'industrie pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire reste très difficile à estimer (*Organisation Mondiale de la Santé.1998*)

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse et l'importance de nos plantes, pour cela, dans ce chapitre nous avons choisi deux plante : *Carthamus Caeruleus* et *Bunium incrassatum* pour connaître l'étendue du besoin humain pour elles et l'utilisation de la phytothérapie qui repose sur le savoir ancestral des plantes médicinales. (*Zeghad Nadia, (2009)*)

## I.2. GENERALITE SUR LES PLANTES MEDICINALE :

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments. Aujourd'hui encore, une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. L'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaire végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites (*Hostettman.K., O. Poteratte et all, 1998*)

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme.

On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie : elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus.

## I.3. DEFINITION DES PLANTES MEDICINALES :

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine, En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine ; feuille, fleur (*Dutertre,2011*). Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle (MTR) dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les

différents composés présents (*Sanago, 2006*). Elles sont impliquées dans différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques ou même telles qu'elles sont**.** (*Iserin. P, 1996*)

## I.4. DEFINITION DES PRINCIPES ACTIFS :

Le principe actif c'est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (*Larousse, Encyclopédie des plantes médicinales*). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (*Benghanou M (2012)*).

Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par rapport aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température …) (*Benghanou, M. (2012)*).

## I.5. L'HISTOIRE DES PLANTES EN ALGERIE :

En Algérie l'usage de plantes médicinales est une tradition de mille ans. Chaque culture a une histoire d'utilisation des plantes médicinales pour guérir les maladies. Même pendant le colonialisme Français de 1830 à 1962, les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces comme médicinales et un livre sur les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie a été publié en 1942 par Forment et Roques où ils ont mentionné décrit et étudié 200 espèces. La plupart d'entre elles étaient du Nord de l'Algérie et seulement 6 espèces ont été localisées au Sahara (*Benhouhou, 2015*). Le travail le plus récent publié sur les plantes médicinales algériennes est reporté dans les ouvrages de *Bloued (1998) et Baba Aissa (1999) (Baba Aissa, F. (1999)).*

L'Algérie couvre une surface de 2,381.741 km2 est c'est le premier plus grand pays d'Afrique après la division du Soudan en deux parties : Nord et sud du Soudan. Deux chaînes montagneuses importantes, l'Atlas Tellien au Nord et l'Atlas Saharien au Sud, séparent le pays en trois types de milieu qui se distinguent par leur relief et leur morphologie, donnant lieu à une importante diversité biologique.




**Figure I.1 :** Carte de l'Algérie cité par http://www.carte-du-monde.net/pays-16-carte-vegetation-algerie.html 2021

Quant à la grande diversité des plantes médicinales en Algérie et leur usage, une synthèse regroupant toutes ces informations à l'échelle nationale devrait être rapidement entreprise. De tout temps, les plantes médicinales ont eu une grande influence et occupé une place importante dans la vie quotidienne en Algérie, on peut observer cette influence même sur les timbres postaux (*site web.1)*

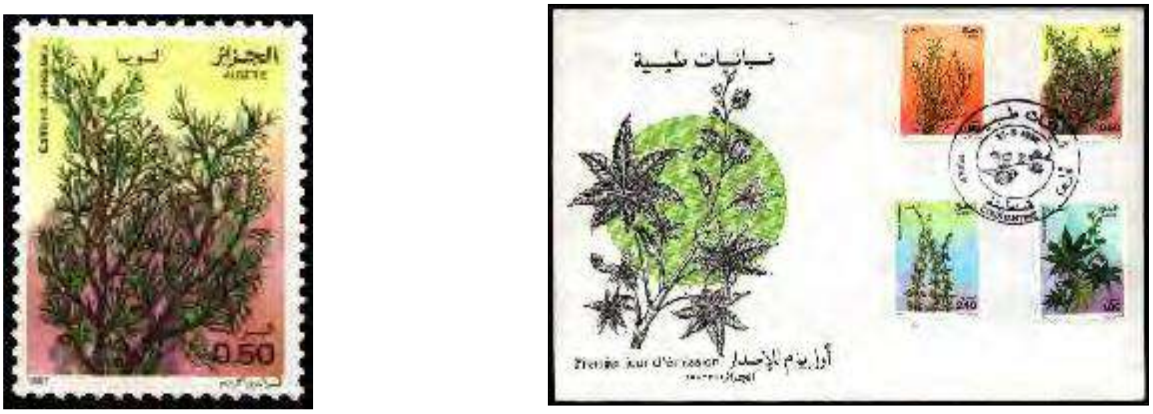



**Figure I.2 :** Timbres postaux en Algérie cité par (*site web.1)*

## I.6. INTERET DE L'ETUDE DES PLANTES MEDICINALES :

La pluparts des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent influencer, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. Elles sont utilisées aussi bien en

médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus **(***Verdrager, J, 1978*).

La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maitrisés **(***Anonyme, 1999*).

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et le dévelopement des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme model pour les composés pharmaceutiques ment actifs. (*Iserin P, 2001*).

Les plantes aromatiques constituent une catégorie à part, par le fait qu'elles élaborent des substances volatiles, odorantes, caractéristiques appelées huiles essentielles (*Verdrager, J, 1978*). Ces plantes, connus depuis l'antiquité, sont généralement utilisées en médecine traditionnelle comme agents antibactériens, antifongiques et antioxydant (*Bruneton J. 1999*).

## I.7. LES AVANTAGES ET LES INCONVINIENT DES PLANTES MEDICINALES :

- **Les avantages :**

Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable : c'est l'un de leurs principaux avantages. De plus, l'action synergique des divers constituants commence à être mieux comprise et acceptée scientifiquement (*Decaux I. 2002*), contrairement à certaines croyances populaires, plusieurs plantes ont des effets pratiquement immédiats sur le métabolisme **(***Pinto et al .2003 ; Salgueiro et al. 2003*)

Par contre, les médicaments de synthèses ont souvent une action plus directe et plus spectaculaire puisqu'ils sont formulés pour être immédiatement assimilés par l'organisme. Il est également plus facile de s'assurer de leur composition exacte, de leurs conditions de conservation (*Simon y. Mills, 2001*).

- **Les inconvénients :**

Certaines plantes sont inoffensives, mais d'autre, comme de nombreuses espèces (digitale, belladone, colchique, etc...), sont toxiques et ne sont utilisées sous des formes bien contrôlées, exclusivement commercialisées en pharmacie. L'emploi inconsidéré de plantes cueillies dans la nature peut aboutir à des intoxications graves et mortelles (*Williamson EM. 2001*)

## I.8. IMPORTANCE DE L'UTILISATION DES PLANTES MEDICINALES :

Il est acquis que les plantes médicinales sont en mesure de soigner des maladies simples comme le rhume, ou d'en prévenir de plus importantes comme l'ulcère, la migraine, l'infarctus en plus de certaines allergies ou affections. Si l'on y ajoute leurs vertus réparatrices, tonifiantes, sédatives, revitalisantes ou immunologiques, on mesure mieux l'aide précieuse qu'elles sont susceptibles de nous apporter au quotidien (*Anonyme, 2005*)

## I.9. LA PHYTOTHERAPIE :

### I.9. 1 DEFINITION :

La phytothérapie provient de deux mots grecs : «pythons » qui signifie plante, « thérapein » qui signifie soigner donc c'est une pratique thérapeutique qui utilise des plantes pour prévenir ou soigner une maladie (*Max Wichtl, Robert Anton.2003*). La phytothérapie est une discipline qui étudie les plantes médicinales donc est une façon de mettre à profit les propriétés médicinales des végétaux en utilisant les plantes sous forme de préparations dites "galéniques" afin de soigner ou de prévenir les maladies, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (*Chamer,2016*).

Actuellement la phytothérapie connait un regain d'intérêt, en partie grâce au développement technologique et à l'avancée de la science qui a permis de démystifier les composants des plantes et d'en faire des remèdes plus simples avec l'avènement des formes simples et pratiques.

### I.9.2. L'intérêt de la phytothérapie :

La phytothérapie est certainement **la meilleure moyen de prévenir** mais aussi pour **traiter la plupart de nos maux du quotidien**.

Les plantes sont une réponse de choix pour fournir naturellement à l'organisme les substances nécessaires pour maintenir son équilibre vital.

A travers les siècles et les continents, les hommes ont appris à acquérir des connaissances sur les plantes et de leurs propriétés thérapeutiques. La médecine traditionnelle (chinoise, indienne, sud-américaine, africaine…) est riche en expérience accumulée depuis les temps les plus anciens.

Aujourd'hui, l'efficacité de la médecine « à base de plantes » est scientifiquement reconnue et prouvée**.** Ses **bienfaits incontestables pour notre santé et sa dimension naturelle** ont permis à la phytothérapie d'entrer dans notre vie au quotidien. *(Site web 2)*

**I.9.3. Phytothérapie et connaissance des plantes médicinales :**

La phytothérapie n'est qu'une des branches de la connaissance des plantes médicinales, vaste ensemble qui comprend aussi la phytochimie, la phytopharmacie et la phytopharmacologie.

**a. Phytochimie :**

La phytochimie s'intéresse à l'identification et au contrôle (par prise d'empreintes) des différents constituants des plantes, ainsi que de décrire les principes inconnus.

**b. Phytopharmacie :**

Le principal objet de la phytopharmacie est la préparation médicamenteuse, c'est-adire le produit fini - par exemple tisane ou teinture - permettant la mise en œuvre des principes.
La phytopharmacie comprend notamment la pharmacognosie, c'est-à-dire le contrôle des préparations médicamenteuses.

**c. La phytopharmacologie :**

La phytopharmacologie s'intéresse aux constituants végétaux, la pharmacocinétique et la pharmacodynamique des composés chimiques naturels qui sont rarement étudiées.

**d. Phytothérapie :**

La phytothérapie, quatrième branche de la connaissance des plantes médicinales, décrit les possibilités et les limites de l'application des produits phytothérapeutiques aux indications la médecine humaine. Elle intéresse principalement les médecins et les paramédicaux ayant recours aux plantes médicinales. Enfin, beaucoup de produits phytothérapeutiques conviennent à l'automédication, surtout à titre préventif. *(Site web .3)*

**I.9.4. Les facteurs de risques spécifiques à la phytothérapie :**

Parmi les facteurs de risque spécifique à la phytothérapie

- Mauvaise identification botanique.
- Sélection d'une mauvaise partie de la plante.
- Stockage inapproprié.
- Contamination de la plante par divers agents chimiques, métaux lourds, microorganismes.
- Altération du produit végétal lors du conditionnement.
- Erreur d'étiquetage du produit final (*Larrey D. J Hepatol.1997*)

## I.10. CARTHAMUS CAERULEUS :

### I.10.1. Définition :

Le nom générique est dérivé du mot arabe Kurthum, qui signifie "teinture" (Kartam) (*Beniston, N.W. (1984)*). C'est une plante à fleurs qui a liée aux les chardons (*Lamarck, J.B. et Marie, J.L. (1785)*). Carthamus est un membre de la tribu des cynarées, sous-famille tubuliflores, et de la famille des Astéracées. Il comprend 25 espèces ( *Murthy,I.Y.L.N. et Anjani,K. (2008)*).

### I.10.2. Présentation botanique de Carthamus caeruleus L. (*Quezel P, Santa S. (1963)), (Beniston, N.W. (1984)*) :

Etymologie : caeruleus s'applique aux fleurs « de la couleur du ciel ».
Floraison : Avril-Juillet
Habitat : Champs, terrains incultes, commun partout

### I.10.3. Classification systématique :

L'espèce *Carthamus caeruleus l appartient* à la systématique suivante : *(Quezel et Santa,1993)*

**Tableau I.1 :** classification systématique de *Carthamus caeruleus.L*

| Règne | Gerne | Famille | Sous famille | Espèce | Embranchement | Sousembranchement |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Plante** | Carthamus | Astéracées | Carduoideae | Carthamus caeruleus L | Spermaphytes | Angiospermes |

Classe : Dicotylédones
Ordre : Asterales F
Synonyme : Carthamus caeruleus L /Carduncellus caeruleus L/ Kentrophyllum caeruleum/ Onobroma cearuleus L
Nom arabe : Merghres Ghers, Kenjdar, Gergaa, Qartum

### I.10.4. Description botanique :

Carthame caractérisé par son inflorescence de couleur bleue. . est connue également sous le nom carduncelle bleu appartient à la famille des asteraceaes. est une plante vivace à tige dressée et velue, haute de 0.2 à 0.6 m, ses Feuilles lancéolées à dents épineuses. , les supérieures sont fortement dentées et piquantes, les fleurs a corolle tubuleuse. Les fruits du

Carthamus caeruleus sont des akènes. *(Bowles,V.G., Mayerhofer,R., Davis,C., Good,A.G. et Hall,J.C. (2010))* .

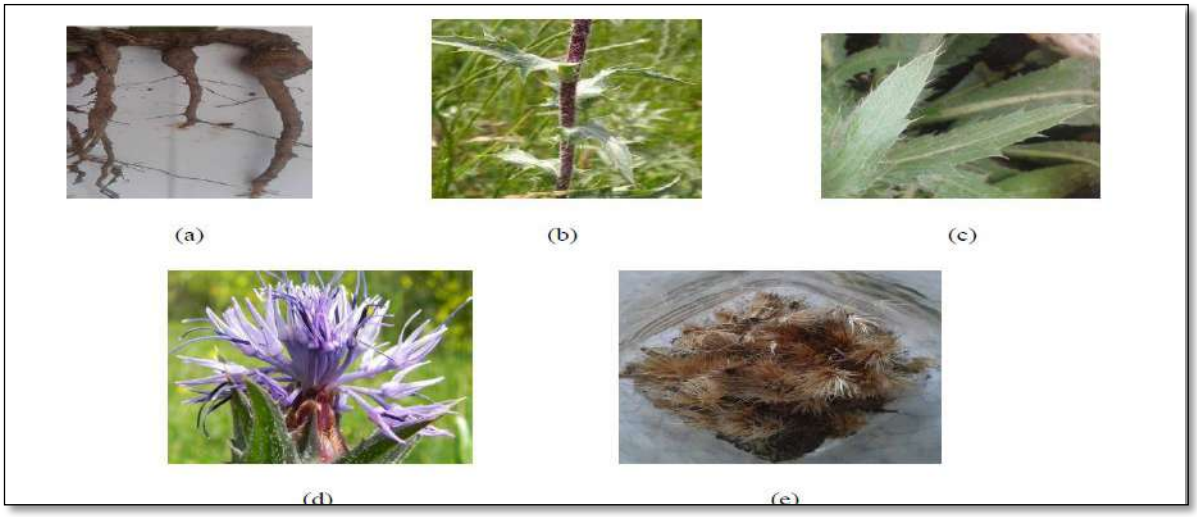



**Figure I.3 :** Différents partie de ***Carthamus Caeruleus*** L

**(a) :** Racine ; **(b) :** Tige ; **(c) :** Feuille ;
**(d) :** Fleur ; **(e) :** Fruits

### I.10.5. Distribution géographique :

C'est une espèce peu commune qu'on peut rencontrer dans les terrains maigres de provance et de Corse. Elle préfère les lieux secs et ensoleillés du Bassin Méditerranéen. Elle est originaire du Sud-Ouest de l'Asie, d'orient, mais répondue depuis dans le reste de l'Asie, en Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye), en Australie et dans les deux Amériques, ainsi qu'en Europe. (*boullard, 2001 ; Miolane, 2004*).

En Algérie, elle se trouve dans les régions côtières méditerranéennes (Annaba, tipaza , Bejaia, Boumerdes), ainsi que dans les hauts plateaux (Sidi bel-Abbès, Bouira, médéa..).

### I.10.6. Utilisations traditionnelles :

La plante étudiée est bien connue dans le Nord de l'Algérie, notamment en Kabylie, ses rhizomes sont utilisés dans le traitement des brûlures cutanées sous forme de crème préparée à partir des rhizomes préalablement lavés et épluchés puis bouillie dans l'eau. La crème obtenue est appliquée directement sur la partie brulée et les résultats sont étonnants pour cela elles sont observés chez des personnes traités par cette dernière.

## I.11. BUNIUM INCRASSATUM :

### I.11.1. Définition :

Bunium incrassatum, est une espèce aromatique appartement à la famille des Apiacées. très répondue dans les parties en l'est de l'Algérie surtout dans la région de Médéa. Elle est appelée Telghouda. Il s'agit d'une plante médicinale économiquement importante. Les racines de cette plante sont très nutritives et généralement consommée comme la pomme de terre (*Quezl et Santa,1963*).

### I.11.2. Présentation botanique :

**Nom botanique :** *Bunium incrassatum* (Boiss)

**Nom vernaculaire (en arab) :** Telghouda.

**Aire de répartition :** commune dans toute l'Algérie.

*(Site web.4 )*

**Floraison :** mai-juillet

### I.11.3.Classification Systématique :

La classification de la plante Bunium incrassatum L est montrée dans le tableau 1. Selon *(site web 5)*

**Tableau I.2 :** classification systématique de *Telghouda.*

| **Règne** | **Gerne** | **Famille** | **Espece** | **Ordre** | **Classe** | **Division** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Plante** | Bunium | apiacées | Bunium incrassatum | Apiales | Magnoliopsida | Magnoliophyta |

### I.11.4.Description botanique :

C'est une plante vivace herbacée de 30-70 cm, à port d'ombellifère la tige est grêle, sillonnée, surtout vers le haut, les feuilles sont alternes, 2-3 fois divisées en lanières étroites de contour générale triangulaire et ses fruits environ 2 fois plus longs que large, à cotes saillantes, aromatiques. Partie souterraine tubercule brunâtre généralement arrondi de 1-2 cm de diamètre, brunâtre à l'extérieur, blanc à l'intérieur (*Couplan et Styner,1994*)



**Figure I.4 :** Représentation de plante Bunium mauritanicum L(*Chentouh et al., 2018*)

### I.11.5. Utilisation traditionnelle :

Les espèces du genre Bunium sont des plantes aromatiques ayant des propriétés médicinales, leurs huiles essentielles ainsi que leurs graines sont souvent utilisés dans l'alimentation et la médecine (*Jassb et al, 2005*).

L'usage le plus poussé est celui de la thyroïde. Comme propriété thérapeutique la plante a une propriété émolliente. Ce caractère marque que Talghouda non seulement comme un aliment mais également comme source ce soin. Ailleurs, les graines constituent un succédané au cumin et donne également une huile évoquée dans des soins traditionnels. Dans le système indigène des médicaments, séchés et en poudre les tubercules sont considérés comme astringents et anti-diarrhéiques et trouvé utile contre les hémorroïdes inflammatoires.

Cette plante est utilisée pour le traitement de la bronchite et de la toux. La chimie de cette espèce n'a pas été étudiée auparavant. Des études phytochimiques antérieures sur le genre Bunium révélées la présence de coumarines, sesquiterpènes et notamment les huiles essentielles. (*Bousetla et al.,2011*).

### I.12. Conclusion :

L'utilisation des quelques plantes médicinales ont quelques effets thérapeutiques bien faisant, sur l'organisme trouve donc son intérêt dans notre vie quotidienne. Une plante agit par l'ensemble de ses constituants, vérifiés et dosés par le végétal lui-même dont c'est le rôle exclusif. Lorsque l'on en extrait une substance unique considérée comme le principe actif, il s'agit en général d'un poison dont l'usage être valable, et d'après notre travail on peut dire que les plantes qu'on choisissait (*Carthamus caeruleus* L et Talghouda) sont riches en molécules bioactives à intérêts bénéfiques sur la santé des êtres vivants ces dernier est montré dans les chapitres suivants (*Hanni M , Gheraba R (2018)*).

# Chapitre II

## *Les substances  actives*

**II.1. Introduction:**

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites: les métabolites primaires et les métabolites secondaires *(Hartmann T., 2007.)*.

Le terme « métabolite secondaire », qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes. Telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques.

Les métabolites secondaires peuvent être des moyens de signalisation et d'interaction entre les plantes et les animaux disséminateurs ou pollinisateurs : certains métabolites secondaires interviennent dans les mécanismes d'attraction des animaux (monoterpènes parfumées, anthocyanes de couleur ou de caroténoïdes dans les fleurs), nécessaires à la dispersion des graines et des insectes pollinisateurs par l'intermédiaire de couleurs et d'odeurs *(Yezza S, Bouchama S., (2013/2014))*.

**II.2. Les métabolites secondaire :**

**II.2.1.Définition :**

Le terme «métabolite secondaire», qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes. Telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques *(Yezza S, Bouchama S., (2014))*.

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies (*Hartmann, 2007*) et sont d'une variété structurale extra ordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique *(Yezza S, Bouchama S., (2014))*

**II.2.2.Classification des métabolites secondaire :**

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. Ils

présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et la cosmétique *(Aref et Heded, 2015).*

### II.2.2.1. Composés phénoliques

#### II.2.2.1.1. Définition :

Les polyphénols sont des molécules qui appartiennent au métabolisme secondaire. Ce sont des groupes de molécules de structures variées, l'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzoïque auquel est directement lié un groupe hydroxyle (OH), libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Site web.6)

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulier *(Nkhili, 2009).*

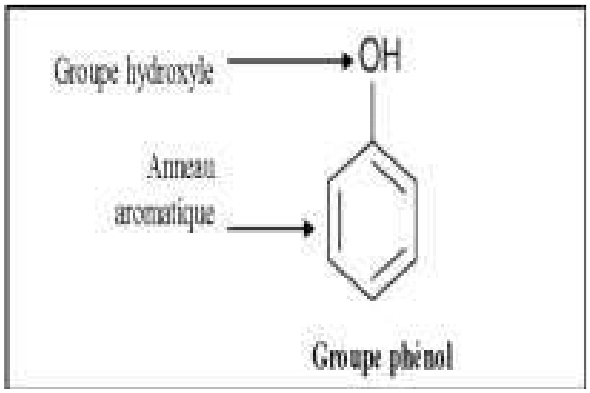



**Figure II.1 :** Structure chimique des polyphénols *(Yezza S, Bouchama S., (2014))*.

#### II.2.2.1.2. Polyphénols monomériques :

##### II.2.2.1.2.1.Acide phénolique :

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, éthérifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) *(Iserin et al., 2001)*. Ces composés sont dérivés de deux sous groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques , dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogenique. Et les acides hydroxybenzoïque , mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Sont contenus dans un

certain nombre de plantes agricoles et médicinales et présents chez toutes les céréales. Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prebiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques *(Yezza S, Bouchama S., (2014))*

**II.2.2.1.2.2.Flavonoïde :**

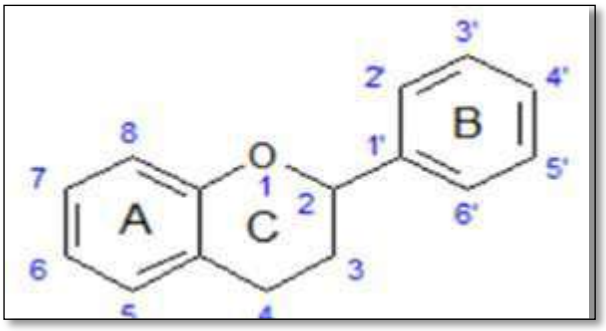
Le terme flavonoïde (de flavus, ‹‹ jaune ›› en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols *(Bouakaz, 2006)*. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux *(Havasteen, 2002).*

Les flavonoïdes se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier *(Delporte et al., 1999).*

**a-Structure des flavonoïdes :**

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C6, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Ce dernier est situé entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (Figure ci-dessous)*(Bruneton, 1999).*

La Distinction des sous-classes se fait sur la conformation de la structure centrale (cycle C).




**FigureII.2:**Structure de base des flavonoïdes *(Dacosta, 2003).*

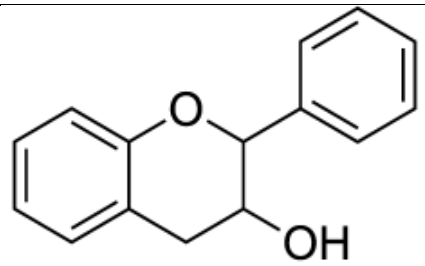
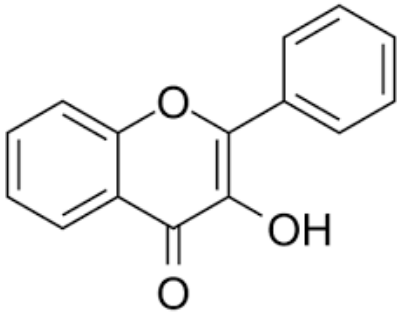
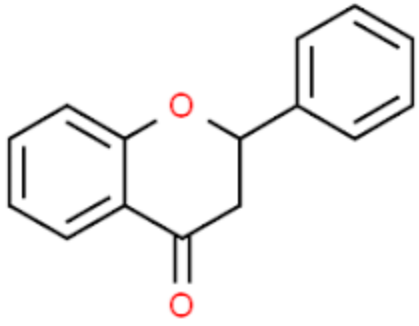
**b-Classification des flavonoïde :**

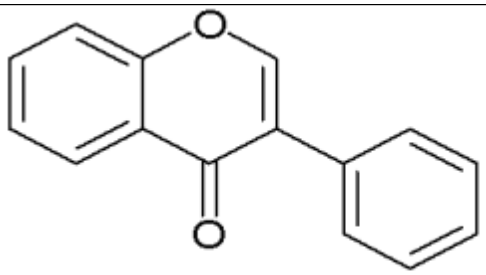
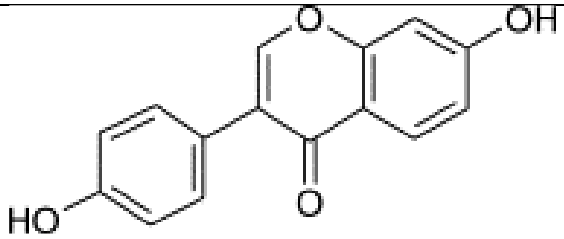
La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des

conjugaisons sur le cycle C, c'est-à-dire, la présence de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (*Yao et al. 2004 ; Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006).*

(De Rijke et collDe Rijke E., Out P., Niessen W M A., Ariese F., Gooijer C., Brinkman U A T., 2006) . ont classé les flavonoïdes en 6 familles qui impliquent les flavonols, les flavones, les flavanes, les isoflavones, les anthocyanines et les flavanols.

**Tableau II.1 :** présente quelques classes distinctes des flavonoïdes *(Bellebcir, 2008).*

| Classe | Formule | Source | Propriété |
|---|---|---|---|
| **Flavones** |  | raisins, Thé, cacao | -Antioxydants naturels<br>-anticancéreuses |
| **Flavonols** |  | Oignon, pomme,<br>brocoli, fruits rouges | - antihistaminique, antiinflammatoire<br>et antioxydante.<br>- antihistaminique, antiinflammatoire<br>et antioxydante.<br>- Isorhamnétine : propriétés<br>antioxydante. |
| **Flavanones** |  | Les Agrumes : orange,<br>citron, pamplemousse,<br>mandarine, orange amère | - neutralisation des radicaux<br>libr.es.<br>- amélioration de l'absorption<br>de la vitamine C.<br>- la prévention des cancers de<br>la peau. |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Isoflavones** |  | Soja | - phytoestrogéniques.<br>- Source de phytoestrogènes. |
| **Anthocyanes** |  | Myrtille, mûre, raisin<br>noir, aubergine, prune… | - la lutte contre le<br>vieillissement cellulaire en<br>améliorant l'élasticité et la<br>densité de la peau.<br>- Présente comme des couleurs<br>brillant dans les fruits et les<br>légumes.<br>- antiseptiques urinaires. |

Les propriétés des flavonoïdes sont aujourd'hui largement étudiées dans le domaine médical : activité antivirale, anti tumorale, anti inflammatoire, anti allergique et anticancéreuse *(Ahmed Bessas.2008)*, antioxydants d'où leur usage pour le maintien d'une bonne circulation, veinotrope et protecteurs capillaires, hepatoprotecteurs et antithrombiques (Jean Bruneton., Elliot Middleton, JR., Chithan Kandaswami, and Theoharis C. Theoharides.).

**II.2.2.1.3. Polyphénols sous forme de polymères :**

**II.2.2.1.3.1.Les coumarines :**

Ce sont des composés phénoliques qui dérivent des acides hydroxycinnamiques par simple cyclisation oxydative de la chaîne latérale à 3 carbones *( Amelot n, (2010))*. Les coumarines sont des composés chimiques hétérocycliques, produits par la combinaison d'un noyau benzène avec un pyranne, présentant une fonction cétone en position α par rapport à l'oxygène.

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraichement fauché, a l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyll0ien, les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuse, 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 *(Deina et al., 2003 ; Booth et al., 2004).*

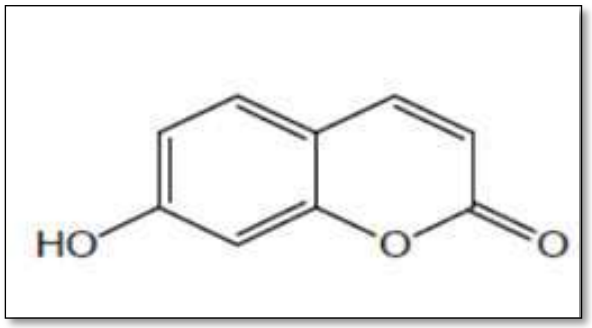



**Figure II.3 :** Structure d'une molécule de coumarine *(Djemoui, 2012).*

**II.2.2.1.3.2.Tanins :**

Sont des substances végétales qui se combinent avec les protéines pour donner des composés insolubles, les plantes renferment des tanins sont astringentes, ce qui peut être utile en cas de diarrhée. Mais de fortes concentrations sont dangereuses, les Fagacées, les Salicacées et les Rosacées sont parmi les familles les plus riches en Tanins *(Groor H R , Raven; 1998.)*

Les tanins sont divisés en deux groupes :

· Les tanins condensés, formés de pro-anthocyanidines (sous forme d'oligomères)

· Les tanins hydrolysables, esters des acides-phénols et de glucose *(Abedini A., (2013).)*

**a. Tanins condensés (flavan-3-ols) :**

Les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou pro-anthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine (fruits, légumes, thé, dattes,..).
Il a été rapporté par Haslam (1998) que les tanins jouent un rôle important dans les qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits).

**b. Tanins hydrolysables :**

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acides-phénols, ou de dérivés d'acides-phénols. La molécule glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides, ce groupe de tanins est caractéristique des Dicotylédones ; nous le

rencontrons notamment chez les résides dans tous les organes : racines, tiges, feuilles ou fruits avant la maturité.

Les tanins hydrolysables sont constitués d'un noyau central -le glucose- et de chaînes latérales (en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère (s) d'acide-phénol. Des liaisons carbones à carbone entre noyaux (liaisons biphényle réalisé par couplage oxydatif), conduisent à des molécules ramassées plus ***(****Hmid I., (2013).,)*

**II.2.2.1.3.3. Les alcaloïdes :**

Le terme « alcaloïde » a été introduit par W. Meisner au début du XIXème siècle, la définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910 .Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale a caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe *(Badiaga, 2011).*

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine. L'intérêt qu'on leur porte reposait traditionnellement sur leur action physiologique et psychologique et particulièrement violente chez l'homme *(Frissou, S. Hani, D. (2014)).*

**a- Classification :**

On distingue :

**Les pseudo-alcaloïdes**: Ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale: exemple la conicine.

**Les proto-alcaloïdes:** L'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acides aminés exemple : hordéines, colchicine.

**Les alcaloïdes :** vrais que l'on classe suivant de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle; bio-synthétiquement formés à partir d'acides aminés possèdent une activité pharmacologique marquée *(Frissou, S. Hani, D. (2014)).*

**b-Les terpenoïdes :**

Le terme terpène inventé par Kekulé, vient de leur origine historique de l'arbre de térébinthe : « *PistaciaTerebinthus* » *(Ayad, 2008).*

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composéssont majoritairement d'origine végétale *(Malecky, 2005)*. Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux *(Benaissa, 2011).*

L'exploitation de ces composés s'effectuait sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) par le moyen de la distillation *(Malecky, 2005).*

**c- Lignines :**

Les lignines sont des bio-polymères complexes à squelette aromatique dont la composition et la proportion varient avec l'espèce, l'âge et la taille du végétal. Elles sont parmi les principaux composants du bois avec les celluloses et les hémicelluloses. Les lignines sont particulièrement localisées dans la paroi secondaire et permettent le maintien de la rigidité végétale. Elles permettent aussi le transport de l'eau, des éléments minéraux et jouent le rôle de barrière physico-chimique contre les agents pathogènes *(Zahahe Oulame M., (2017)).*

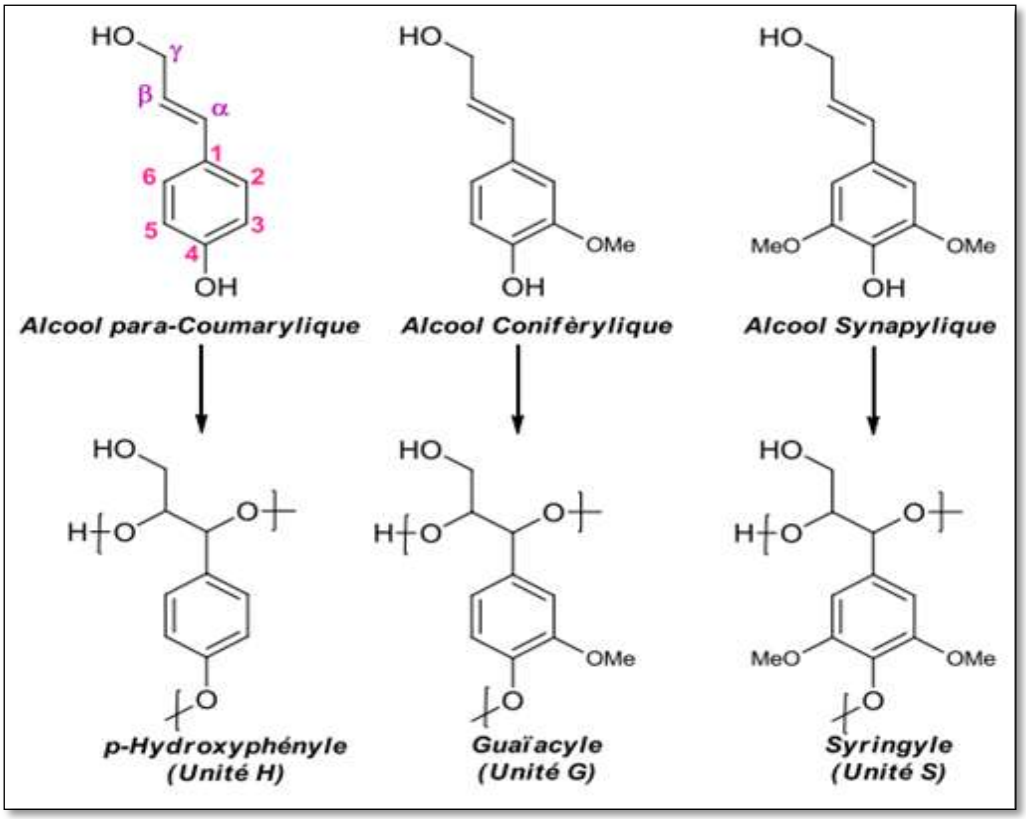



**Figure II.4:** Structure de base de la lignine *(Condassamy Olivia (2015).)*

**d- Intérêt biologique des flavonoïdes et composés phénoliques :**

Les flavonoïdes montrent une activité antimicrobienne, exemple des travaux de Harikrishna et al. (2004), ont démontré le pouvoir antimicrobien d"un flavonoïde glycoside " prunine-6"-O-pcoumarate" contre deux souches de bactéries gram+ (*Bacillus subtilis et Staphylococcus albus*) et deux bactéries gram- (*Escherichia coli et Proteus vulgaris*).

In vitro, chez les animaux de laboratoire, ils ont montré une inhibition de la croissance de diverses variétés de lignées de cellules cancéreuses *(Narayana K. R.,Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R. (2001))*

**II.2.2.2.Les lipides :**

Les lipides sont souvent définis comme des composés naturels insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants non polaires *(Vanceet Vance, 2008 ; Prasad, 2010)*. Ces petites biomolécules présentent des propriétés hautement hydrophobes à amphiphiles, basées sur leur structure et leur fonction.

**II.2.2.2.1.Classification des lipides** :

**a-Les acides gras (AG) :**

Les acides gras sont des acides carboxyliques (R-COOH). Le groupement carboxylique est hydrophile alors que le radical (R) est une chaîne aliphatique de type hydrocarbure de longueur variable qui donne à la molécule son caractère hydrophobe **(Figure II.5).**

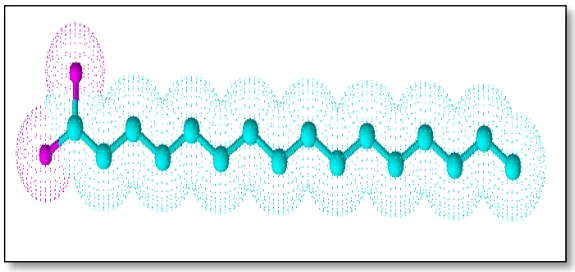



**Figure II.5**: représentation en 3D de la molécule de l'acide palmitique (C16:0**).**

La partie hydrophobe, ou queue, est composée de la chaine aliphatique composée d'atomes de carbone et d'hydrogène. La partie hydrophile, ou tête, est constituée du groupement carboxylique (COOH).

Les acides gras insaturés portent une ou plusieurs insaturations. La double liaison peut prendre une position *cis* ou plus rarement *trans*. Par exemple, chez les plantes, le phosphatidylglycérol présente l'insaturation en *trans* (*trans*-9-16:1) *(Dubots et al., 2012)*. Synthétisés uniquement chez les plantes, l'acide linoléique (C18:2) et l'acide linolénique (C18:3) sont les acides gras polyinsaturés les plus abondants chez les plantes.

**b- Les lipides vrais :**

Ils résultent de la condensation d'acides "gras" avec des alcools par liaison ester ou amide.

**c- Les lipides simples (neutres) :**

Les lipides neutres sont des esters d'alcools et d'acides gras composés uniquement d'atomes de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. On distingue trois catégories différentes en fonction de la nature de l'alcool estérifié sur l'AG.

**Les Glycérides :**

Les glycérides sont des esters d'acides gras et de glycérol. En fonction du nombre d'acides gras estérifiés au glycérol, on trouve les monoacylglycérols (MAG), les diacylglycérols (DAG) et les triacylglycérols (TAG). Les TAG représentent la forme de stockage des lipides dans les cellules et une réserve d'énergie.

**Les Cérides :**

Les cérides sont des acides gras estérifiés à des alcools à longue chaîne. Ils sont, en général, des alcools primaires, à nombre pair de carbones, saturés et non ramifiés. Ils constituent la majeure partie des cires animales (la cire des abeilles, le blanc de baleine…), végétales (le revêtement des feuilles, fruits, tubercules et des racines) et bactériennes (la paroi des bacilles).

**Les Stérides :**

Les stérides sont des esters d'acides gras et de stérols. Les stérols sont composés d'un noyau rigide à quatre cycles avec une ou plusieurs fonctions alcool. Il y a deux types de stérols : i. les stérols « libres » non estérifiés comme le cholestérol chez les animaux, le stigmastérol chez les plantes et l'ergostérol chez la levure. ii. Les stérols conjugués sont les stérols estérifiés, soit par un acide gras (les esters de stérols, SE), soit par un sucre (généralement du glucose) tels que les phytostérols glycosilés, le steryl glucoside (SG) et les acyls stéryl glycosides (ASG) (*Axelos and Péaud-Lenoël, 1982; Cacas et al., 2012).*

**d- Les lipides complexs :**

Ces hétéro lipides contiennent des groupes phosphate, sulfate ou glucidique. Ils sont classés par rapport à la molécule qui fixe les acides gras :

- soit le glycérol qui se distingue des acylglycérols par l'hétéro groupe et qui sont subdivisés en :
- glycérophospholipides,
- glycéroglycolipides.
- soit une base sphingoide (dialcool aminé) qui définit les sphingolipides**.**

**Les glycérophospholipides :**

Ce sont les lipides les plus nombreux et les plus représentés qui sont construits à partir du squelette d'un mono ester du glycérol.

**Les glycéroglycolipides :**

Les alcools des carbones C1 et C2 du glycérol sont estérifiés par des acides gras et l'alcool du carbone C3 à la différence des glycérolipides n'est pas estérifié, mais il est lié à un ose par une liaison glycosidique.

**Les sphingolipides :**

Le squelette à partir duquel sont constitués ces lipides n'est pas le glycérol mais une diol amine à chaîne longue carbonée de type sphingoide. La fixation d'un acide gras sur le groupe amine donne une céramide qui est la molécule précurseur des lipides de ce groupe.

### II.2.2.3 Les huiles essentielles :

#### II.2.2.3.1.Définition :

Ce sont des molécules à noyau aromatique et à caractère volatil qui donne à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs. Elles jouent un rôle de protection des plantes contre excès de la lumière et attirer des insectes pollinisateurs *(Dustant et al, 2013).*

Elles sont utilisées pour soignes les maladies inflammatoire telle que les allergies, eczéma, favorise l'expulsion des gaze intestinale comme les fleur frais au séchées des plante « camomille » *(Isarin et al,. 2001).*

Au point de vue chimique, il s'agit de mélange extrêmement complexes. Les huiles essentielles (HE) sont constituées de différent composants comme les terpènes, esters, cétones, phénols, et d'autres éléments *(Benayad, 2008).*



**Figure II.6 :** Les huiles essentielles

**II.2.2.3.2. Classification des huiles essentielles :**

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens, et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogramme, *(Chakou et Bassou (2007))* classent les huiles essentielles comme suit:

• Les huiles majeures

• Les huiles médiums

• Les huiles terrains.

**II.2.2.3.3.Répartition systématique et caractères chimiques des huiles essentielles :**

Les HE n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Environ 1% des espèces élaborent des essences . Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles regroupent , en particulier les labiés ( thym, Menthe , Lavande , etc. ) , Les Ombellifères ( Anis , Fenouil , Angélique , cumin …etc.), Les Myrtacées ( *Myrthe , Eucalyptus )* , Les Lauracées ( *Camphrier , Laurier-sauce , cannelle*) *( Benayad , 2008).*

**Tableau II.2:** Estimation de la production d'huile essentielle de quelques pays en milliers de dollars *(djossou,2006)*

| Pays | Valeurs |
|---|---|
| USA | 145000 |
| Chine | 110000 |
| URSS | 30000 |
| Maroc | 30000 |
| Bulgarie | 26000 |
| Inde | 25000 |
| France | 20000 |
| Egypte | 12000 |
| Espagne | 10000 |
| Algérie | 8000 |
| Haïti | 8000 |
| Madagascar | 6000 |
| Cote d'Ivoire | 3500 |
| Burkina faso | 500 |
| Cuba | 500 |

**II.2.2.3.4. Rôle physiologique :**

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. selon **Bakkali (2008)** , les huiles essentiels peuvent avoir plusieurs effets « utiles » pour la plante : repousser ou au contraire attirer les insectes pour favorises la pollimination , comme source énergétique , facilitant certaines réactions chimiques , permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques , réduction de la compétition des autres espèces de plante par inhibition chimique de la germination des graines , par protection contre la flore microbienne infectieuse, action répulsive sur les prédateurs par gout et effets défavorables .

**II.2.2.3.5. Composition chimique des huiles essentielles :**

La composition chimique d'une HE est très complexe et soumise à de très nombreuses variables. Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est fondamental, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle *(Couic-Marinier F, Lobstein A,2013)*

Une HE a une composition moléculaire complexe qui lui confère des vertus uniques. Elle ne contient ni protéines, ni lipides, ni glucides, ne renferme pas de minéraux ni de vitamines : elle n'a donc aucune valeur nutritionnelle *(Couic-Marinier F, Lobstein A, 2013)*
Leur composition est variable en fonction de la partie concernée de la plante, mais aussi selon l'origine géographique des végétaux utilisés (*Bourrain J. L. 2013)*

Les HE contiennent deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distincte : le groupe des terpénoides d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du 1-1.phénylpropane, beaucoup moins fréquent , d'autre part *(Bruneton J., 2009)*

**II.2.2.3.6. Propriétés physico-chimique des HE :**

Les principales caractéristiques physicochimiques communes des huiles essentielles sont :

- Elles sont solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau ;
- Elles sont dotées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques ;
- Elles sont très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité
- Liquides à température ambiante ;
- Elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes ;

- Elles sont volatiles et très rarement colorées ;
- Les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes ont une densité faible
- Leur indice de réfraction vari essentiellement en fonction de la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse *(Abbes A, (2014).)*

**II.2.2.3.7. Propriétés médicinales des HE:**

Les huiles essentielles ont des propriétés médicinales nombreuses et variées. La plupart des constituants des huiles essentielles ont un pouvoir antimicrobien d'où leur usage comme antiseptiques. D'autres possèdent des propriétés digestives ou des propriétés anti spasmodiques, sédatives, cicatrisantes, etc…Ces activistes sont dues surtout à leurs constituants terpéniques *(Benbelaid F, (2015))*

En outre, de nombreuses HE présentent une activité contre tous les différents types de douleurs et sont très utilisées pour traiter les troubles articulaires inflammatoires. Elles ont la propriété de renforcer et de relancer les défenses immunitaires de l'individu C'est dans ce sens que l'on a pu dire que les essences aromatiques étaient cytophylactiques (protectrices des cellules vivantes) *(Ouis, N. (2015).)*

**II.2.2.3.8. Activités biologiques des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses, cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants entant qu'agents antimicrobiens à large spectre *(Hammoudi, 2008; Ferhat et aL, 2009).*

**II.2.2.3.9. Extraction des huiles essentielles :**

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction *(Samate Abdoul, 2001).*

**II.2.2.3.10. Principales méthodes d'extraction :**

Il existe plusieurs méthodes de distillation dont voici les principales:

**a- L'entraînement à la vapeur d'eau :**

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînables par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation *(Bruneton, 1993).*

En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux:

- au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau, ce qui est fréquent;
- au niveau inférieur, si elle est plus dense que l'eau.

Les principales variantes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont l'hydrodistillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion *(Bruneton, 1993).*

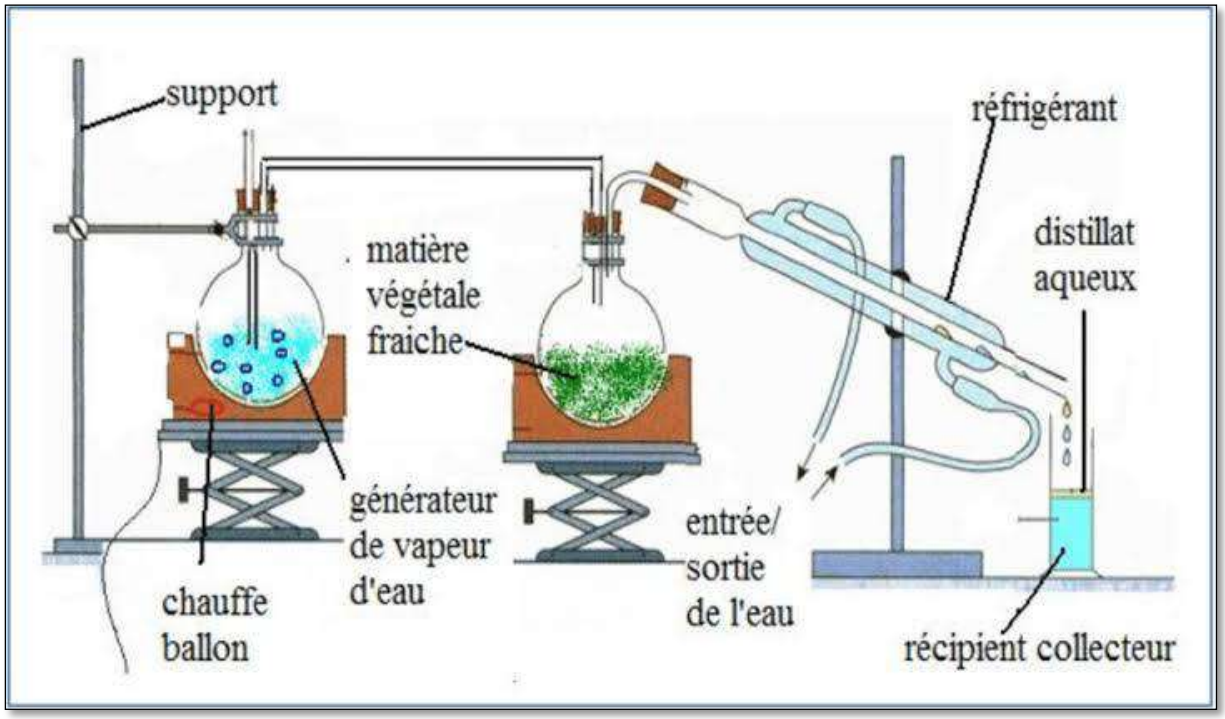



**Figure II.7 :** L'entrainement a la vapeur d'eau.

**b- L'hydrodistillation :**

Le principe de l'hydrodistillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est à dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant, à cause de

l'eau, de l'acidité, de la température du milieu, il peut se produire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, d'oxydation, d'isomérisation, etc. qui peuvent très sensiblement conduire à une dénaturation *(Brian, 1995)*.

**c-La distillation à vapeur saturée :**

Dans cette variante, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. La distillation à vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques ou médicinales. En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition d'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées *(Brian, 1995)*.

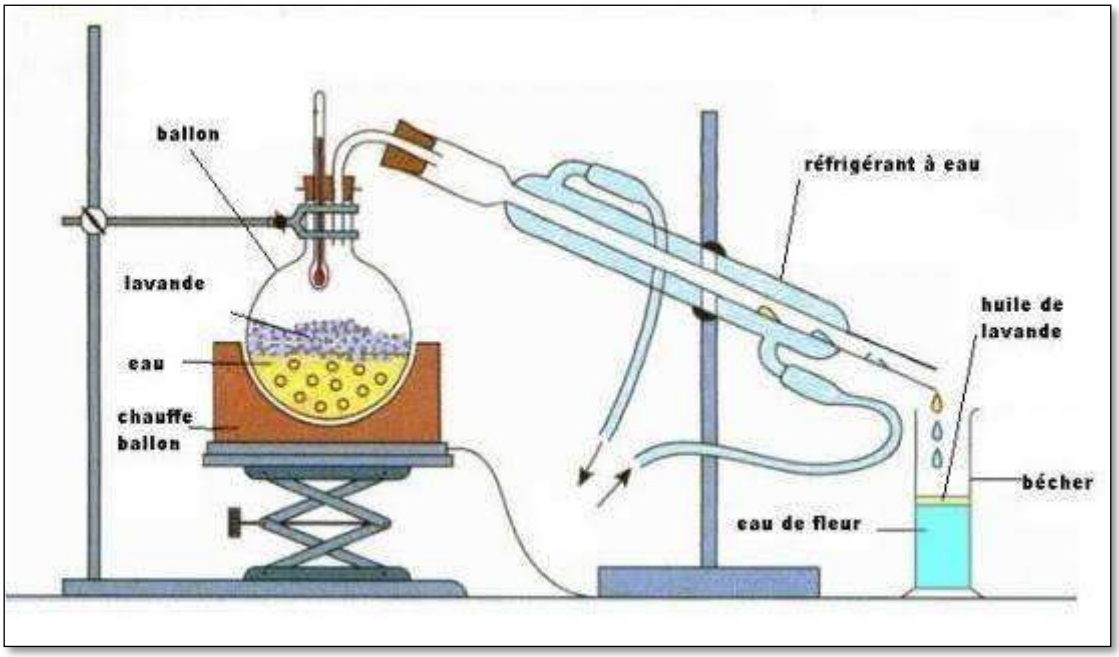



**Figure II.8 :** La distillation a vapeur saturée

**d-L'hydrodiffusion**

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie *(Roux, 2008)*.

**e-L'expression à froid :**

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'encore des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique *(Roux, 2008).*



**Figure II.9** :Extraction par expression à froid ( ou par pression à froid ) cité par http://tpehuilesessentiellesetsante.e-monsite.com/pages/i-les-huiles-essentielles-une-utilisation- millenaire/definition/b-les-differentes-techniques-d-extraction-des-huiles-essentielles.html 2021

## II.3. Activité antioxydante :

### II.3.1. Radicaux libres et leurs dommages :

L'oxygène est une molécule indispensable aux processus vitaux, à la respiration cellulaire et la vie en général. Cette molécule peut entrainer des dommages cellulaires importants par formation de dérivés oxygénés activés tel que les radicaux libres. Les radicaux libres sont des composés chimiquement instables porteurs d'électrons non appariés et qui réagissent avec d'autres molécules, les déstabilisant à leur tour, et induisent ainsi une réaction en chaîne. Ces composés chimiques sont dits oxydants responsables du phénomène d'oxydation des lipides, dénaturation des protéines, ils peuvent aussi causer des altérations au

niveau de l'ADN, augmentant les possibilités de mutation. Le radical hydroxyle (OH˙) et le radical super oxyde (O2˙-) sont les radicaux les plus réactifs. *(Goudable et Favier, 1997*).

### II.3.2. Formation des radicaux libres :

#### a- Réaction d'oxydoréduction :

Les radicaux libres les plus courants possèdent un seul électron célibataire. Ils peuvent être formés depuis une espèce radicalaire qui subit une réaction d'oxydoréduction. Il y a alors perte ou gain d'électron.

**Oxydation: R-X ⟶ R-X• $^{+}$ + e- ⟶ R• + $X^{+}$ + e-** **Eq (1)**

**Réduction : R-X +e- ⟶ R-X•- ⟶ R• +X-** **Eq (2)**

**REMERQUE :** Le signe « • » représente l'électron célibataire.

#### b- Rupture homolytique :

La production de radicaux libres peut se faire également par rupture homolytique d'une liaison covalente, ce qui entraîne la formation de deux entités ayant chacune un électron célibataire.

**R-X ⟶ R• + X•** **Eq (3)**

La rupture homolytique est le partage symétrique du doublet de valence commun, par opposition à la rupture hétérolytique qui donne naissance à des ions de charge opposée. Celle ci intervient le plus communément en phase gazeuse ou en phase liquide pour les molécules ayant des liaisons peu polarisées *(Guillouty A., (2016)).*

La molécule de dioxygène est représentative de ce type de rupture. L'énergie de liaison qui relie les deux atomes d'oxygène (150 kJ mol-1) est relativement faible par rapport à la liaison carbone-carbone (346 kJ mol-1). Cette liaison étant fragile, elle est plus apte à subir une rupture homolytique *(Guillouty A., (2016)).*

### II.3.3. Le processus d'oxydation :

L'oxydation est un processus biochimique par lequel le corps produit des radicaux libres responsables de réactions en chaine d'attaque et de destruction des molécules biologiques. Les mécanismes d'oxydation des composés insaturés sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et se déroulent en 3 phases :

- ✓ La phase de déclenchement : où se forme un radical libre. L'arrachement des protons est facilité par la chaleur, rayonnements ou catalyseurs ;

- ✓ La phase de propagation : où l'oxygène fixé donne un radical peroxyde qui réagit avec une autre molécule et conduit à un néo-radical libre et un hydro-peroxyde ;
- ✓ La phase de terminaison : où se recombinent différents radicaux formés *(Marc et al.,2004)*.

**II.3.4. Le stress oxydant :**

Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives d'oxygène (ERO), en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants. Les ERO non détoxiquées par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules notamment les lipides, les protéines et l'ADN. *(Koechlin.Ramonatxo,2006)*

**II.3.5. Les antioxydants :**

Les antioxydants sont des molécules qui peuvent réduire les radicaux libres *(Thomas, 2010)* par leur transformation en molécules stables et non réactives *(Koechlin.Ramonatxo, 2006)*. Elles sont bénéfiques à la santé en neutralisant les dommages cellulaires causés par les espèces réactives de l'oxygène (radicaux libres) *(Benbrook, 2005)*.

- **Les sources d'antioxydants :**

✓ L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces répartis en deux types :

**a. Les antioxydants enzymatiques** : synthétisés dans l'organisme.

**b. Les antioxydants non enzymatiques** : sont des piégeurs de radicaux libres dont la plus part

sont apportés par l'alimentation on cite les antioxydants du règne végétal *(Koechlin-Ramonatxo, 2006)*.

**c. Les antioxydants du règne végétal** : Les polyphénols , Les flavonoïdes , Tannins .

**II.3.6. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante :**

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de la capacité anti-oxydante on cite : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) or ABTS (2,2-azinobis 3-ethylbenzothyazoline 6-sulphonate), DPPH+ (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) …etc *(Georgieva et al., 2010)*.

### II.3.7. Méthode de DPPH :

Le composé chimique 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (α, α-diphenylβ picrylhydrazyle) fût l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité anti-oxydante des composés phénoliques *(Popovici et al.,2009).*

## II.4 Activité antimicrobiennes :

### II.4.1. Antibiotiques

Le terme « antibiotique » (issu des termes grecs «anti», signifiant « contre » et bios, « vie »), est toute substance d'origine naturelle produite par un microorganisme (habituellement une bactérie ou une moisissure) capable d'inhiber la croissance ou de détruire d'autres microorganismes *(Chevalier, 2012).*

### II.4.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne :

#### II.4.2.1. Méthode de diffusion sur discs :

A partir de colonies de chaque souche, une suspension bactérienne est réalisée dans l'eau physiologique. La turbidité de cette suspension est ajustée à 0.5 Mc Farland. Un inoculum est alors obtenu, et ensemencé par inondation sur des boites de pétri contenant la gélose Meuller Hinton. Des disques stériles de papier filtre imprégnés de différents extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose. Les boites de pétri sont incubées à 37°C à l'étuve pendant 24 heure. L'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque *(Bolou et al ., 2011).*

#### II.4.2.2. Méthode de diffusion en milieu solide :

Avec un emporte - pièce des puits sont creusés dans la gélose de Mueller-Hinton coulée dans des boîtes de Pétri et ensemencées par un germe - test. Les diamètres d'inhibition sont mesurés autour des puits après une pré-incubation de 45 mn à température ambiante et une incubation à l'étuve à 37° C pendant 18 heures *(Biyiti, 2004).*

#### II.4.2.3. Méthode de dilution en milieu liquide :

Cette méthode consiste à distribuer dans une série de tubes à hémolyse l'inoculum bactérien contenant des concentrations croissantes de l'antibiotique étudié, sauf un tube qui servira de témoin positif. Une observation à l'oeil nu est ensuite réalisée, après une incubation de 24 heures à 37°c. On dit que la culture est positive dans les tubes où le trouble est nettement visible. La CMI est indiquée par le tube qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible *(Ganière et al., 2004 ; Kamagate et al., 2001).*

## II.5.Conclusion :

Les différents aspects développés dans cette étude bibliographique sur les substances bioactives et notamment les HEs indiquent que ces essences végétales divers et multiples représentent un intérêt économique jouent un rôle important dans les industries agroalimentaire pharmaceutique et cosmétologique *( Bouguerra A, (2012)).*

Ces substances de composition chimique complexent (composés terpéniques, aromatiques et autres…), peuvent être isolées à partir des différents organes de plantes (feuilles, fruits, fleurs, graines, etc.) par des techniques traditionnelles ou des procédés innovants. Il a été montré que les nouvelles méthodes sont beaucoup plus rentables d'un point de vue coût, rendement et temps d'extraction *(Laouar S. (2013)).*

# Chapitre III

## *Matériels et Méthodes*

### III.1.Introduction

Dans le cadre de ce travail, nous avons procédé a l'extraction des plante : carthamus caeruleurs L et bunium incrassatum par l'extraction a reflux et l'extraction par Soxhlet, et avons procédé une étude phytochimique et biologique en évaluant l'activité antioxydante et antibactérienne. Le travail in vitro est réalisé au laboratoire du Hall Technologie à l'Université de Médéa et la partie effet biologique (pouvoir antimicrobien) est réalisée au niveau da la Filiale Antibiotical (ex SAIDAL) de Médéa.

### III.2. Méthodologie :

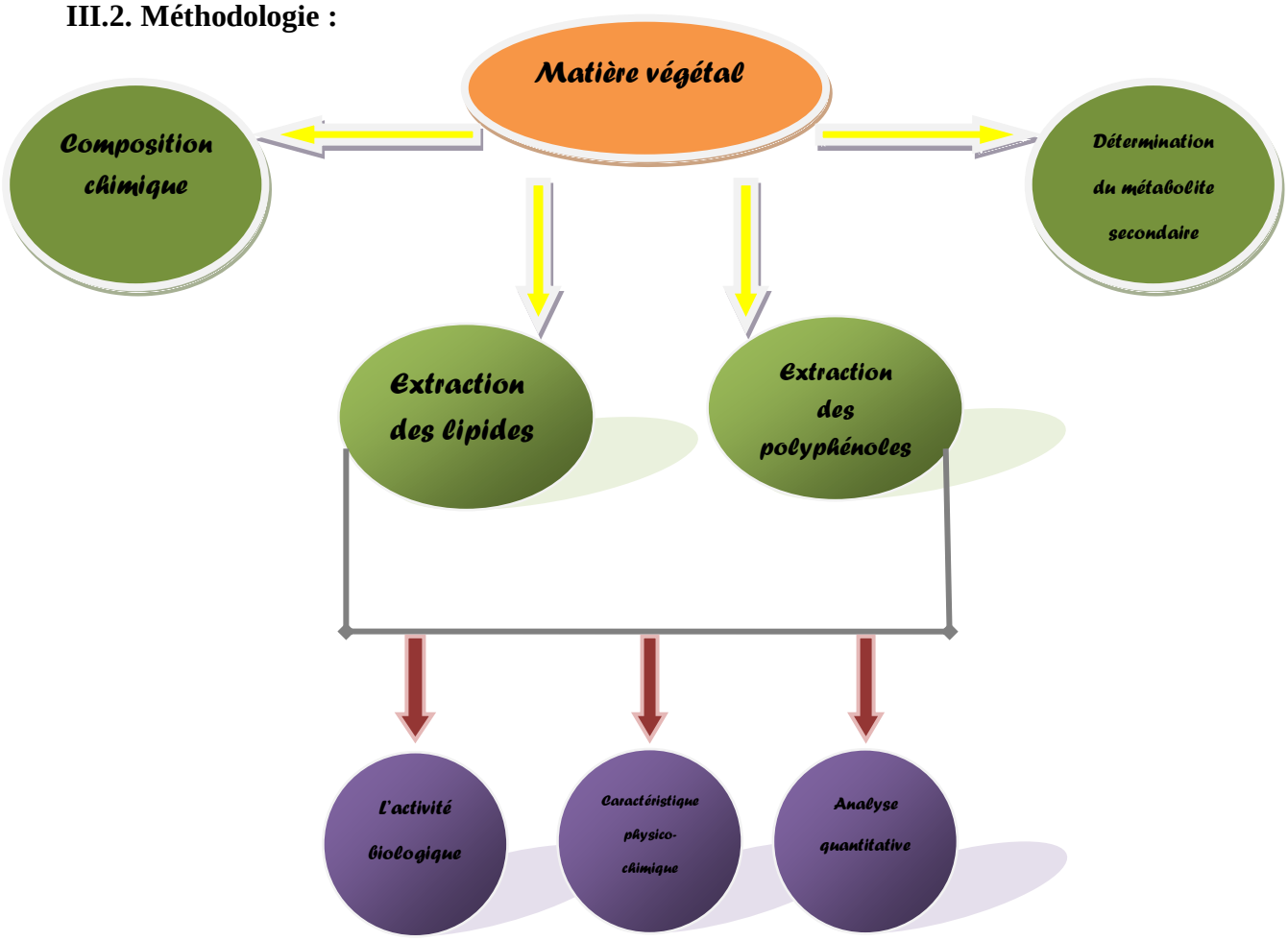
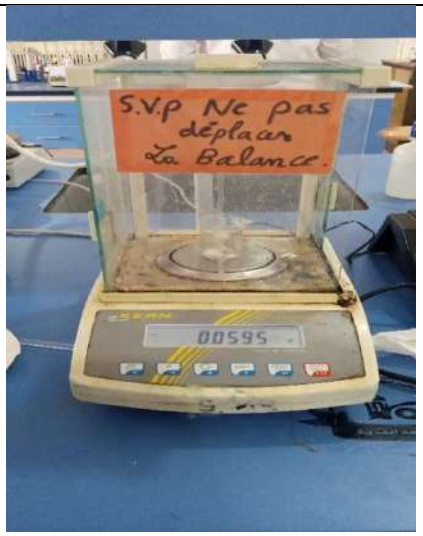



**Figure III.1 :** Schéma de la méthodologie suivie**.**

**III.3. Matériel utilisée :**

**Tableau III.1 :** Matériel utilisée

| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Balance | Vortex | Etuve |
|  |  |  |
| Spectrophotomètre UV | Microscope | Stérilisateur |
|  |  |  |
| Antibiogramme | Réfractomètre | Rotavapeur |

**III.4. Matière végétal :**

Les matières végétale utilisées dans notre étude est constitué des deux plantes ( fig III.2) et (fig III.3) :la carthamus caeruleus .L et la bunium incrassatum (Telghouda). Leur sélection sur la base de leur très grande présence et très large utilisation traditionnelle dans les régions méditerranéennes et plus particulièrement en Algérie (*Beloued, 1998; Ernest, 2000; Damien et al., 2003)*. La récolte de ces plante a été effectuée au niveau de Wilaya de Médéa en mois d'Avril/Mai.

**Tableau III.2 :** Les espèces végétales utilisées testées.

| Famille | Nom (genre) | Nom usuel | Partie utilisée |
|---|---|---|---|
| Apiaceae | Bunium incrassatum | Telghouda | Les racines |
| Asteraceae | Carthamus caeruleus.L | Carthamus | Les racines et les feuilles |



**Figure III.2** : carthamus



**Figure III.3** : Telghouda

**III.4.1 Identification :**

L'identification a été faite par une Herborisatrice connu à L'Ecole Nationale Agronomique (ENSA) ex INA El-Harrach- Alger : C'est un professeur chercheur dans le domaine botanique.

Prétraitement des plantes :

Les plantes cueilles doit être prétraitée avant d'entamer l'extraction, en passant par un lavage, séchage, broyage et tamisage



**Figure III.4 :** Les racines d'une carthamus.

### III.4.2 Prétraitement des plantes :

**a- Lavage :**

Après avoir cueilli la plante, les feuilles et les racines rincés avec l'eau de robinet pour éliminer tout ce qui corps étrangers et les impuretés aux plantes avant de la faire sécher.

**b- Séchage :**

Après rinçage, éplucher les racines et copie a des petits morceaux et puis les racines et les feuilles sont étendues en couches minces a l'ombre a bonne aération pendant deux semaines.

Le séchage a une importance majeure pour l'extraction des composés phénoliques, car les cellules végétatives contiennent des enzymes susceptibles de provoquer des modifications dans la composition phénolique de la plante. Cet inconvénient peut être éliminé par un séchage rapide du matériel végétal, aussitôt après sa récolte *(Ribérau-Gayon, 1968).*

**c- Broyage :**

Les échantillons séchés ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique permettant d'obtenir des poudres très fines.

**d- Tamisage :**

Une fois broyées, les poudres sont tamisées à travers un tamis pour séparer les granulés et les poudres. plus le diamètre de la poudre est petit. Plus la surface d'échange entre celle-ci et le solvant d'extraction est grand, donc le rendement d'extraction et meilleur *(Diallo,2004)*

**III.5. Détermination de la composition chimique :**

**III.5.1. Détermination de la matière sèche :**

**A. Principe :**

La matière sèche s`agit d`un résidu sec résultant de la déshydratation (élimination de l`eau) d`un produit. Elle est déterminée par séchage à l`étuve de l`échantillon par l`application de la méthode décrite ci-après.

**B. Protocole :**

- Dans un creuset en porcelaine préalablement sèche et tare (tare t), peser une masse (m) d'échantillon.
- Mettre dans l'étuve a 105°C jusqu'a obtenir une masse d'échantillon constante.
- Refroidir dans un dessiccateur et peser l'ensemble de masse M0.
- Déterminer le pourcentage en matière sèche est déterminé par l'équation suivante :

$$MS\% = \frac{100 \times (M0 - t)}{m} \quad \text{(III.1)}$$

Tel que :

MS= La matière sèche

t= la tare 77 .9684

m=masse d'échantillon initiale 8

$M_0$=masse de matière sèche plus la tare 81.4486

**III.5.2 Détermination de la matière minérale :**

**A. Principe :**

La matière minérale (MM) est déterminée par calcination de l'échantillon. Elle représente la partie d'un produit végétal qui reste une fois que la matière organique ait été totalement extraite.

**B. Protocole :**

• Mettre une prise d`essai dans un creuset en porcelaine sèche et taré (tare t), peser la masse (m) de cet échantillon.

• Renfermer l`échantillon dans l`étuve à 105°C, jusqu`à l`obtention d`une masse constante de celui-ci.

• Laisser l`échantillon se refroidir dans un dessiccateur et peser l`ensemble de masse ($M_o$).

• La teneur en MS est donnée par la relation suivante :

$$\%MM = \frac{100 \times (MM - t)}{(M_0 - t)} \quad \text{(III.2)}$$

Avec :

MM= La matière minérale (g)

$M_M$= masse de matière minérale plus la tare 78.3500 g

$M_0$ = masse de matière sèche plus la tare 81.4486 g

t= la tare 77.9684 g

**III.5.3. Cendres solubles et insolubles dans l'eau :**

**A. Principe :**

Les cendres sont des résidus de la combustion, de l'incinération de diverses matières organiques et minérales. Elles peuvent être utiles dans certains aliments, comme par exemple ; l'évaluation du contenu en fruits des confitures.

**B. Protocole :**

Pour déterminer les cendres insolubles dans l'eau, on dissout la partie soluble des cendres totales dans l'eau chaude qu'on filtre sur un papier filtre. Le résidu insoluble sur le papier filtre est incinéré de nouveau pour brûler le papier filtre.



**Figure III.5 :** les cendres des deux plantes.

On pèse les cendres insolubles. Le pourcentage de cendres solubles est déduit par calcul équation (IV.3).

$$\%\ \text{Cendres solubles} = \frac{M_{Mt} - M_{Mi}}{M_{Mt\cdot}} . 100 \quad \text{(III.3)}$$

$M_{Mi}$=mass des cendres insoluble.

$M_{Ms}$= mass des cendres soluble.

$M_{Mt=}$ masse de cendres totale.

### III.5.4. Détermination de la matière organique :

La matière organique correspond à la différence entre la matière sèche et la masse des cendres (matière minérale). Elle est déterminée par la formule *(Henni M, Gheraba R, (2018).*

$$\%MO = 100 - \%M_M \quad \text{(III.4)}$$

Tel que :

- %MO **:** pourcentage de la matière organique.

## III.6. Détermination des métabolites secondaires (Screening Phytochimique) :

- **Préparation d'infusé :**

Préparer un infusé à 5% à partir de 5 g de poudre de Carthamus et Telghouda dans 100ml d'eau bouillant, après 15min ; la suspension est filtrée et rincée pour obtenir 100 ml d'infusé à 5%. Cet infusé servira également à caractériser les flavonoïdes.

**a- <u>Détection de composés phénoliques et de tanins :</u>**

Quelques gouttes de chlorure de fer (III) (FeCl 3) ont été ajoutées à 2 ml de l'infusé préparé auparavant. L'apparition d'une coloration bleu-vert ou noir indique la présence de phénols et de tanins dans l'échantillon étudié *(Henni M, Gheraba R, (2018).*

**<u>b- Détection de flavonoïdes :</u>**

Dans un tube à essai contenant une quantité d'infusé, quelques gouttes de solution de l'hydroxyde de sodium (NaOH). La formation d'une coloration jaune intense, qui devient incolore après l'addition d'un acide dilué, révèle la présence de flavonoïdes *(Henni M, Gheraba R, (2018).*

**<u>c- Détection de glycosides :</u>**

Quelques gouttes d'acide sulfurique ($H_2SO_4$) sont ajoutées à 2g de la poudre végétale qui se développe en rouge brique en cas de présence.

**<u>d- Détection de saponines :</u>**

- **Solution à analyser :**

Elle est composée d'un gramme (1 g) de poudre (racines ou feuilles) dans 100 ml d'eau bouillon. Après 15 min, la solution est filtrée pour donner un décocté de 1% *(Henni M, Gheraba R, (2018)).*

- **Protocole :**

- 1,2,…. ,10 ml du décocté à 1% ont été déversés successivement dans 10 tubes à essais.
- Le volume des 9 premiers tubes a été ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée.
- Les tubes à essai sont agités dans le sens de la longueur pendant 15 secondes, puis laissés au repos pendant 15 min.
- La hauteur de la mousse dans chaque tube est mesurée.

**Remarque :** le tube à essai dans lequel la hauteur de la mousse est de 1cm indique la valeur de l'indice de mousse

$$\text{Indice de mousse} = 1000 / N \qquad \text{(III.5)}$$

Tel que :

**N :** numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse atteint 1cm *(Henni M, Gheraba R, (2018)).*

**e- Détection des anthocynes :**

On ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) à 5ml de filtrat, la réaction donne une coloration rouge en cas de présence des anthocynes.

**f- Détection des iridoïdes :**

On ajoute 2ml de filtrat à 1ml d'acide chlorhydrique (HCl) 1N, puis on rapproche le tube au doux d'une flamme bleu, laisser au repos et observer ensuite le précipite noir en cas de présence des iridoïdes**.**

### III.7. Préparation des extraits

#### III.7.1. Extraction des polyphénols :

Le protocole extractif a été effectué selon la méthode d'Upson *et al.* (2000) et comporte les étapes suivantes :

- le méthanol et l'éthanol ont été utilisés dans le protocole extractif

pour vérifier quel solvant donnera un meilleur rendement. L'extraction a été réalisée par macération à chaud de 25 g de matériel végétal dans 250 ml d'un mélange hydro-alcoolique :

méthanol pur (Bio-Chem)-eau ou éthanol 96°-eau (7:3; v/v), sous agitation magnétique à 80°C pendant 30 mn. Ce procédé empêche l'oxydation ou l'hydrolyse enzymatique. Le mélange est laissé ensuite à macérer durant 24 heures au réfrigérateur puis filtré sur tissu et papier filtre. La macération est renouvelée deux fois sur le résidu récupéré avec renouvellement du solvant pour permettre la solubilisation des composés lipophiles et hydrophiles. Les Deux macéras filtrés sont réunis et on obtient donc l'extrait hydro alcoolique but

- l'extrait hydro-alcoolique est évaporé à sec à 40°C dans l'étuve et pesé pour déterminer son rendement.



**Figure III.6 :** Extraction a reflux.



**Figure III.7 :** La Filtration des plantes.

### III.7.2. Rendement de l'extrait :

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante (Falleh *et al.*, 2008):

$$R\ (\%) = \frac{M_{ext}}{M_{éch}} \times 100 \qquad \text{(III.6)}$$

R est le rendement en %

M ext est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

M éch est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.



**Figure III.8** : Les extraits hydro-alcoolique

### III.7.3. Extraction des lipides :

#### A. Principe d'extraction par Soxhlet :

Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée en chimie organique et en chimie analytique qui permet de faire l'extraction continue d'un solide par un solvant. Il se compose d'un corps en verre dans lequel est placé une cartouche en papier filtre épais, d'un tube siphon et d'un tube d'adduction . Le corps de l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Les résidus à extraire sont placés dans l'extracteur surmonté d'un réfrigérant.

Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps en verre, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites.

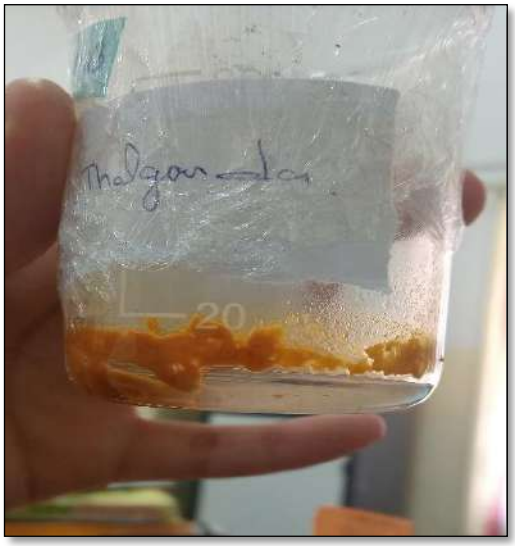
Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles. La taille du corps en verre étant limitée, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extraits.



**Figure III.9 :** Un extracteur Soxhlet.

**B. Protocol :**

50g de plante sèche rendus en poudre placés dans le corps en verre, où du coton a été introduit en bas du corps afin d'éviter le passage de la matière végétale dans le ballon contenant 400mL du solvant organique (nous avons utilisé l'éther de pétrole). Le système est chauffé à reflux jusqu'à la décoloration du solvant. Après le refroidissement. le mélange évaporé à sec sous pression réduite à 40°C au Rotavapeur Buchi R215 pour récupérée le solvant et trouvée l'extrait végétale.



**III.10 :** huile végétal de Telghouda .




**Figure III.11:** huile végétal de carthamus.

**III.8. Détermination des constantes physico chimiques :**

**III.8.1. Caractérisation physique :**

**III.8.1.1. Indice de réfraction :**

La mesure de l'indice de réfraction des huiles végétale a été effectuée par une lecture directe à l'aide d'un réfractomètre

- **Mode opératoire** :

-Après faire nettoyer le refractomètre et le diriger vers la lumière, Placer l'HV à l'aide d'une pipette dans la cellule de mesure jusqu'au trait de signale.

- En regardant dans l'oculaire, le réglage a été ajusté en tournant les boutons de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule.

- Et enfin la valeur de l'indice de réfraction a été prise par lecture directe.

**III.8.1.2. La densité relative :**

C'est le rapport du poids d'un certain volume d'huile au poids du même volume d'eau distillée à la température 20°C. On pèse 2 ml d' huile étudiée à l'aide d'un pycnomètre taré, puis on calcule la densité par la formule suivante :

$$\mathbf{d} = \frac{\boldsymbol{\rho\ huile}}{\boldsymbol{\rho\ eau}} \qquad \text{(III.7)}$$

**Avec :**

$$\boldsymbol{\rho}_{\mathbf{Eau}} = \frac{\boldsymbol{me}}{\boldsymbol{ve}} \quad \textbf{et} \quad \boldsymbol{\rho}_{\mathbf{Huile}} = \frac{\boldsymbol{mh}}{\boldsymbol{vh}}$$

- **me :** Masse de l'eau; **Ve :** Volume d'eau ; **ρReau :** Masse volumique de l'eau
- **mh :** Masse de l'huile; **Vh** : Volume d'huile ; **ρRhuile :** Masse volumique de l'huile. *(Benhaoua S, (2015/2016))*

**III.8.2. Caractérisation chimique :**

**III.8.2.1. Indice d'acide :**

L'indice d'acide d'une huiles végétale est définit comme étant le nombre de milligrammes de potassium (KOH) nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme d'huiles végétale *(NFISO1242 ,T75 ,103 ; AFNOR 2000)*

**Mode opératoire :**

- Dans un erlenmeyer, une masse de 0.4g d'HV a été introduite avec 40 ml d'éthanol (96%), 40 ml d'éther de pétrole et 2 gouttes de phénolphtaléine ont été successivement versés.
- La solution a été agitée avec un agitateur magnétique jusqu'à dissolution.
- Ensuite, elle a été dosée avec une solution de potasse alcoolique à 0.01 M jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante.

**Calcul de l'indice d'acide :**

L'indice d'acide est calculé par la formule équation III.8 :

$$\mathrm{IA} = \mathrm{V} * \mathrm{C} * \left(\frac{56.11}{m_h}\right) \qquad \text{(III.8)}$$

Avec :

IA : l'indice d'acide

V : volume de KOH utilisée (ml)

C : concentration exacte, en moles par litre de la solution de KOH

$m_h$: Masse de l'huile

**III.8.2.2.Indice de saponification :**

Il correspond à la masse de potasse en mg nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et pour saponifier les acides gras combinés dans un gramme de corps gras *(Benhaoua S, (2016))*.

**Mode opératoire :**

Comme corps gras étant insolubles dans l'eau, il faut les dissoudre dans un solvant organique approprié.

- Préparer une solution de 200 mg d'HV 20 ml d'un solvant composé par 10 ml d'éthanol et 10 ml de cyclohexane, puis Agiter pour dissoudre le corps gras.
- dans un bécher, 10 ml de la solution préparée précédemment a été introduite avec 25ml de potasse alcoolique de concentration (0.5 M). Ensuite, le bécher a été mis dans au bain marie bouillant pendant 45 à 60 minutes.
- 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine ont été ajoutées au bécher, avant de doser la solution par l'acide chlorhydrique à une concentration de 0.025 M en agitant jusqu'à la

disparition de la coloration de la phénolphtaléine. Effectuer dans les mêmes conditions un essai à blanc *(Benhaoua S., (2016)).*

-

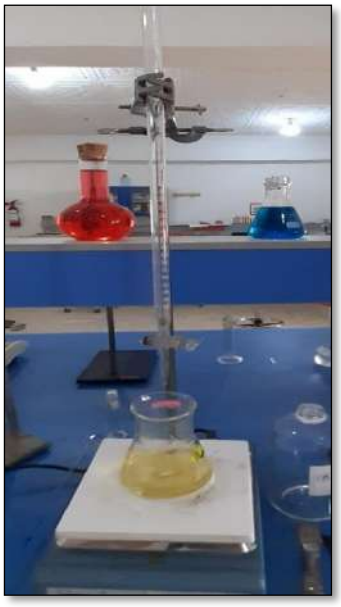


**Figure III.12** : l'indice de saponification

**Calcule de l'indice de saponification :**

$$Is = \frac{(VT - VE) \times CHCl \times 56,1}{m_h} \quad \textbf{(}III.9)$$

Tel que:

**$V_T$** : volume à blanc **;**

**$V_E$ :** volume de l'échantillon **;**

**$C_{HCl}$ :** concentration d' HCl.

**$M_{KOH}$ :** masse molaire du KOH=56.1

**$m_h$ :** masse de l'huile.

### III.9.Détermination quantitative des métabolites secondaires :

### III.9.1.spectrophotométrie :

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert. La densité optique des solutions est déterminée par un

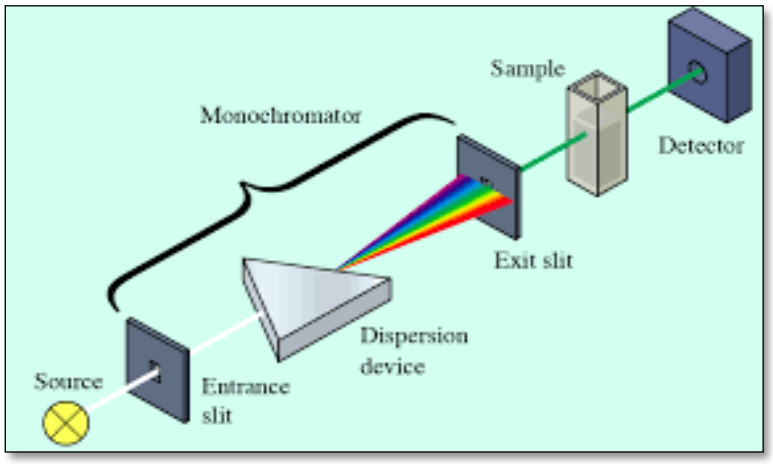
spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier. Lorsqu'une lumière d'intensité $I_0$
passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I0 . L'absorbance de la solution est définie comme suit :

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I} \quad \text{(III.10)}$$

$$A = -\log T \quad \text{(III.11)}$$

$$T = \frac{I_0}{I} \quad \text{(III.12)}$$

Avec T (transmittance).
L'absorbance est une valeur positive, sans unité. Elle est d'autant plus grande que l'intensité Transmise est faible.
Le principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre UV est illustré dans la figure




**III.13 :**Principe du spectrophotomètre UV-visible..

### III.9.2 Analyse quantitatives Dosage des polyphénols totaux :

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie par le biais de la méthode de Folin-Ciocalteu.

**Principe :**

Le dosage des polyphénols est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait *(Ali-Rached Fahima., 2018.)*, en utilisant le réactif de Folin Ciocalteu qui est un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit,

lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux *(Site web.8)*

Ce dosage a été effectué à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visib

**Mode opératoire :**

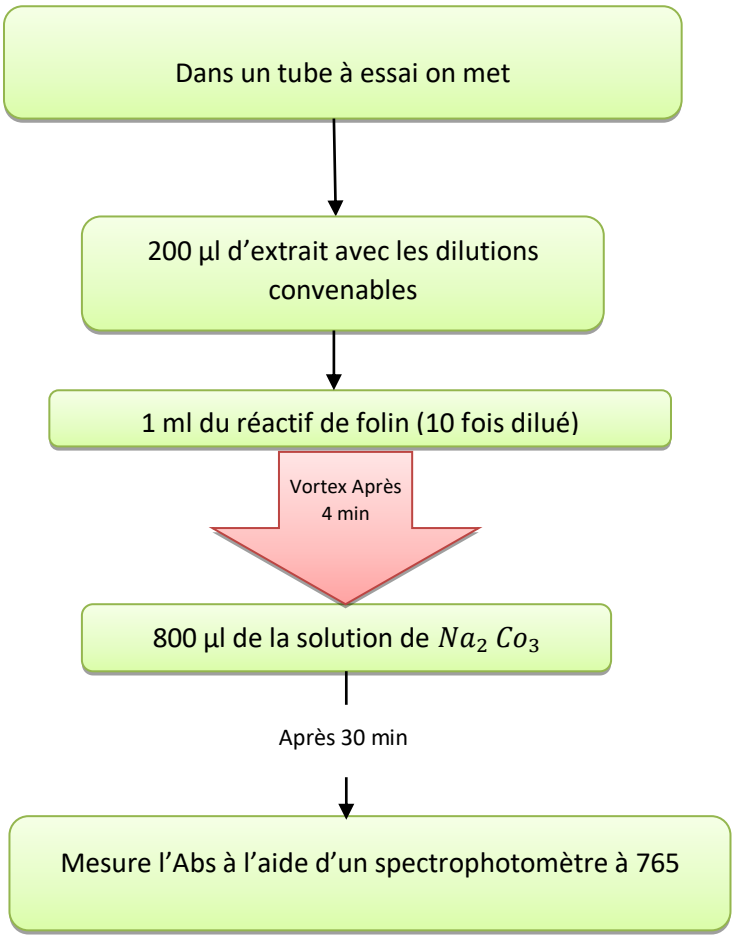



**Figure III.14 :** Protocole de dosage des polyphénols *(Hanni M . , Gheraba R, (2016))*.

### III.9.3 La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :

#### A. Principe de la HPLC :

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution d'abord, puis elle sera introduite dans la phase mobile liquide (éluant). Grâce à la répartition sélective des solutés entre la phase mobile et la phase stationnaire, chaque soluté est donc soumis à une force de rétention exercée par la phase stationnaire, et une force de mobilité due à la phase mobile. Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile, poussée par une pompe sous forte pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté à travers le système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont représentés par des pics. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme *(Jean-Louis Cuq (2001)).*

Le mécanisme de la séparation chromatographique s'explique par les différences de répartition des molécules des composés d'un mélange entre deux phases non-miscibles : l'une mobile et l'autre stationnaire. Ce principe est traduit par le schéma suivant :

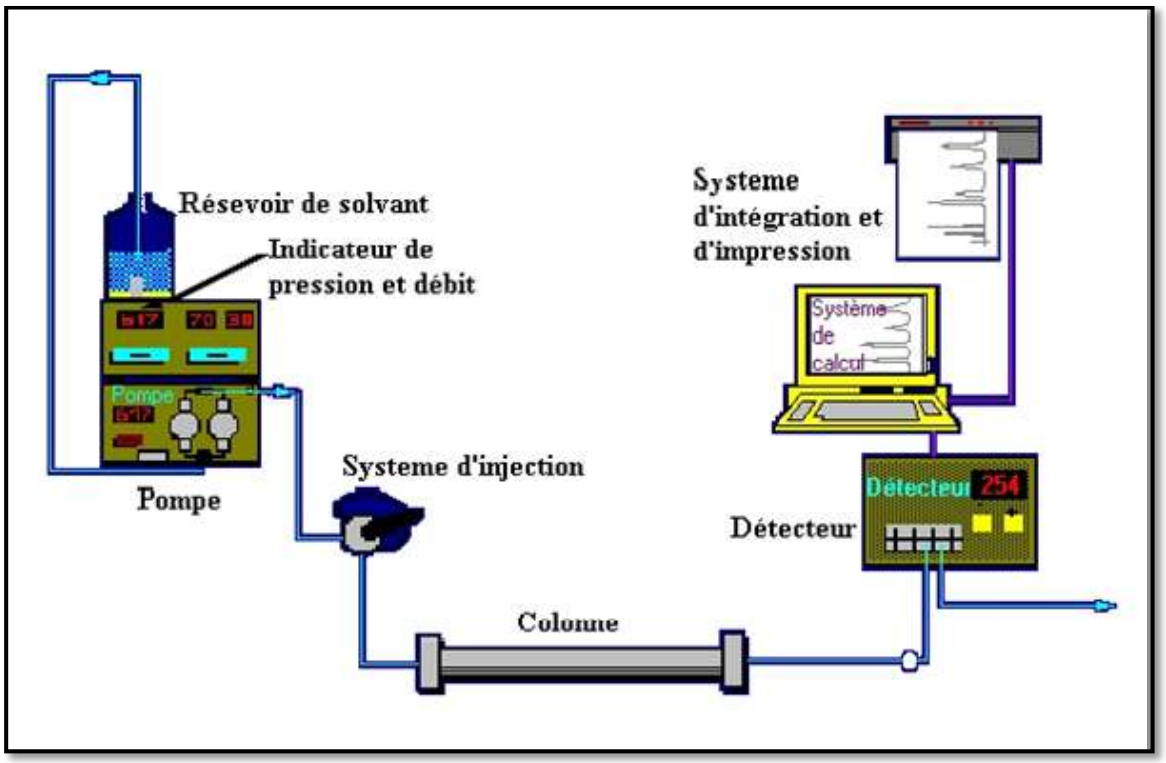



**Figure III.15 :** Principe de fonctionnement d'une chaine HPLC

### III.9.4 La spectroscopie Infrarouge :

La spectroscopie I. R. est une technique indispensable aux scientifiques pour analyser, identifier et caractériser les espèces chimiques. Elle permet de déterminer avec une grands précision les structures moléculaires. Technique courante dans l'industrie, elle est même utilisée dans les investigations policières pour la détection d'explosifs par exemple.

Le but de cette activité est de déterminer la structure d'une molécule au moyen de l'analyse par spectroscopie I. R. tout en explorant en quoi consiste cette technique et comment on l'utilise.

Le rayonnement infrarouge (IR), invisible à l'oeil nu, est situé dans domaine de longueur d'onde supérieur à 800 nm.

Lorsqu'un échantillon est traversé par un faisceau lumineux IR, une partie de la lumière est absorbée. C'est grâce à cette absorption que nous allons pouvoir déceler la présence de groupements d'atomes caractéristiques.

Les molécules, au passage du rayonnement IR, subissent des mouvements de vibration internes (d'élongation et de déformation). Ces vibrations sont à l'origine des pics et des bandes d'absorption que nous observons sur le spectre du paracétamol ci-dessous :

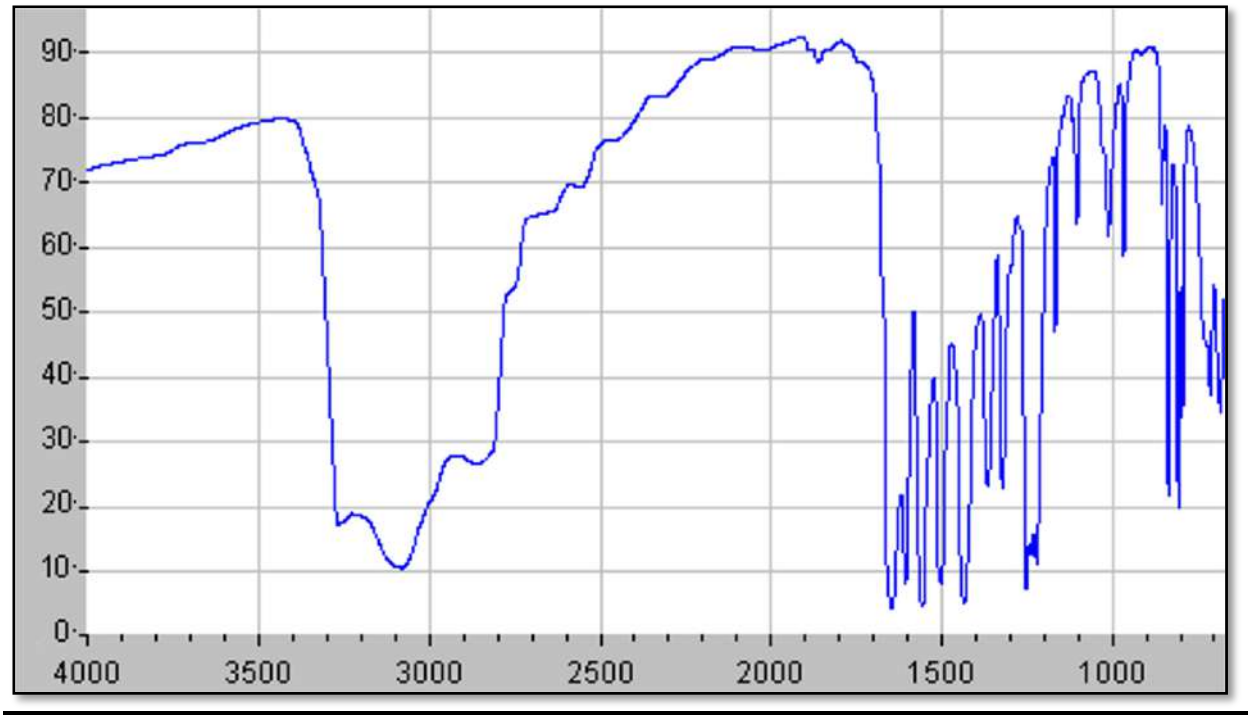



**Figure III.16 :** Spectre infrarouge.

## III.10. Les activités biologiques :

### III.10.1.Evaluation de l'activité antioxydant par la méthode au DPPH :

L'activité antioxydant des différents extraits de la plante vis-à-vis du radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picryhydrozyl)a été évaluée spéctrophotométriquement.

- **Principe :**

La méthode de DPPH utilisée pour mesurer le pouvoir antioxydant consiste à piéger les radicaux libres (DPPH-) de couleur violette foncée d'une absorbance de 517 nm qui devient incolore ou jaune pâle à la neutralisation.

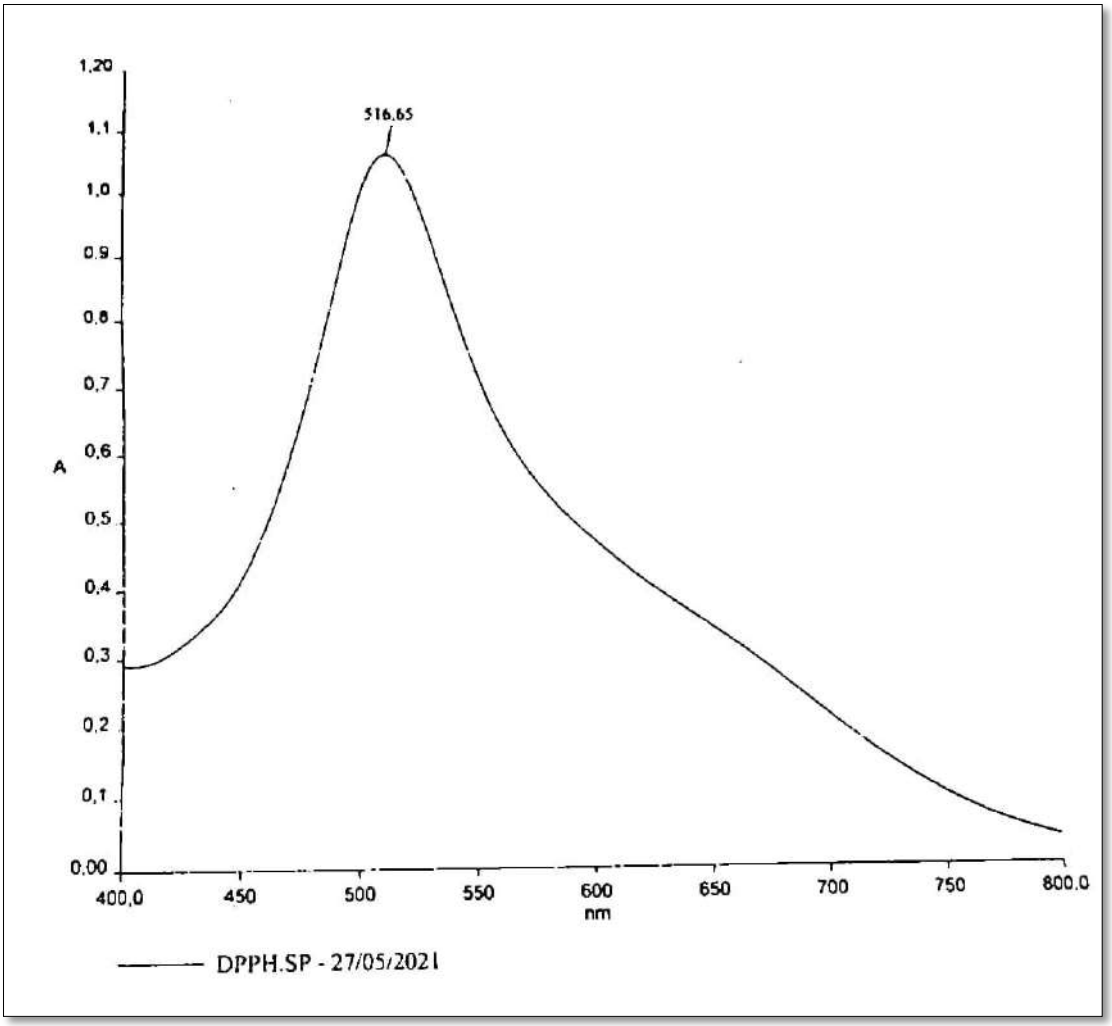



**Figure III.17 :** Spectre UV DE DPPH

**Mode opératoire :**

**Préparation de la solution de DPPH :**

4mg de DPPH (1,1Diphényl 2 Pycril Hydrazil) sont solubilisés dans 100ml d'éthanol absolue pour en a voir une solution éthanolique de DPPH.

**Préparation de solution contrôle :**

Dans un tube sec et stérile on introduit 0.1 ml d'éthanol, on ajoute 3.9 de solution au DPPH (Pour déterminer la longueur d'onde de DPPH).

**Essai au DPPH :**

Dans cinq tubes secs et stériles, on prépare :

**1**-0.1d' HV+3.9 de DPPH

**2**-0.08 d'HV+ 0.02 d'éthanol +3.9 de DPPH

**3**-0.06 d'HV+0.04 éthanol+3.9 de DPPH

**4**-0.04 d'HV+0.06 éthanol+3.9 de DPPH

**5-** 0.02 d'HV+0.08 éthanol+3.9 de DPPH

Apres agitation, les tubes sont placés à l'obscurité, à la température ambiante pendant 30 min à l'ombre. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm (longueur d'onde de DPPH) à l'aide d'un spectrophotomètre.

**Expression des résultats :**

Pour obtenir la concentration efficace qui réduit la concentration de DPPH de 50%, aussi bien que la puissance anti radicalaire (ARP égale à $1/EC_{50}$)
*( Heilerova et al ; 2003)* **,** les résultats sont exprimés en activité antioxydant .
L'activité antioxydant, qui exprime les capacités de piégé le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans l'éthanol.

Le pourcentage de l'activité antioxydant (**AA%)** est donnée par la formule suivante :

$$\mathbf{AA\%} = \frac{\boldsymbol{AbsSC - AbsEssai}}{\boldsymbol{AbsSC}} \times \mathbf{100} \qquad \text{(III.13)}$$

Tel que :

- **AA :** l'activité antioxydant.

- **Abs :** absorbance à longueur d'onde de 517nm .

**Détermination d'IC50 :**

L'IC50 étant la concentration de l'extrait ou du standard qui permet la réduction de 50% de DPPH. Une faible valeur de l'IC50 indique une forte activité antioxydant *(K Saffidine., (2015)).,* **(**Pour chaque extrait ou standard de référence, une courbe de régression linéaire (y = ax+b) est établie afin de calculer l'IC50 qui permettra la caractérisation du pouvoir antioxydant des extraits.

### III.10.2 Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode des disques de diffusion sur différentes souches bactériennes. Elle a pour but l'étude qualitative de l'effet antimicrobien de la plante et ses organes, et comparaison entre son effet antibactérien et celui des autres antibiotiques fournis par l'entreprise de fabrication des produits pharmaceutiques (Antibiotical ex SAIDAL Médéa), la solution injectable de l'antibiotique Gentamine (GENT) et Amoxicilline (AMOXY).

**III.10.2.1 Les souches Utilisées :**

Le choix des bactéries a été porté sur six souches fréquentes dans la pathologie humaine. Ces espèces sont souvent responsables de la toxi-infection alimentaire qui constitue ainsi un problème majeur de santé publique, et par leur résistance naturelle à divers agents antimicrobiens.

Nous avons choisis quatre groupes de bactéries et deux groupes de levures :

-Escherichia coli (E. Coli).
- Staphylococcus aurieus.
-bacillus subtils
-pseudomonas aéruginosa
-candida albicans
-aspergillus brasiliesis

Ces dernières ont été isolées, purifiées, identifiées et fournies aimablement par les responsables de laboratoire de Microbiologie de la filiale « Antibioticale » ex SAIDAL de Médéa.

- **Escherichia coli (E. Coli)** :

est une bactérie qui est un bacille à Gram négatif aèrobie-anaérobie facultatif appartenant à la famille des entérobactéries ( Enterobacteriaceae ) qui colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux.La majorité des souches de E.coli ont inoffensive , quelques-unes seulement sont pathogénes pour l'homme.C'est le cas des souches de E.coli dites entérohémorragique (ECEH).Ces dernières provoquent des diarrhées sanglantes et produisent une puissante toxine à l'origine du syndrome hémolytique et urémique ( SHU).Régulièrement , des souches de ECEH sont la

- **Staphylococcus aurieus** :

Il est appelé aussi le Staphylocoque doré .les Staphylocoques sont des coccis non capsulés, à Gram positif, regroupés en amas avec un plan irrégulier, immobiles, aérobies facultatifs (Singleton, 1999)

Sur gélose nutritive ordinaire, les colonies ont une forme arrondie bombée, luisantes, opaques ,à contour net de couleur jaune *(Berche et al ;1988)*

- **bacillus subtilis :**

Le Bacillus subtilis est une bactérie résistante qui est présente dans les sols. On retrouve le Bacillus subtilis sur des aliments qu'il contamine. Une fois ingéré, le Bacillus

subtilis peut être à l'origine d'une intoxication alimentaire. Dans l'industrie agroalimentaire, on utilise le Bacillus subtilis pour produire des enzymes du type amylase qui servent à fabriquer du pain. La bactérie entre également dans la composition de produits détergents. *(site web.9)*

- **Pseudomonasaéruginosa** :

*Pseudomonas aeruginosa* est un microorganisme qui provoque des infections aiguës ou chroniques, parfois graves et mortelles. Elle sévit particulièrement en milieu hospitalier et expose les patients présentant un faible système immunitaire. La résistance croissante de certaines souches de cette bactérie aux antibiotiques fait de ces infections un véritable problème de santé publique. *(site web.10)*

- **Candida albicans** :

Le Candida albicans est un champignon microscopique – aussi appelé levure – naturellement présent dans les muqueuses du corps humain, à savoir dans la bouche, les intestins, l'œsophage ainsi que sur la peau et les muqueuses génitales. Ce champignon est un organisme dit commensal saprophyte, ce qui signifie qu'il se nourrit de la matière organique en décomposition présente dans l'intestin : sa présence est donc utile chez les personnes en bonne santé.
*(site web.11)*

- **Aspergillus brasliensis** :

Aspergillus brasiliensis est un champignon et est l'une des espèces les plus communes du genre Aspergillus. Il est omniprésent dans le sol, un contaminant alimentaire courant, et est également régulièrement signalé dans les environnements intérieurs tels que les usines industrielles. La maladie humaine causée par Aspergillus brasiliensis est rare par rapport aux autres espèces d'Aspergillus. Cependant, lorsqu'elle est causée, elle peut entraîner une maladie pulmonaire grave appelée aspergillose. *(site web.12)*

### III.10.2.2 Milieux de cultures utilisées :

Les milieux de culture utilisés dans le cadre de ce travail sont :

- Milieu sabouraud pour les levures
- Milieu soja agar pour les bactéries.

## ➢ La Gélose de Dextrose de Sabouraud (GSD) :

Il a été créé par et est nommé d'après, Raymond Sabouraud en 1892 .

C'est un milieu d'utilisation générale, permettant la croissance de l'isolement d'une grande variété de levures et moisissures .L'addition de Chloramphénol inhibe la croissance des Gram positif et Gram négatif.

Ce milieu peu est préparé selon la méthode suivante : on pèse avec précision une quantité de poudre déshydratée du SAB équivalente 65 g dans un ballon en y ajoutant 1000 ml d'eau distillée.

Le mélange de la poudre-eau distillée est chauffé sur plaque chauffante avec agitation à l'aide d'un barreau magnétique pendant 20 min afin d'assurer une bonne dissolution des cristaux. Le milieu MH est ensuite réparti dans des flacons stériles avant d'être autoclavé pendant 15 min entre 118°C et 121°C avec une pression de 1 bar.

- **La Gélose Soja Triptyque (GST) :**

  **Soja Agar (SA) :**

La gélose Tryptique soja (TSA) est un milieu d'isolement non sélectif utilisé pour la croissance de bactéries qui ne possèdent pas de besoins nutritionnels et pour la préparation de souches de référence dans le but de tester la croissance des milieux de culture. Ce milieu peu est préparé selon la méthode suivante : on pèse avec précision une quantité de poudre déshydratée SA équivalente 40g dans un ballon en y ajoutant1000 ml d'eau distillée.

Le mélange de la poudre-eau distillée est chauffé sur plaque chauffante avec agitation à l'aide d'un barreau magnétique pendant 20 min afin d'assurer une bonne dissolution des cristaux. Le milieu SA est ensuite réparti dans des flacons stériles avant d'être autoclavé pendant 15 min entre 118° C et 121°C avec une pression de 1 bar.

**A- <u>Principe :</u>**

**Méthode de diffusion sur gélose ( méthode de puits ) :**

C'est la technique de base utilisé pour étudier la capacité d'une substanve à exercer un effet antimicrobien , elle est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la determination des extraits actif .

Des boites de pétri contenant du milieu Sabouraud dextrose agar additionné de 2% de glucose ( pour les levures ) et milieu soja agar pour les bactéries mélangé une quantité de germes, des disques absorbants stériles de 9 mm émergés dans l'échantillon à tester. Après l'incubation pendant 16 à 24 heures, la lecture des résultats est faite par mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenus pour chaque souche.

**B- Protocole :**

**1- Les souches du test :**

**Tableau III.3 :** Les souches utilisées dans le test de l'activité antibactérienne

| Souche | Code | Genre | Coloration de gram | Milieu de culture |
|---|---|---|---|---|
| **Escherichia Coli (E. Coli)** | ATCC 8739 | Bactérie | - | Soja agar (SA) |
| **Staphylococcus aureus** | ATCC 6538 | Bactérie | + | Soja agar (SA) |
| **Bacillus subtilis** | ATCC 6633 | Bactérie | + | Soja agar (SA) |
| **Pseudomonas aeruginosa** | ATCC 9027 | Bactérie | - | Soja agar (SA) |
| **Candidas albicans** | ATTCC 10231 | Champignon | / | Sabouraud (SAB) |
| **Aspergillus brasilunsis** | ATTCC 16404 | Champignon | / | Sabouraud (SAB) |

**Préparation des milieu de culture :**

40 g de poudre de la gélose a été introduite dans 1 L d'eau distillée, la solution est posé sur une source de chaleur jusqu'à bouillir. La solution ensuite a été coulée dans des flacons stériles, puis ces derniers ont été déposés dans un stérilisateur pendant 1 heure et demi.

**Application du test :**

- Couler 1 ml de la suspension bactérie dans des boites de pétri tout près d'une flamme.
- Ajouter une quantité de gélose nutritive équivalente à 11 ml, puis agiter prudemment jusqu'à que le mélange devient homogène.
- Laisser les boites entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification.
- S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée.
- Déposer à l'aide d'une pince stérile les disques (quatre disques par boite), imprégnés d'extrait végétal, sur la surface de la gélose.

- Placer les boites à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (35°C) pendent 16 à 24 h. Les boites doivent être placées couvercle en bas.
- Apres le temps d'incubation, on récupère tout les boites et ensuite on procède à la lecture à l'aide d'un pied à coulisse, qui consiste à mesurer le diamètre des zones d'inhibition en millimètre. D'après Ponce et al. (2003), la sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des Halos d'inhibition :

-Non sensible (-) pour les diamètres moins de 8mm ;

-Sensible (+) pour des diamètres de 8 à 14mm ;

-Très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19mm ;

-Extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20mm

# Chapitre IV :

## *Résultats et Discussions*

## IV.1. Introduction :

Ce chapitre présente les résultats des tests et des expériences effectuées sur les deux plantes (carthamus caeruleus et Telghouda) ainsi leurs interprétation et leurs discussions .

## IV.2. Résultats de la composition chimique des plantes :

Les protocoles effectués sur *carthamus caeruleus L et telghouda* afin de déterminer leurs compositions en matière sèche, minérale et organique ainsi en cendres solubles et insolubles ont donné des résultats pour une masse d'échantillon de départ égale à 2 g regroupés dans le tableau ci-dessous :



**Figure IV.1 :** Les étapes de la détermination de la composition chimique pour les deux plantes

**Tableau V.1 :** Compositions chimiques de Carhamus et Telghouda .

| | | Les lois | N° d'équation | Résultats |
|---|---|---|---|---|
| **Matière sèche %** | **CR** | $MS\% = \frac{100 \times (Mo - mt)}{m}$ | **1** | 89.56 % |
| | **CF** | | | 90.65 % |
| | **TL** | | | 3.32 % |
| **Matière minérale %** | **CR** | $MM\% = \frac{100 \times (M_M - mt)}{(M_0 - mt)}$ | **2** | 2.2 % |
| | **CF** | | | 11.18 % |
| | **TL** | | | 3.32 % |
| **Cendres solubles** | **CR** | $Cs\% = \frac{M_{Mt} - M_{Mi}}{M_{Mt.}} 100$ | **3** | 36.7 % |
| | **CF** | | | 49.10 % |
| | **TL** | | | 42.9 % |
| **Cendres insolubles** | **CR** | / | | 63.3 % |
| | **CF** | | | 50.9 % |
| | **TL** | | | 57.1 % |
| **Cendres totales** | **CR** | Cendre soluble + Cendre insoluble | | / |
| | **CF** | | | / |
| | **TL** | | | / |
| **Matière organique%** | **CR** | $\%\,MO = 100 - \%\,MM$ | **4** | 97.8 % |
| | **CF** | | | 88.82 % |
| | **TL** | | | 96.68 % |

Ces résultats montrent une forte quantité de matière sèche que la matière minérale pour la plante de cathamus (89.56 %). Mais une faible quantité pour la plante de telghouda ,

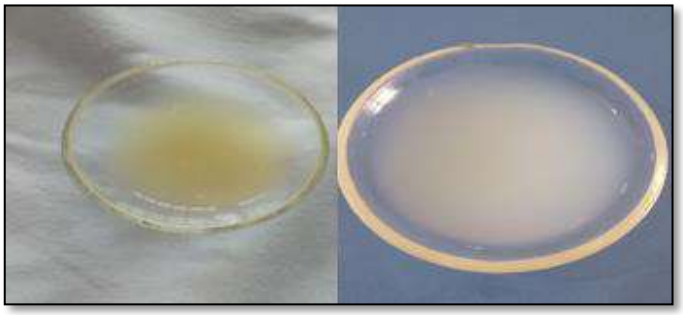
On observe aussi une faible quantité de matière minérale pour les deux plantes (2.2 % et , 3.32 % ) respectivement.

Cela suppose que le reste de l'échantillon contient une quantité importante en composés cherchés.

**IV.3. Résultats des screening phytochimiques :**

Les tests de détection des groupes chimiques responsables des effets thérapeutiques basés sur l'apparition des couleurs spécifiques pour chaque groupe ont fournis les résultats représentés dans le tableau

**Tableau IV.2 :** résultats des screening photochimiques

| | | | |
|---|---|---|---|
| ***Les Flavonoïdes*** | **CR** | + |  |
| | **TL** | + | |
| | **CF** | + | |
| ***Composés phénoliques ou Les Tanins*** | **CR** | + |  |
| | **TL** | + | |
| | **CF** | + | |
| ***Les glycosides*** | **CR** | + |  |
| | **TL** | + | |
| | **CF** | + | |
| ***Les saponines*** | **CR** | - | Non resultats |
| | **TL** | - | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | **CF** | - | |
| ***Les anthocynes*** | **CR** | - | Non resultats |
| | **TL** | - | |
| | **CF** | - | |
| ***Les iridoides*** | **CR** | - | Non resultats |
| | **TL** | - | |
| | **CF** | - | |

(+) indique la présence (-) indique l'absence.

Les résultats de screning phytochimique sont regroupes dans le tableau (V.2), ils ont permis de mettre en èvidence que :

- Les deux plantes (CR , TL) contiennent des flavonoïdes, des tanins, et des glycosides.
- Les deux plantes (CR, TL) ne contiennent pas des saponines, des anthocynes et des iridoïdes.

  Donc à partir ces résultats expérimentaux obtenus, on peut confirmer d'une manière qualitative l'existence de différents composés.

### IV.4. Rendement en huiles végétales et les extraits poly phénolique :

#### IV.4.1. Huiles végétales :

**Tableau IV.3 :** résultats du rendement des huiles végétales

| **Extraction des lipides** | **Matières** | **La loi** | **Rendement** |
|---|---|---|---|
| **Huiles végétales** | CR | $R=\frac{m}{mt}\times 100$ | 10.98 % |
| | TL | | 5.6 % |

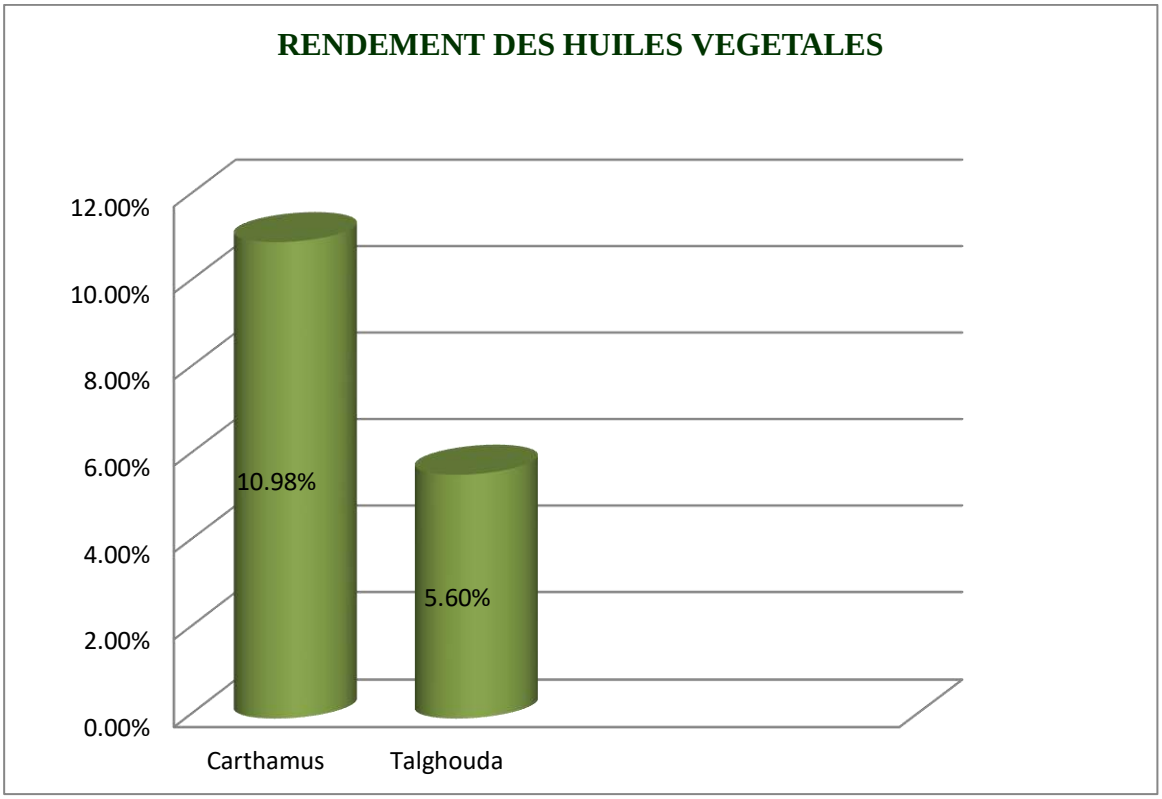



**Figure IV.2 :** Rendement des huiles végétal

D'après ce tableau on observe que le rendement d'huile végétal de carthamus est deux fois plus gros que l'huile végétal de Telghouda (10.98 % et 5.6 % ) respectivement

**IV.4.2. Extrait hydro-alcoolique :**

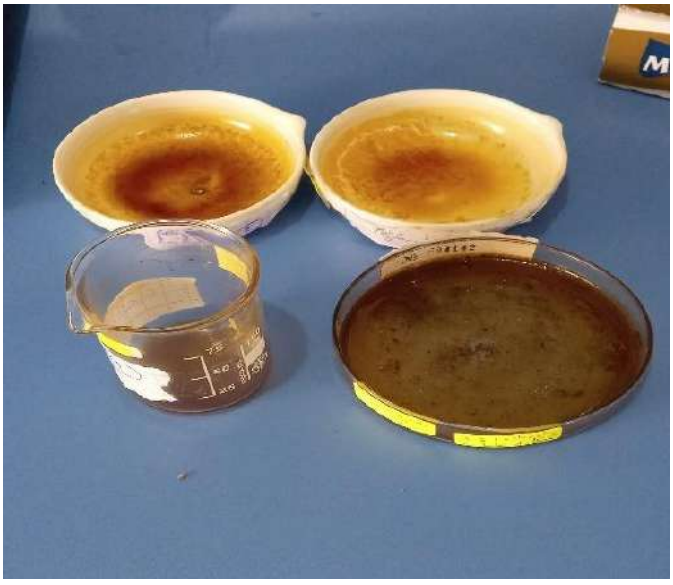


**Figure IV.3:** extrait hydro-alcoolique pour les Racines de carthamus et Telghouda et les feuilles de carthamus

**Tableau IV.4 :** résultats du rendement des extraits hydro-alcoolique .

| **Extrait des polyphénols** | **Matières** | **La loi** | **Rendement** |
|---|---|---|---|
| **Extraction (1)** | CR | $R=\frac{m}{mt}\times 100$ | 9.21 % |
| | TL | | 16.17 % |
| | FCR | | 14.63 % |
| **Extraction (2)** | CR | | 2.61 % |
| | TL | | 4.88 % |
| | FCR | | 11.25 % |

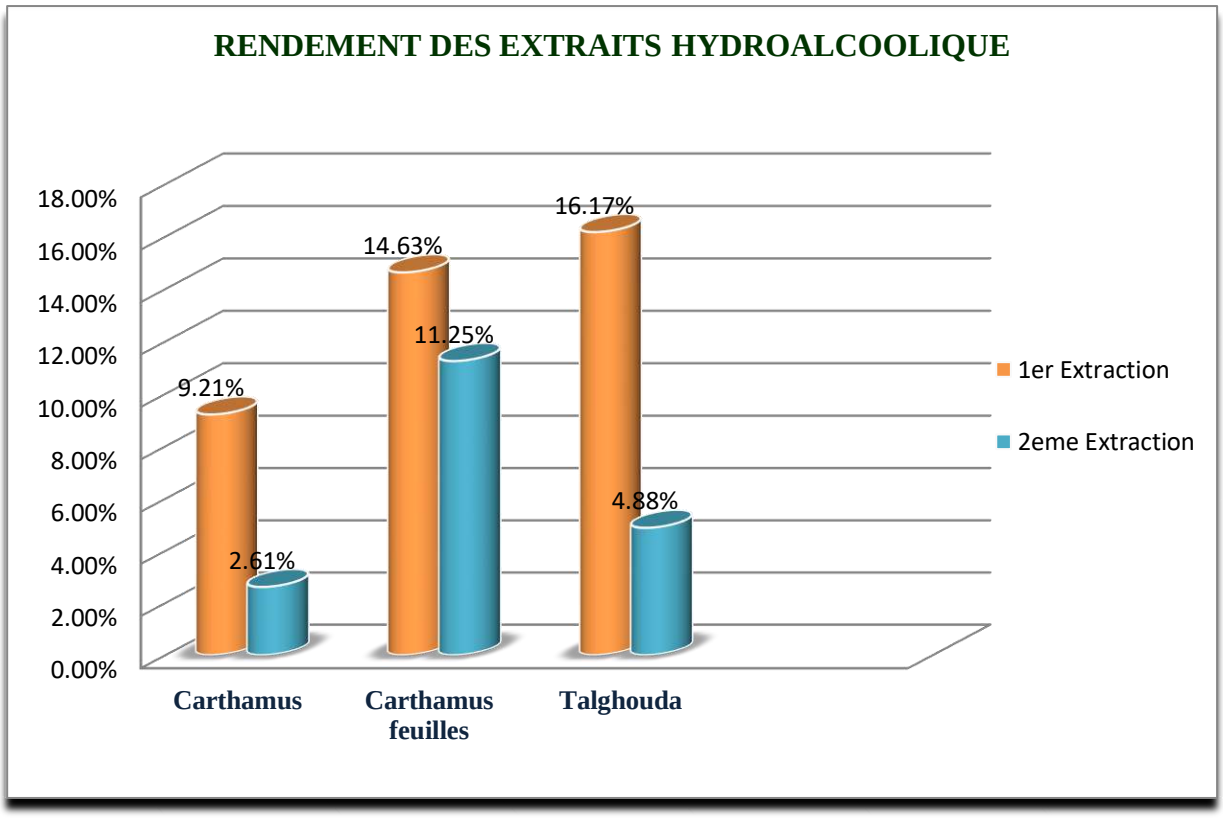



**Figure IV.4 :**rendement des extraits hydro-alcoolique

Les résultats montrent que les trois extraits aqueux en feuilles et en racine de carthamus et en racine de telghouda donnent un rendement de (9.21 %, 16,17 % et 14..63 ) respectivement pour la première extraction et un rendement de ( 2.61 % , 4.88 % et 11.25 % ) respectivement pour la deuxième extraction se signifier que le rendement est diminué entre les deux cas.

## IV.5. Détermination des constantes physico chimiques :

**Tableau IV.5 :** Résultats des propriétés physico-chimiques

| | LOI | Résultat | Observation |
|---|---|---|---|
| **Indice d'acide (mg KOH/g HV)** | $IA = V * C * \left(\frac{56.11}{m_h}\right)$ | **C=8.1**<br>**T=22.44** | **Après le dosage**<br>**C=Couleur rose**<br>**T=rouge brique** |
| **Indice de saponification (mg KOH/g HV)** | $Is = \frac{(VT - VE) \times CHCl \times 56,1}{m_h}$ | **C=645.15**<br>**T=1739.1** | **Décoloration** |
| **Indice d'estirification (mg KOH/g HV)** | $I_E = I_S - I_A$ | **C= 637.05**<br>**T= 1716.6** | / |
| **Indice de refraction (mg KOH/g HV)** | / | **C=1.5255**<br>**T=1.5985** | / |

**Densité relative :**

Nous ne pouvons pas mesurer l'indice de réfraction car les lipides de cette plante sont solides à la température ambiante.

## IV.6. Résultat de la spectroscopie Infra Rouge : IR

L'analyse par spectroscopie infrarouge permet de localiser les groupements fonctionnels constituants l'HV de *carthamus caeruleus et Telghouda et l'extrait hydroalcoolique de carthamus (racines et feuilles) et Telghouda.*

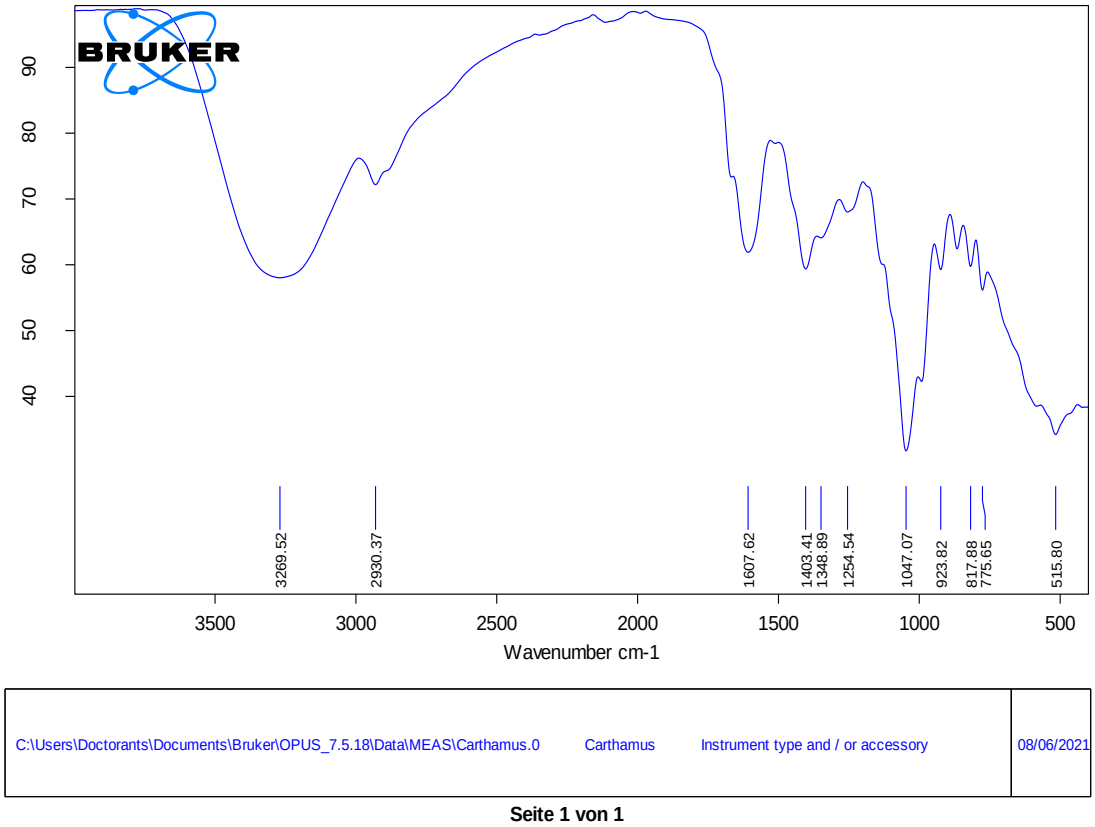



**Figure IV.5** : Spectre de l'extrait hydroalccolique carthamus racines

L'analyse par spectroscopie infrarouge permet de localiser les groupements fonctionnels constituants l'EHCR

3269.5 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (O-H) Acides.

2930.3 $cm^{-1}$= élongation des groupements (C-H) Alcanes $_CH_2_CH_3$.

1er bande 1607.6 $cm^{-1} et$ 2è$me$ 1403.4 = valence des groupements acide carboxylique ionisée (C=O)

1348.8 $cm^{-1}$ et 1254.5 $cm^{-1}$ = élongation des groupements alcool (O-H) premier et secondaire.

1047 $cm^{-1}$= valence des groupements (C-OH) alcool primaire.

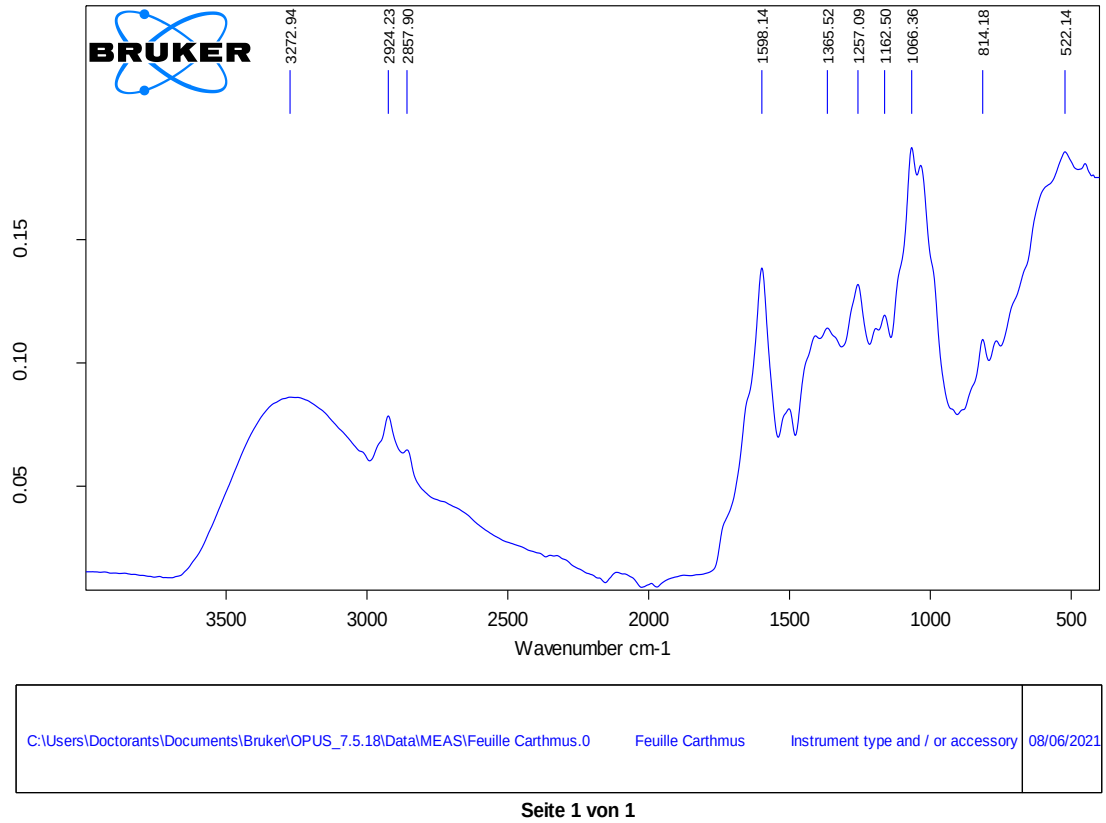



**Figure IV.6** : Spectre de l'extrait hydroalcoolique carthamus feuilles :

3272.9 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (O-H) Acides

2924.2 $cm^{-1}$ Et 2857.9 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (C-H) Alcanes $_CH_2_CH_3$

1598 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (C=C) Aromatique.

1365.5 $cm^{-1}$ et 1257.09 $cm^{-1}$= valence des groupements alcool (O-H) premier et secondaire.

1066.3 $cm^{-1}$ = valence des groupements alcool (C-OH) primaire.

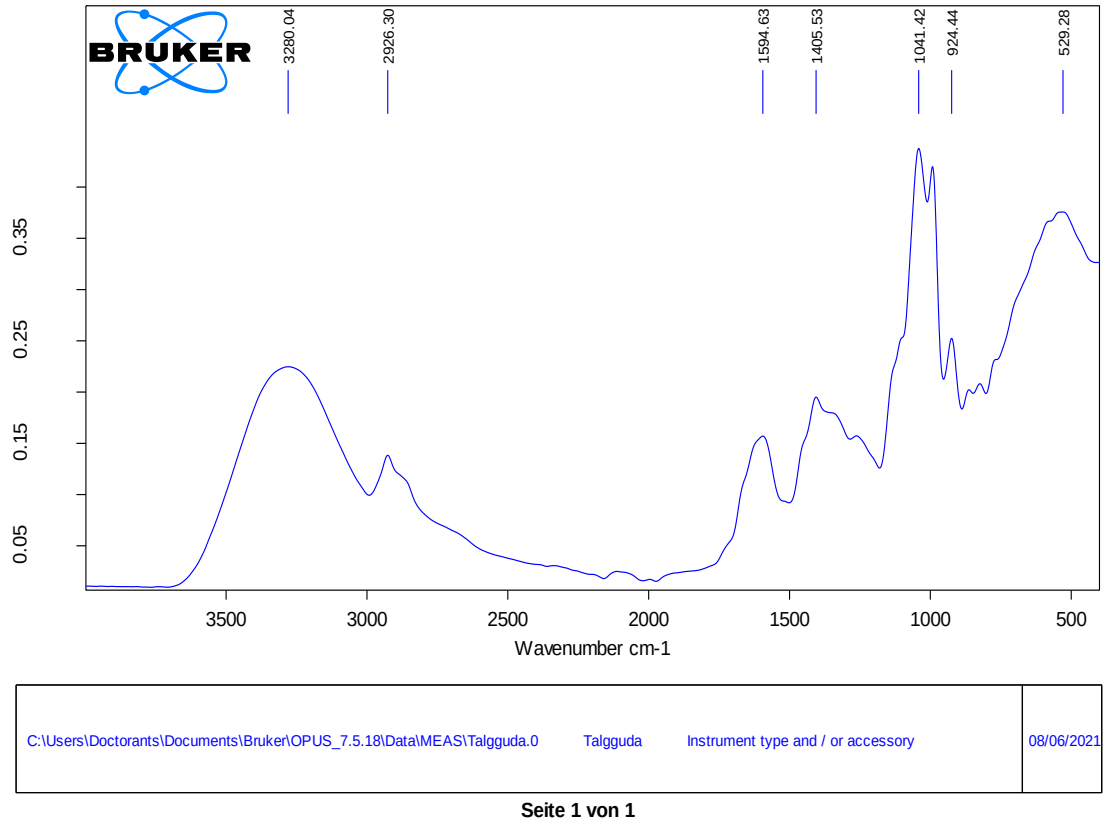



**Figure IV.7** : Spectre de l'extrait hydroalcoolique Telghouda :

3280 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (O-H) Acides.

2928.3 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (C-H) Alcanes $_CH_2_CH_3$.

1594.63 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (C=C) Aromatique.

1405.5 $cm^{-1}$ = valence des groupements acide carboxylique ionisée (C=O)

1041.4 $cm^{-1}$ = valence des groupements alcool (C-OH) primaire.

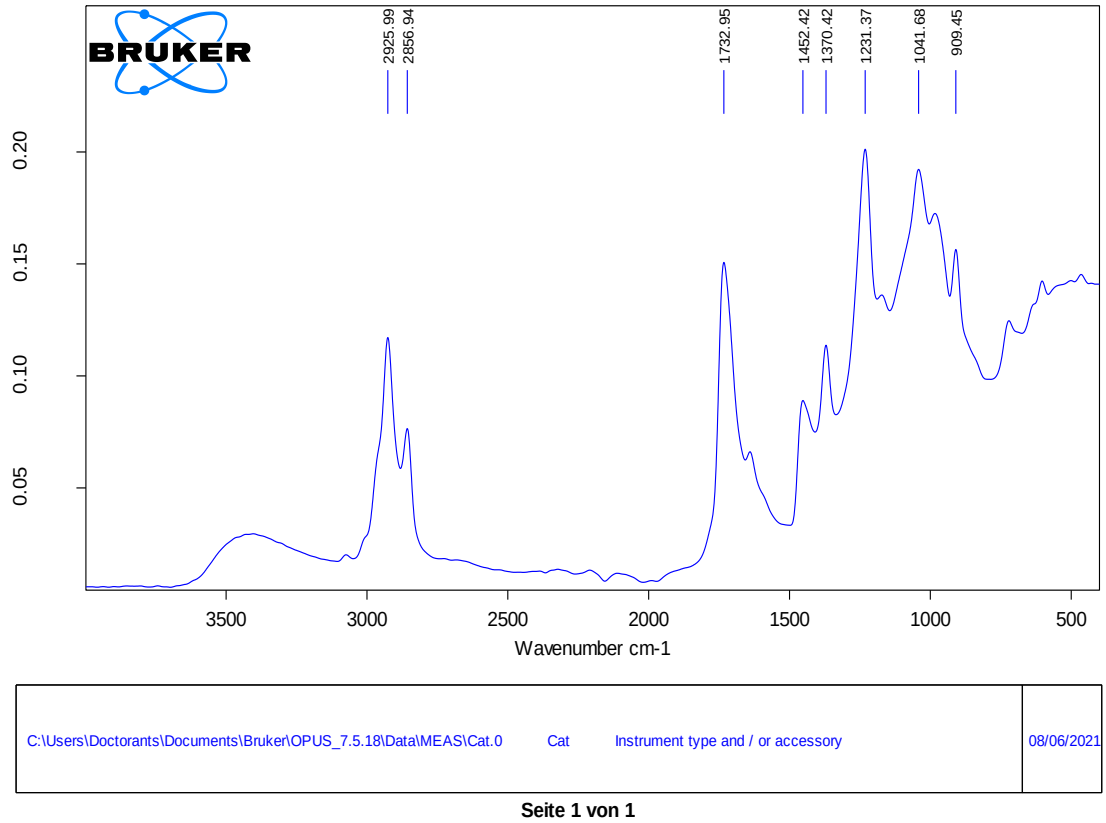



**Figure IV.8** : Spectre de l'huile végétale carthamus :

2925.9 $cm^{-1}$ et 2856.9 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (C-H) Alcanes $_CH_2_CH_3$.

1732.9 $cm^{-1}$ = valence des groupements (C=O) acides carboxylique.

1452.4 $cm^{-1}$= valence des groupements acide carboxylique ionisée (C=O).

1370 $cm^{-1}$ et 1041.68 $cm^{-1}$ = valence des groupements alcool (O-H) premier et secondaire.

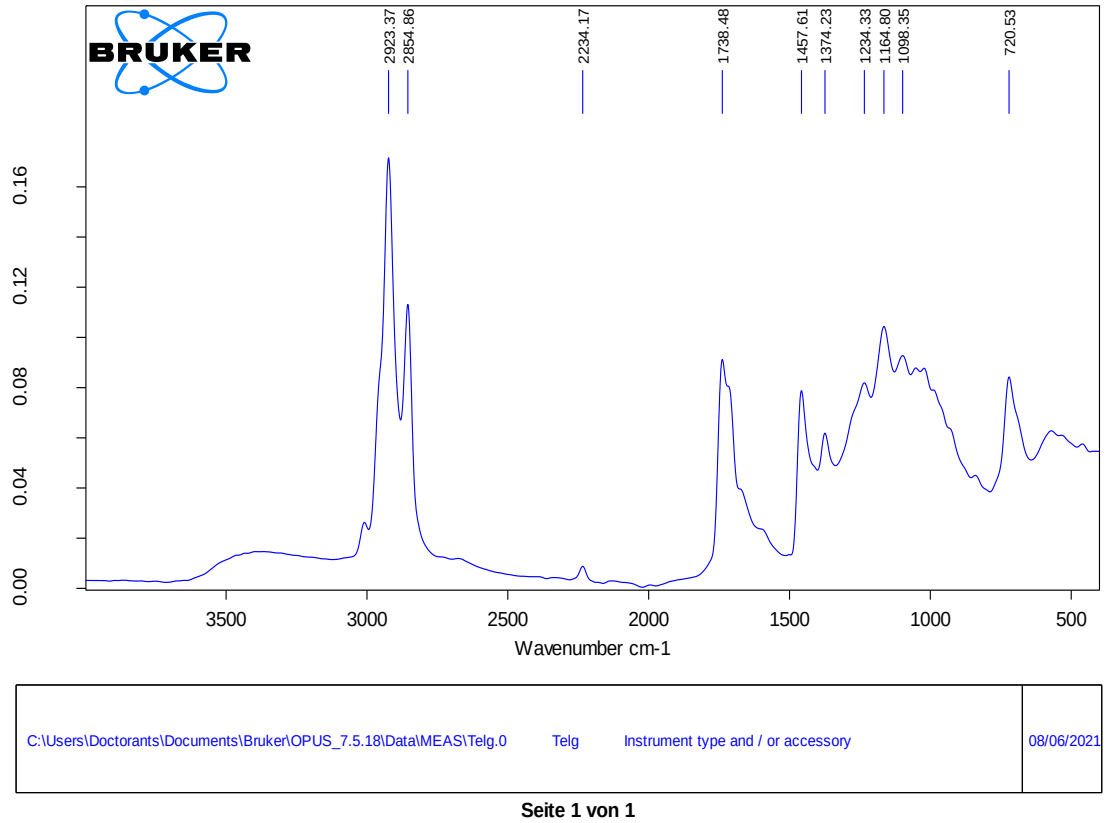



**Figure IV.9** : Spectre de l'huile végétale Telghouda :

2923.3 $cm^{-1}$ et 2854.8 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (C-H) Alcanes $_CH_2_CH_3$.

2234.1$cm^{-1}$ = élongation des groupements (C≡N) Nitriles.

1738.4$cm^{-1}$ = valence des groupements (C=O) acides carboxylique.

1457.6 $cm^{-1}$= valence des groupements acide carboxylique ionisée (C=O)

1374.2 $cm^{-1}$ et 1234.3 $cm^{-1}$= valence des groupements alcool (O-H) premier et secondaire.

1234.3 $cm^{-1}$ et 1164.8 $cm^{-1}$ et 1098 $cm^{-1}$ = valence des groupements alcool (C-OH) primaire, secondaire et tertiare.

Et pour les poudres végétales de ces plantes l'analyse faite pour localiser les groupements fonctionnelles et comparée avec les huiles et l'extraits végétales étudiées.

Carthamus racines :

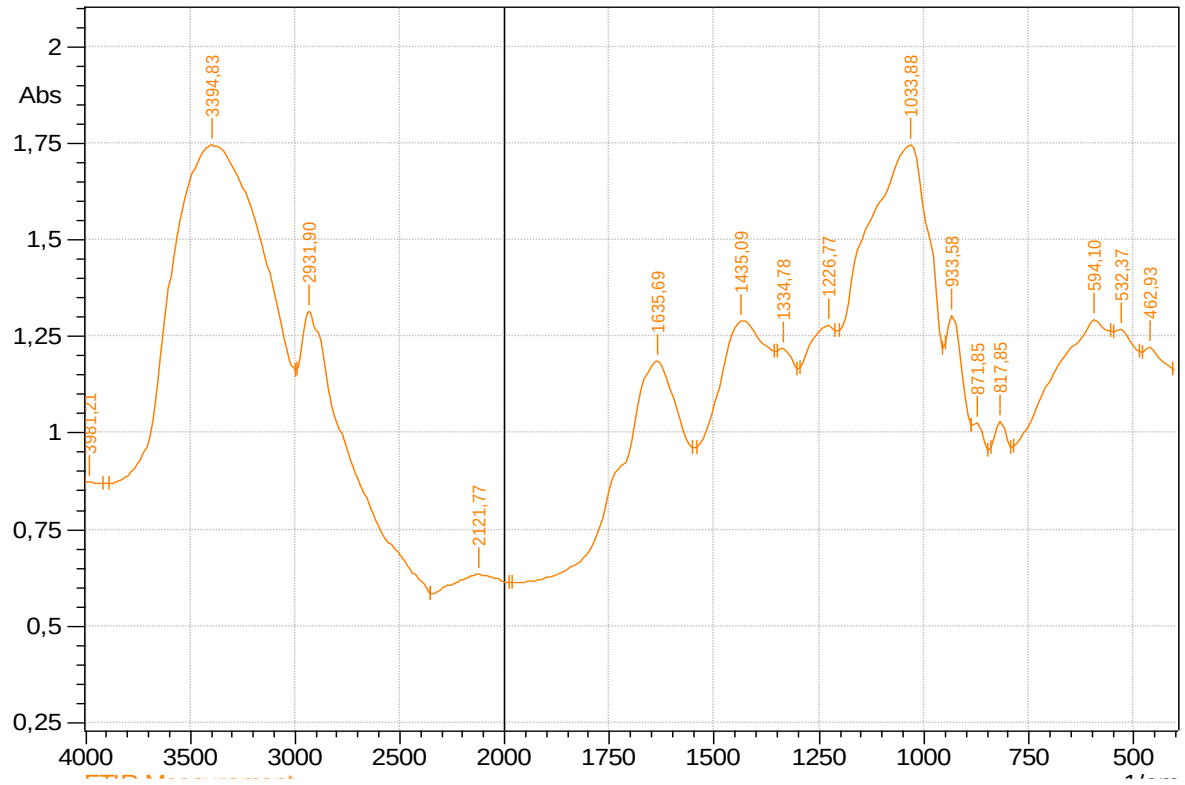



**Figure IV10** : Spectre des racines de carthamus :

3394.8 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (O-H) Acides

2931.9 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (C-H) Alcanes $_CH_2_CH_3$.

2121.7 $cm^{-1}$ = groupements (C≡N) de triple liaison des nitriles.

1635.6 $cm^{-1}$ et 1435.09 $cm^{-1}$ et 933.5 $cm^{-1}$ = valence des groupements acide carboxylique ionisée (C=O).

1334.7 $cm^{-1}$ et 1226.7 $cm^{-1}$ = élongation des groupements alcool (O-H) primaire et secondaire.

1033.8 $cm^{-1}$ = valence des groupements (C-OH) alcool primaire.

Carthamus feuilles :

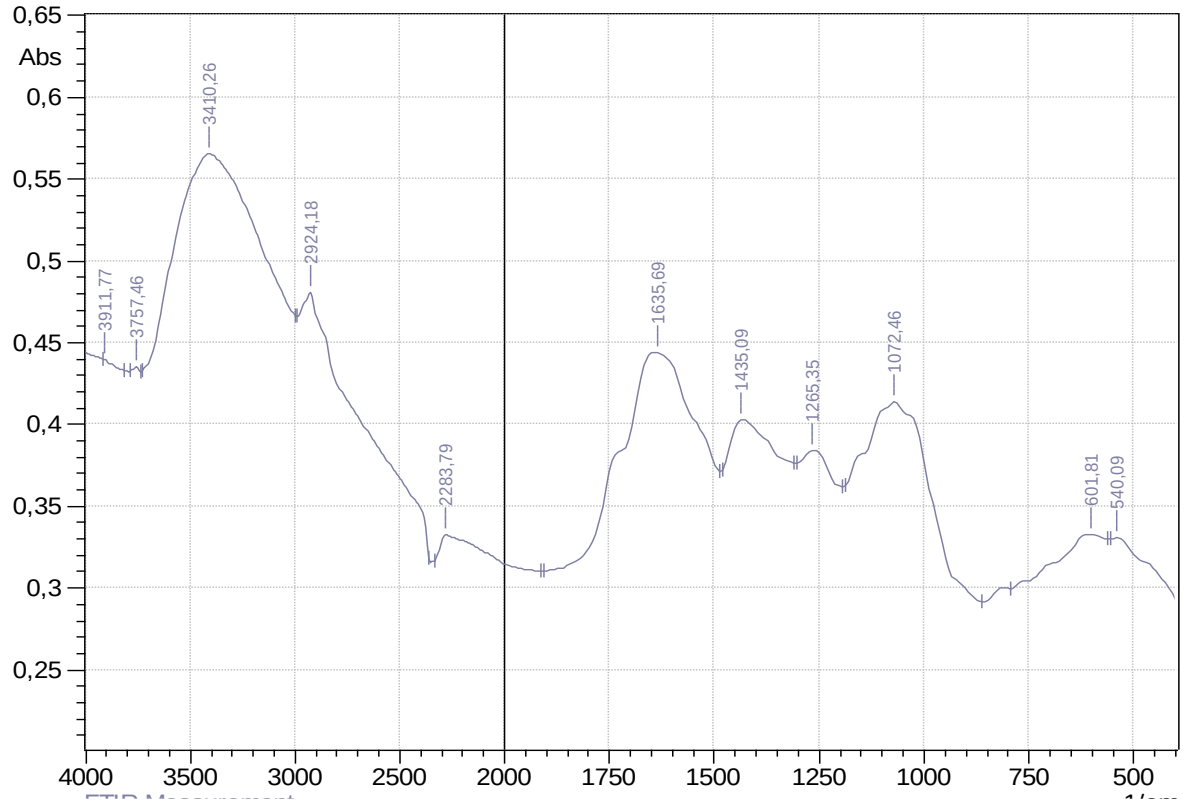



**Figure IV11** : Spectre des feuilles de carthamus :

3410.2 $cm^{-1}$= élongation des groupements (O-H) Acides.

2924.1 $cm^{-1}$= élongation des groupements (C-H) Alcanes $_CH_2_CH_3$.

2283.7 $cm^{-1}$= groupements (C≡N) de triple liaison des nitriles.

1635.6 $cm^{-1}$ et 1435.09 $cm^{-1}$= valence des groupements acide carboxylique ionisée (C=O).

1265.3 $cm^{-1}$= élongation des groupements alcool (O-H) secondaire.

1072.4 $cm^{-1}$= valence des groupements (C-OH) alcool primaire.

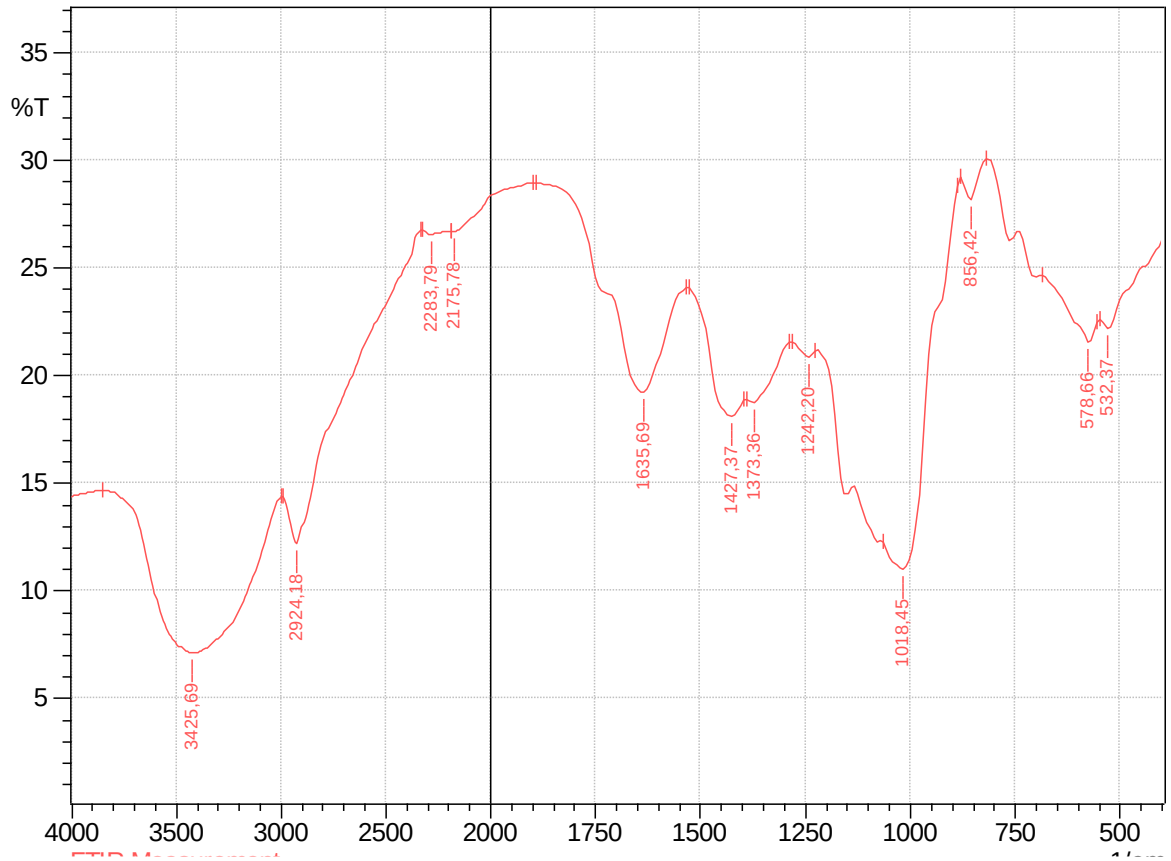



**Figure IV12** : Spectre des racines de Telghouda :

3425.6 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (O-H) Acides.

2924.1 $cm^{-1}$ = élongation des groupements (C-H) Alcanes $_CH_2_CH_3$.

2283.7 $cm^{-1}$ et 2175.7 $cm^{-1}$ = groupements (C≡N) de triple liaison des nitriles.

1635.6 $cm^{-1}$ et 1427.3 $cm^{-1}$ et 856.4 $cm^{-1}$ = valence des groupements acide carboxylique ionisée (C=O).

1373.3 $cm^{-1}$ et 1242.2 $cm^{-1}$ = élongation des groupements alcool (O-H) primaire et secondaire.

1018.4 $cm^{-1}$ = valence des groupements (C-OH) alcool primaire.

Nous remarquons que, selon l'analyse effectuée par le spectroscopie Infrarouge sur les matières végétale sèches, que les huiles végétales et les extraits hydroalcooliques, ont presque les mêmes groupements.

## IV.7. Résultats d'analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible) :

### IV.7.1. Dosage des polyphénols :

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu qui est un acide de couleur jaune, qui se colore en bleu lors de l'oxydation des polyphénols. La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 750 nm. Elle est proportionnelle au taux de composés phénoliques. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales et les nourritures.

Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée est de tracer les graphes du pourcentage de l'activité antioxydant obtenues en fonctions des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits :

**Tableau IV.6 :** Teneur en polyphénols des extraits de macération dans l`eau pour différentes concentrations

| Matières | Absorbances | Concentration (µg/ml) |
|---|---|---|
| **Feuillles de carthamus** | 0.225 | 100 |
| **Carthamus** | 0.006 | 100 |
| **Telghouda** | 0.065 | 100 |

On trouve La même valeur de dosages des polyphénols pour les trois extrait de carthamus et ses feuilles et de Telghouda (100 µg/ml ).

Les analyses quantitatives des phénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard.

### IV.7.2. Courbe d'étalonnage : (acide gallique) :

**Tableau IV.7 :** courbe d'étalonnage d'acide gallique.

| Concentration (µg/ml) | 0 | 50 | 100 | 150 | 200 | 250 | 300 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Abs | 0 | 0.2213 | 0.4003 | 0.6877 | 0.9626 | 1.1616 | 1.3278 |

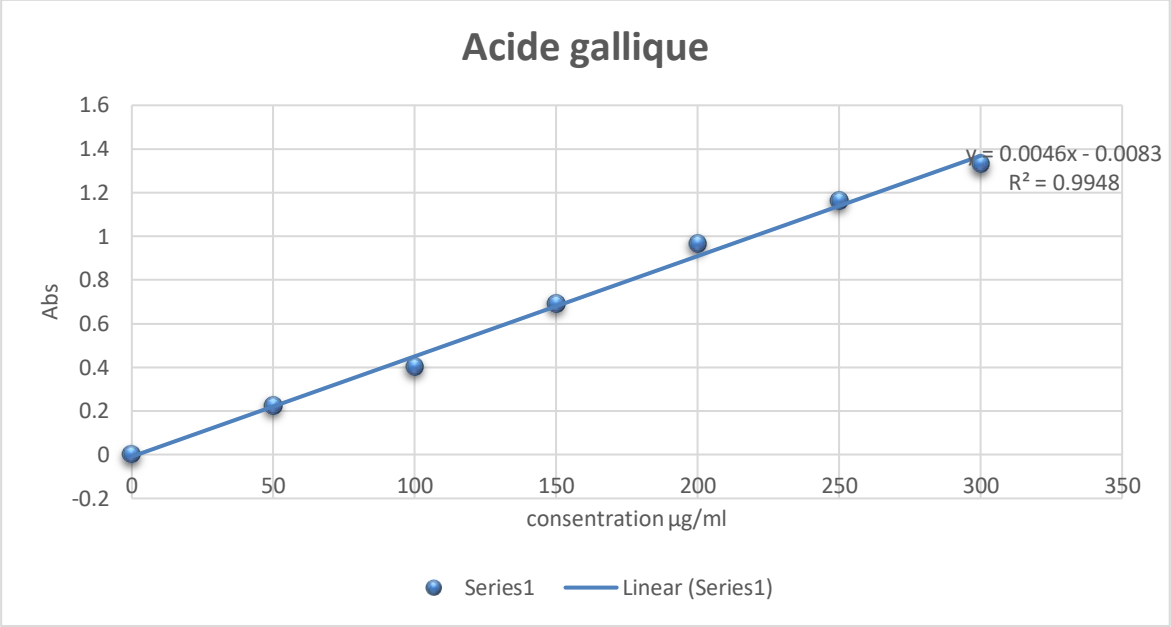



**Figure IV.13:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

**Tableau V.8:** Teneur en polyphénols des extraits pour différentes concentrations.

| **Matière** | **Absorbance** | **Concentration (µg/ml)** |
|---|---|---|
| Feuillles de carthamus | 0.225 | 50.71 |
| Carthamus | 0.006 | 3.10 |
| Telghouda | 0.065 | 15.93 |

## IV.8. Résultats des activités biologiques :

### IV.8.1. Activité antioxydant :

Le test du pouvoir réducteur met en évidence la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron, permettant ainsi de bien apprécier l'activité antioxydant de nos extraits testés. La capacité réductrice d'un composé peut servir d'indicateur de son potentiel antioxydant. Dans ce test, nous avons utilisé le DPPH comme un radical libre, stable, d'absorbance de 517 nm, pour l'évaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques.

Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée est de tracer les graphes du pourcentage de l'activité antioxydant obtenues en fonctions des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits :

**Tableau IV.9 :** l'absorbance de solution contrôle et d'essai à 517 pour chaque concentrations

| ***N de tube*** | **Les concentrations (mg/ml)** | **L'absorbance à 517nm** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Abs SC | HVC | HVT | EHCR | EHCF | EHTR |
| *1* | 0.5 | 1.072 | 0.926 | 0.929 | 1.070 | 0.172 | 0.909 |
| *2* | 1 | | 0.925 | 0.947 | 0.996 | 0.227 | 0.810 |
| *3* | 1.5 | | 0.950 | 0.973 | 0.826 | 0.236 | 0.513 |
| *4* | 2 | | 1.003 | 1.042 | 0.600 | 0.319 | 0.742 |
| *5* | 2.5 | | 1.05 | 0.071 | 0.559 | 0.719 | 0.655 |

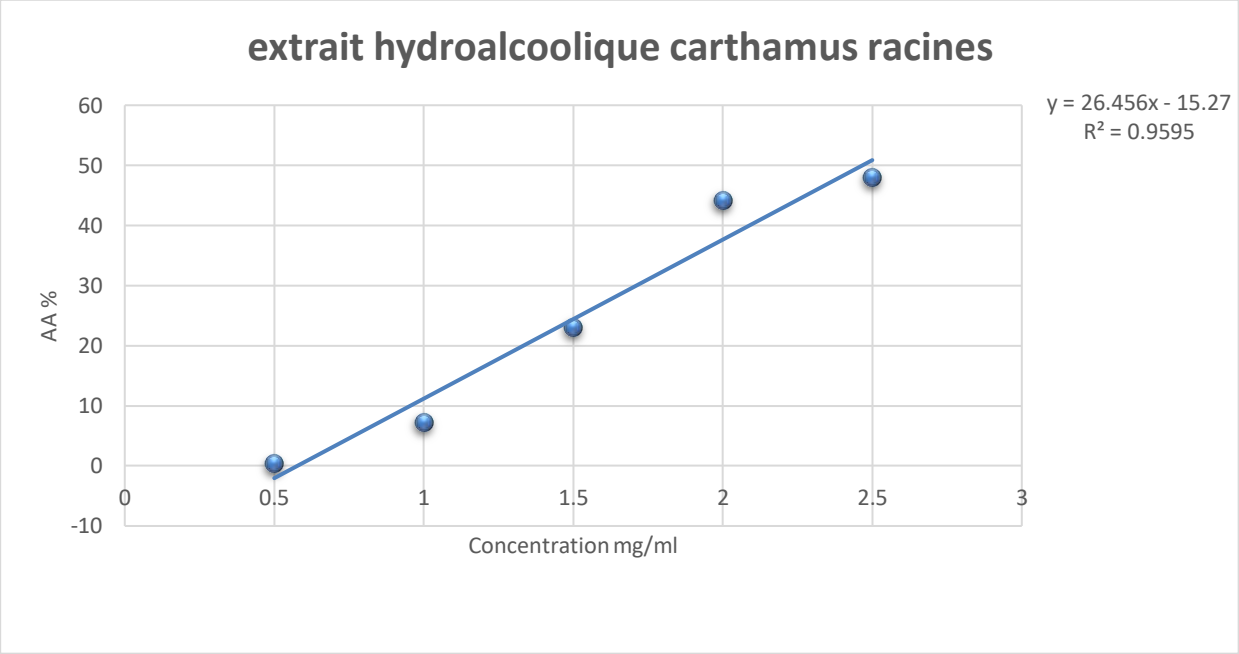



**Figure IV.14** : Résultats de l'activité antioxydant pour l'extrait aqueux de carthamus

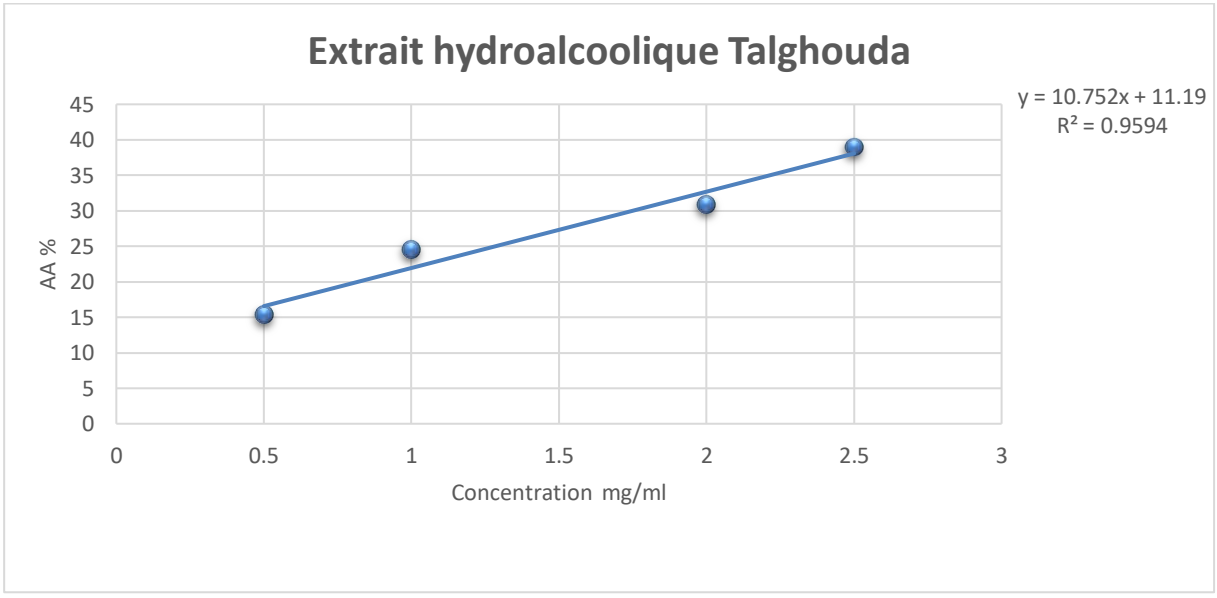



**Figure IV.15** : Résultats de l'activité antioxydant pour l'extrait aqueux de Telghouda.

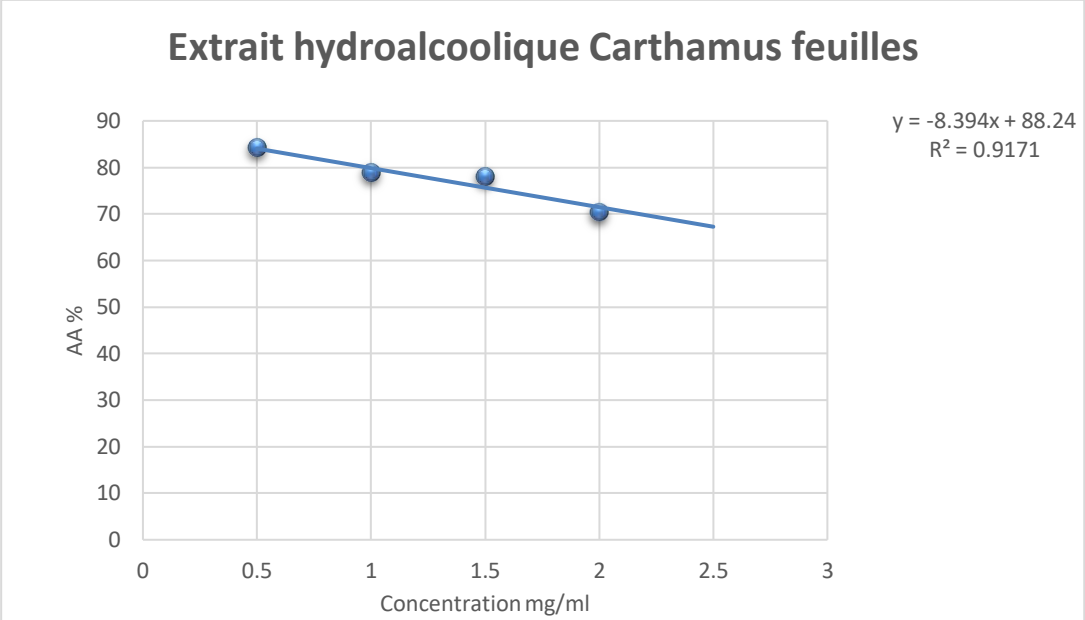



**Figure IV.16** : Résultats de l'activité antioxydant pour l'extrait aqueux des feuilles de carthamus.

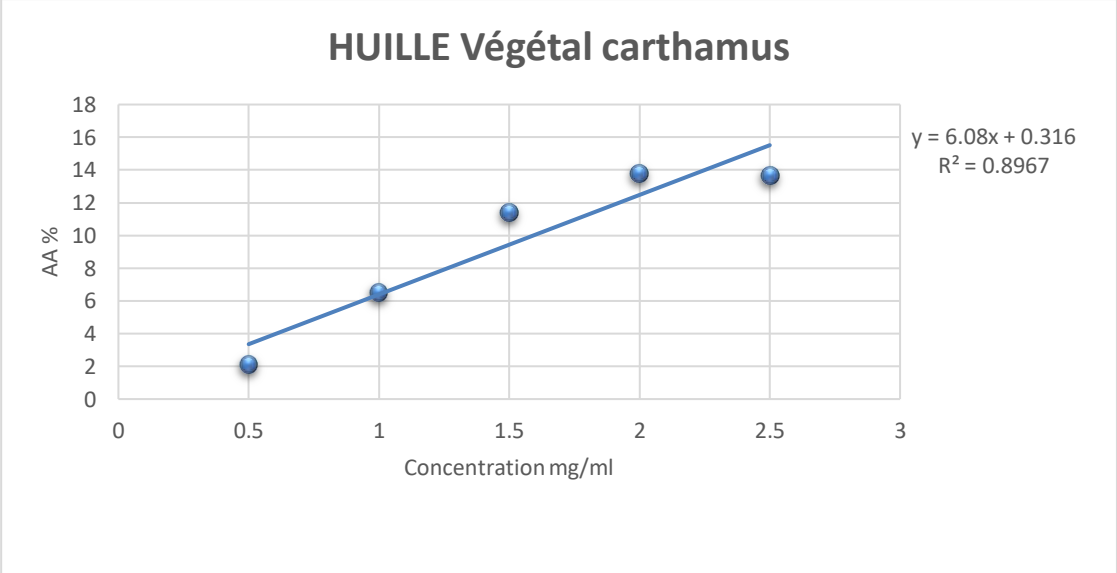



**Figure IV.17:** Résultats de l'activité antioxydant pour l'extrait aqueux d'huile végétal carthamus

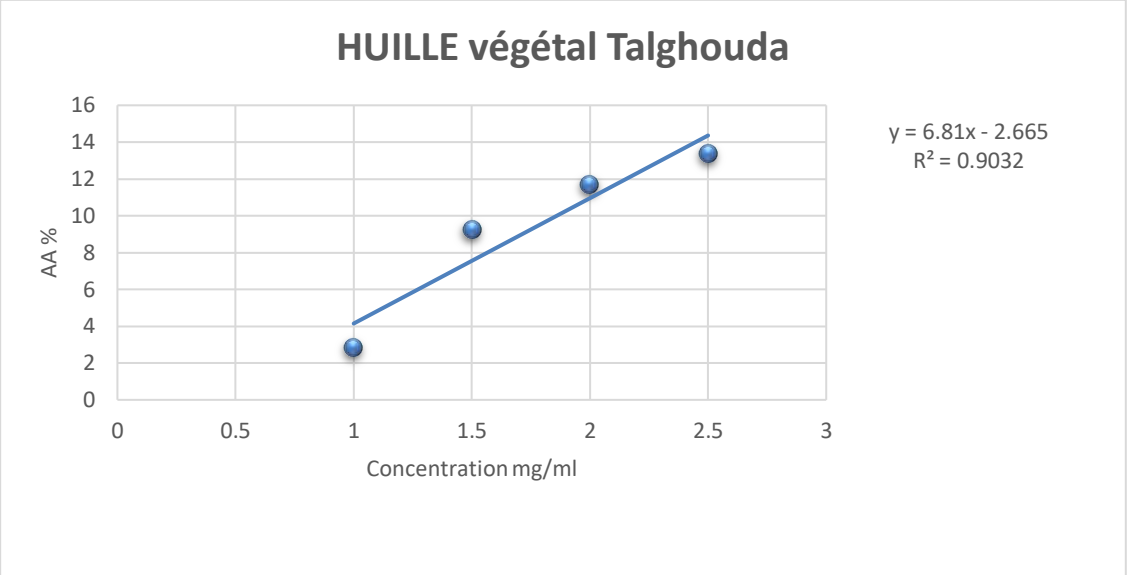



**Figure IV.18 :** Résultats de l'activité antioxydant pour l'extrait aqueux d'huile végétal Telghouda

**A** partir des équations de ces graphes on trouve que :

**Tableau IV.10 :** la concentration d'inhibition médiane de ces matières

| Huiles/ Extrait | Extrait hydroalcoolique carthamus racines | Extrait hydroalcoolique carthamus feuilles | Extrait hydroalcoolique Telghouda | Huile végétale carthamus | Huile végétale Telghouda |
|---|---|---|---|---|---|
| IC50 (mg/ml) | **2.46** | **3.6** | **4.5** | **8.17** | **7.73** |

Plus l'IC50 est petite, plus la molécule a une activité antioxydant plus puissante. Les résultats présentés dans les tableaux révèlent que l'extrait aqueux de Carthamus possède l'activité de piégeage des radicaux la plus élevée avec la valeur de IC50 de 2.46 mg/ml suivie de l'extrait aqueux de Telghouda (IC50 = 3.6 mg/ml) puis les feuilles de Carthamus (IC50 = 4.5 mg/ml ), les HVT (IC50 = 7.73 mg /ml), les HVC (IC50 = 8.17 mg /ml )

### IV.8.2. Activité antibactérienne :

Lors de cette étude, nous avons testé l'activité des extraits de *carthamus caeruleus* (HV, feuilles, racines) et Telghouda (HV, racines) bois à différentes concentrations vis-à-vis de 08 microorganismes (6 bactéries, 2 levures).

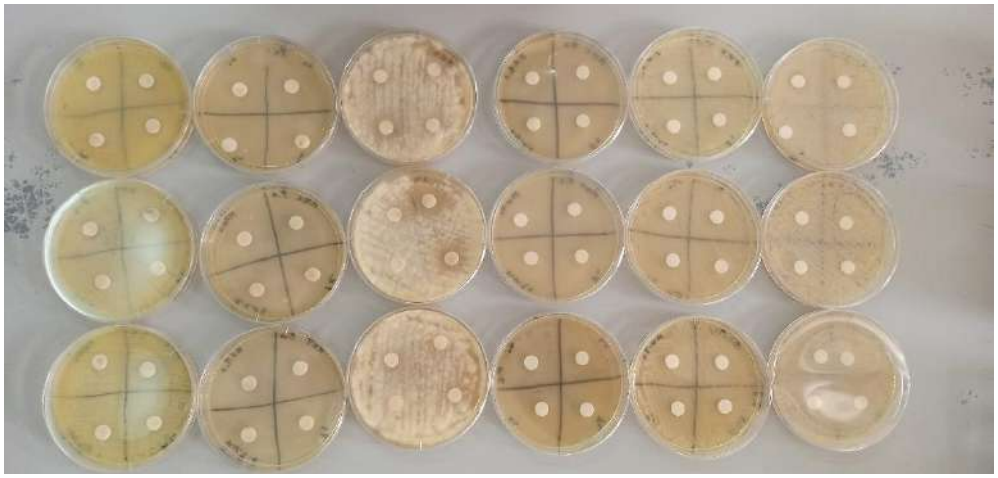


**Figure IV.19 :** Test de l'activité bactérienne.

Les résultats de l'évaluation antimicrobienne des extraits sont repris ci-dessous. Dans ces tableaux sont inclus les valeurs en (mm) des zones ou des diamètres d'inhibitions, représentant la grandeur du halo formé par les microorganismes inhibés par l'activité antimicrobienne.

**Tableau V.11:** Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des souches bactérienne vis- à-vis de l'HVC

**Souche bactérienne** **Concentration (µg/ml)**

| **Souche** | | Gram | 1000 | 500 | 250 |
|---|---|---|---|---|---|
| **Bactéries** | Staphylococcus aurieus | + | 17 | 14.6 | 13.8 |
| | bacillus subtillus | + | / | / | / |
| | Escherichia coli | - | / | / | / |
| | pseudomonas aéruginosa | - | / | / | / |
| **Champig-non** | candida albicans | / | 11.8 | 10.6 | 9.8 |
| | Aspergillus brasilunsis | / | 12.6 | 11.8 | 11.2 |

D'après ce tableau on trouve que l'HVC n'a pas une activité antibactérienne malgré l'existence des zones d'inhibition pour les souches Staphylococcus aurieus, bacillus subtillus, candida albicans et Aspergillus brasilun

**Tableau V.12:** Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des souches bactérienne vis- à-vis de l'HVT

| **Souche bactérienne** | | | **Concentration (µg/ml)** | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Souche** | | Gram | 1000 | 500 | 250 |
| **Bactéries** | Staphylococcus aurieus | + | 20.3 | 16.8 | 16 |
| | bacillus subtillus | + | / | / | / |
| | Escherichia coli | - | / | / | / |
| | pseudomonas aéruginosa | - | / | / | / |
| **Champignon** | candida albicans | / | 13.2 | 11 | 10.4 |
| | Aspergillus brasilunsis | / | 14 | / | / |

D'après ce tableau on trouve que l'HVT n'a pas un pouvoir activité antibactérien mais y a une activité anti-champignon

**Tableau V.13:** Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des souches bactériennes vis- à-vis de l'EHCF

| **Souche bactérienne** | | | **Concentration (µg/ml)** | |
|---|---|---|---|---|
| **Souche** | | Gram | 1000 | 500 |
| **Bactéries** | Staphylococcus aurieus | + | 13.2 | 13.2 |
| | bacillus subtillus | + | 14.2 | 13.4 |
| | Escherichia coli | - | / | / |
| | pseudomonas aéruginosa | - | / | / |
| **Champig-non** | candida albicans | / | / | / |
| | Aspergillus brasilunsis | / | 12.2 | 11 |

Malgré l`existence des zones d`inhibition, relativement faible, nos résultats prouvent l`existence d`activité antibactérienne contre trois souches. Tant que les autres souches sont avérées résistantes.

**Tableau V.14:** Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des souches bactériennes vis- à-vis L'EHCR

| **Souche bactérienne** | | | **Concentration (µg/ml)** | |
|---|---|---|---|---|
| **Souche** | | Gram | 1000 | 500 |
| **Bactéries** | Staphylococcus aurieus | + | 13.8 | 13.8 |
| | bacillus subtillus | + | 16.2 | 16 |
| | Escherichia coli | - | 12 | / |
| | pseudomonas aéruginosa | - | / | / |
| **Champig-non** | candida albicans | / | 12 | / |
| | Aspergillus brasilunsis | / | / | 10.3 |

Ces résultats preuve que l'EHCR n'a pas un pouvoir antibactérien malgré l'existence des zones d'inhibition dans quelques souches.

**Tableau IV.15 :** Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des souches bactérienne vis- à-vis de l'EHT

| **Souche bactérienne** | | | **Concentration (µg/ml)** | |
|---|---|---|---|---|
| **Souche** | | Gram | 1000 | 500 |
| **Bactéries** | Staphylococcus aurieus | + | 12 | 11.4 |
| | bacillus subtillus | + | / | 12.6 |
| | Escherichia coli | - | / | / |
| | pseudomonas aéruginosa | - | / | / |
| **Champig-non** | candida albicans | / | 9.8 | / |
| | Aspergillus brasilunsis | / | 11 | / |

L'EHT ne présente pas une activité antibactérienne



**Figure IV.20 :** Résultats du test de l'activité antibactérienne.

# Conclusion générale

# CONCLUSION GENERALE :

Au cours de ce travail, l'extraction de deux plantes la « *Carthamus caeruleus. L* », et la « *bunium incrassatum : Telghouda* **»** a été effectué par hydrodistillation classique et par la technique du Soxhlet. Une étude phytochimique et biologique a été faite et ce, en évaluant l'activité antioxydante et antibactérienne. La non disponibilité d'un équipement adéquat nous a conduit à réaliser une partie du travail au niveau de la filiale Antibiotical Médéa. L'identification des plantes a été réalisée à l'aide de spécialistes en la matière. Les expériences ont permis de déterminer les taux de matière sèches, minérales les cendres solubles et insolubles dans l'eau et les matières organiques. Le travail expérimental a permis aussi de déterminer les métabolites secondaires par un screening phytochimique et de déterminer les rendements des extraits. Quelques propriétés physicochimiques des plantes ont été faites.

Les résultats obtenus montrent l'existence d'une forte matière sèche pour le carthamus L, (89.56 %) mais une faible quantité pour Telghouda. Pour la matière minérale, les résultats montrent l'existence d'un faible taux (2.2% et 3.32%) pour carthamus L et Telghouda respectivement. Pour les cendres solubles on note un % de 36.7% pour carthamus et 42.9 % pour Telghouda. Les cendres insolubles présentent des % voisins (63.3% et 57.1%) pour carthamus et Telghouda respectivement.

Les résultats du screening phytochimiques indiquent que les deux plantes (CR et TL) contiennent des flavonoïdes, des tanins et des glycosides. Les plantes ne contiennent pas des saponines, des anthcynes et des irroîdes.

Les résultats des rendements donnent des valeurs de 10.98 % pour CR et 5.6 % pour TL, aussi pour les pour les extraits hydroalcoliques, les résultats donnent un rendement de 9.21 % pour CR et 16.17 % pour TL et 14.63 % pour les feuilles de carthamus. La détermination des constantes physicochimiques a permis de donner des valeurs de l'indice d'acide, l'indice de saponification, et de l'indice de réfraction.

L'analyse des spectres hydroalcoliques du carthamus racines, et feuilles et de Telghouda et de l'huile végétale du carthamus et de Telghouda a permis de localiser quelques groupements composant ces plantes. La teneur en polyphénols des extraits de macération dans l'eau pour différentes concentrations a permis de trouver une même valeur de dosage pour les trois extraits de carthamus, de ces feuilles et de Telghouda : (100 µg/L).

Les résultats des tests du pouvoir réducteur (activité antioxydante) a mis en évidence la capacité de la molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron. L'utilisation du DPPH comme radical libre ont montré que plus l'IC50 est petite, la molécule a une activité antioxydante plus puissante. Les résultats présentés révèlent que l'extrait aqueux de carthamus possèdent l'activité de piégeage des radicaux avec la valeur de l'IC50 de 2.46 mg/L, suivie de l'extrait aqueux de Telghouda (IC50=3.6 mg/ml), puis les feuilles de carthamus L (IC50= 4.5).

Pour l'activité antibactérienne, les résultats des tests de l'activité des extraits de carthamus et de Telghouda ont été effectués sur huit (08) microorganismes (6 bactéries et 2 levures). Les expériences ont permis de déterminer les zones d'inhibition en (mm) des différentes souches bactériennes vis-à-vis de l'HVC l'HVT, l'EHCR, l'EHCF et l'EHTR.

Enfin cette étude a permis de déterminer quelques propriétés de deux plantes : la carthamus caeruleus L et la Telghouda les résultats ont donné des rendements acceptables selon la littérature et nous avons réussi à déterminer le pouvoir antioxydant et antibactérien. Le pouvoir anti cicatrisant n'a pas été réalisé au niveau de l'Antibiotical pour des raisons de sécurité sanitaire (COVID-19).

Enfin nous souhaitons que ce travail soit complété et réalisé dans de bonnes conditions et réaliser des compositions des huiles avec des moyens et des techniques plus poussés tels que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (GC-MS).

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Abedini A., (2013).,** Pharmacognosie Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'Hyptis atrorubens Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes,. École Doctorale Biologie Santé., Science du Médicament.

**Abbes A., (2014).** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'ammoides verticillata « noukha » de la région de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude, université Abou Bekr Belkaid , Tlemcen .

**Ahmed Bessas.** Dosage biochimique des composes phénoliques dans les dates et le miel récoltés dans le sud algérien. 2008. Consultable sur : https://www.memoireonline.com/07/08/1340/m_dosage-biochimique-composesphenoliques-datte-miel-sud-algerie16.html

**Amelot N., (2010).,** Couplage entre signalisation calcique et modulation du transcriptome en réponse a la cryptogeine chez des cellules de tabac.

**Anonyme, 1999.** L'ABC des plantes : Guide pratique de la phytothérapie. Marseille : Romat-édition.

**Anonyme, 2005,** Ministère de l'agriculture et du Développement Rural , Unité de Conservation et de Développement- Batna

**Aref M. et Heded M., 2015 :** Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologique (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médecinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf).Université echahid hamma

lakhdar d'el-oued faculté des sciences de la nature et de la vie département de biologie cellulaire et moléculaire.59 pages.

**Axelos, M., and Péaud-Lenoël, C. (1982).** Steryl Glycosides. In Plant Carbohydrates I, P.D.F.A. Loewus, and P.D.W. Tanner, eds. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 613–631.

**Ayad R., 2008 :** recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce zygophyllum

cornutum, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. P35-39, 40, 47

**Baba Aissa, F. (1999)**, Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du

Maghreb. Edas, 368.

**Badiaga M., 2011 :** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.10 p.

**Bakkali F . , Averbeck S . , Ida,O., (2008**). Biological effects of essential oils .Food and Chemical Toxicology , 46, 446-475 .

**Beloued, 1998.** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. P88-1

**Bellebcir, L. (2008).** Etude des composés phénoliques en tant Que marqueurs de biodiversité chez les céréales. En vue de l'obtention du Diplôme de Magister. 119p.

**Benayad N.(2008) :** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrée alimentaires stockées . Projet de recherche .Université Mohammed v – Agdal . Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Eclaire . Département de chimie . faculté des sciences de Rabat . P61.52.

**Benbelaid F,. (2015).** Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur Enterococcus faecalis responsable d'infections d'origine dentaire. thèse de doctorat, Université abou beker belkaid, Tlemcen.

**Benbrook, M. (2005).** Accroitre la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture.

**Bolou,G.E.K., Attioua,B., N'Guessan,A.C., Coulibaly,Y.A., N'Guessan,J.D. et Djaman,A.J. (2011).** Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. Sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium. Bultin de la Société Royale des Sciences de Liège,* 80 :772-790. ransformation alimentaire biologiques. Ed.Theorganic center : 6-8

**Benghanou M (2012)**. La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56.

**Beniston, N.W. (1984)**. Fleurs d'Algérie. Entreprise national du livre : Algérie.

.**Berche P , Les Staphylocoques .In : BERCHE P ,GAILLARD L , SIMONE M** ,eds .Bactériologie : les bactéries des infections humaines .Paris : Flammation , 1988 ;

**Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E. 2004 :**.New lanthanide complexes of 4 methyl 7hydroxy coumarin and their pharmacological activity. Clinical Pharmacology and Therapeutics. p50, 120-123.

**Bouakaz I., 2006 :** Etude phytochimique de la plante Genista Microcephala. Mémoire de magister, Batna.

**Boullard, B., (2001)**. Plantes médicinales du monde (réalité et croyances). ESTEM, ISBN. PP. 515-516.

**Bourrain J. L.** Allergies aux huiles essentielles: aspects pratiques. Revue Française d'Allergologie 2013: *53*, 30-2.

**Bousetla, A., Zellagui, A., Derouiche, K., & Rhouati, S. (2011)**. Chemical constituents of the roots of Algerian Bunium incrassatum and evaluation of its antimicrobial activity . Arabian Journal of Chemistry , 1-4.

**Bowles,V.G., Mayerhofer,R., Davis,C., Good,A.G. et Hall,J.C. (2010)**. A phylogenetic investigation of Carthamus combining sequence and microsatellite data. Plant Systematics

and Evolution, 287: 85–97

**Bruneton J**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier. In 2009.

**Bruneton J.(1993)** : Pharmacognosie : « phytochimie , plantes medicinales «.Paris .Lavoisier .1269 P.

**Brian M.L.(1995)** : the isolation of aromatic materiels from plant products, R.J. Reynolds Tabacco Company, Winston-Salem (USA) , p.57-148.

**Biyiti, I.F., Meko'o, D.l., Tamzc, V. et Amvam Zollo, P.H. (2004).** Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharmacologie et médecine traditionnelle africaine.* 10:11-20.

**Chemar K., 2016 –** Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales spontanées de la région EL Outaya. Mémoirede Mester, Univ. Med Khider, Biskra, 8-11

**Chentouh, s., boulahbel, s., adjal, f., tolba, m., alloua, n., moumen, y., al. (2018)**. Effets des extraits organiques de bunium incrassatum sur quelques parametres hematologiques chez les lapines De population la race locale. Revue des bioressources, 8 (2), 34- 42.

**Couplan, F., & Styner, E. (1994)**. Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques. Masson, Paris.

**Chakou M ET Bassou K. (2007) :** Efficacité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la mentha Spicatal.isdue de la région de ouargla sur quleques germes pathogenes : E.coli, pseudomonaeroginosa ,Staphylococcus aureus, Bacillus Subtiluis et Candida albicans.mémoire de DES microbiologie.Université de kasdi Merbah Ouargla , P.14-27 .

**Couic-Marinier F, Lobstein A.** Composition chimique des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques 2013: 52(525), 22-5.

**Couic-Marinier F, Lobstein A.** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. Actualités pharmaceutiques 2013: 52(525), 18-21.

**Condassamy, O. (2015).,** Valorisation d'une lignine alcaline industrielle : vers le développement de nouveaux synthons et oligomères bio-sourcés issus de la lignine. Thèse de Doctorat.

**Cacas, J.-L., Furt, F., Le Guédard, M., Schmitter, J.-M., Buré, C., (2012).** Lipids of plant membrane rafts. Prog. Lipid Res. *51*, 272–299.

**Chevalier, P. (2012).** L'usage des substances antimicrobiennes en production animale : position des experts et des gouvernements. *Revue des connaissances scientifiques,* 60 : 1-60.

**Cuq, J-L (2001)**. Cours chromatographie liquide, Université Montpellier, p4

**Dacosta, E. (2003).**Les phytonutriments bioactifs.Yves Dacosta (Ed). Paris, 317 p.

**Damien, D.H. J., Kosar, M., Kahlos, K., Holm., Y., Hiltunen, R. (2003)**. Antioxidant properties and Composition of aqueous Extracts from Mentha Species, Hybrids, Varieties and Cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistr, 51: 4563-4569

**De Rijke E., Out P., Niessen W M A., Ariese F., Gooijer C., Brinkman U A T., 2006.** Analytical separation and detection methods for flavonoids. Journal of Chromatography A 1112: 31

**Decaux I. 2002.** Phytothérapie: Mode d'emploi. Ed: le bien public. P: 6.

**Delporte. G., Mascolo. N., Izzo. A. A., *et al.*, 1999.** Life. Scien., 65(4), 337-53.

**Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F. 2003:** Natural product: their chemistry and biological significance. Journal of the American Oil Chemistry Society. 80:65-70.

**Dutertre J., 2011.** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. *Thèse. Doc*. Univ. Bordeaux 2 - Victor Segalen. U.F.R des sciences médicales.120p.

**Diallo, A.M. (2004)**. Etude des plantes médicinales de Niofunke (Région Tombouctou). Phytochimie et pharmacologie de Maerua Crassifiolia Forsk (Capporidacée).Thése de doctorat, Université de Bamako. Mali. P125.

**Djemoui D., 2012 :** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques plantes

**Dubots, E., Botté, C., Boudière, L., Yamaryo-Botté, Y., Jouhet, J., Maréchal, E., and Block, M.A. (2012**). Role of phosphatidic acid in plant galactolipid synthesis. Biochimie *94*, 86–93.coumarines synthétisées. Mémoire Master Academique, Spécialité : Chimie Appliquée. 53p.

**Elliot Middleton, JR., Chithan Kandaswami, and Theoharis C. Theoharides.** The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer.

**Ernest S. et Paul, M. (2000).** Cultures médicinales Canadienne. Conseil National de la recherche de Canada. P1-222.

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C. 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus L*. organs and their biological activities. Compte Rendu de Biologie, **331**: 372–379.

**Frissou S., HANI D., (2013-2014).,** Etude des teneurs en alcaloïdes d'une plante médicinale «Matricaria pubescens» et la détermination de leurs activités antioxydantes. Mémoire de master.

**Ganière,J.P., Mangion,C. Et Péridy,M. (2004).** Détermination des Concentrations

Minimales Inhibitrices et Bactéricides de la cefquinome, la marbofloxacine, la tylosine et la spiramycine en solution dans du lait vis-à-vis de bactéries isolées de mammites bovines. *Revue Mé,*.8(9) :411-416.

**Georgieva,S., Boyadzhiev,L. et Angelov,G. (2010)**. Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. *Revue de génie industriel,* (5):124-132.

**Goudable,J. et Favier,A. (1997)**. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. 11:115-200.

**Guillouty A., (2016).,** Plantes médicinales et antioxydants, thèse de Doctorat Université Paul Sabatier, Toulouse, France.

**Henni M., Gheraba R. (2018).** Valorisation et comparaison de l'activité thérapeutique et phytochimique de deux plantes médicinales :teucriumpolium et phlomis crinita .mémoire de fin d'études de master, Université Dr Yahia Fares de Médéa.

**Hartmann T., 2007.** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Photochemistry* 68: 2831 - 2846.

**Havsteen B.H., 2002:** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol. Therapeut. p96, 67–202.

**Heilerova, L.Buchova, M , Tarapcik, P, Silhar, S, Labuda,J,(2003).** Comparaison of antiosidadadive activity data for aqueous extracts of lemon Balm ( Mellissa officinalis ), Oregano (Origanum vulgare ), Thym (thymus vulgaris ) , and Agimony (Agrimonia eupatoria ) obtained by conventional methode and the DNA-based biosenor .Czech Jouranal of Nutritional Biochemistry .13 : 572-584

**Hostettmann K,. O. Poteratte, 1998.** *The potential of higer plants as a Sourse of New Drugs.* Chimia International Journal for Chemistry.

**Hostettmann K, Marston A., 2002.** Twenty Years of Research into Medicinal Plants: Results and Perspectives, Phytochemistry Reviews 1(3):275-285

**Hmid I., (2013).,** Contribution à la valorisationalimentaire de la grenade marocaine (punica granatum l.)., caracterisationphysicochimique, biochimique et stabilite de leur jus frais.,Thèsede doctorat en cotutelle entre l'université d'angers (France) et l'université de béni mellal (maroc)., spécialité sciences agronomiques.

**Iserin P, 2001.** Encyclopediedes plantes médicinales. Ed: Larousse Bourdesse. Paris p: 335

**Iserin P., 2001-** Encyclopédie des plantes médicinales. Ed.Larousse-bordas, paris :275 p.

**Jassb, A., Mehrdad, M., Soleimani, M., Mirzaeian, M., & Sonboli, A. (2005)**. Chemical composition of the essential oils of Bunium elegans and Bunium caroides. Chemistry of Natural Compounds, 41 (4), 415-416.

**Jean Bruneton.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3eme édition , 1999 .édition tec et doc

**Koechlin-Ramonatxo,C. (2006).**Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydante ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20:167-177.

**Laouar S., (2013).** Etude de l'activité antibactérienne de quelques huiles essentielles et l'effet de leurs associations avec les antibiotiques. Mémoire de fin d'étude, Université Abderrahmane Mira, Bejaia.

**Lamarck, J.B. et Marie, J.L. (1785)**. Encyclopédie méthodique botanique. Clément Plomteux : France.2.

**Larousse**, Encyclopédie des plantes médicinales, identifications, préparations et soins.

**larrey D. J Hepatol**. Hepatotoxicity of herbalremedies 1997, pp: 47-51

**Malecky M., 2005 :** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, AgroParisTech. p 9, 13-19, 20, 27.

**Marc,F., Davin,A., Deglene-Benbrahim,L ., Ferrand,C., Baccaunaud,M. et Fritsch,P. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Medecine/sciences,* 20 (4): 458-463.

**Max Wichtl, Robert Anton**. Plantes thérapeutiques : tradition pratiques officinale science et thérapeutique 2em édition. édition Tec et Doc

**Miolane,P. (2004)**.Encyclopedie universelle de 15000 plantes et fleurs de jardin. Larousse ISBN

**Murthy,I.Y.L.N. et Anjani,K. (2008)**. Fattyacid composition in Carthamus species.7th international safflower conference, Australie.

**M. Bouguerra A., (2012).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de Foeniculum vulgare Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire Présenté pour l'obtention du Diplôme de Magister, Université Mentouri Constantine, Constantine

**Narayana K. R.,Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R. (2001**) Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential. Indian Journal of Pharmacology. 33, 2-16.

**NF ISO 1242, T75-103 (12/1999).** Huiles essentielles –détermination de l'indice d'acide .Essential oils –Determination of acide value ( Indice de classement : T75-103 ).

**Nkhili, Ez., 2009 :** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre,Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat,Spécialité: Sciences

des Aliments. Université CadiAyyad. MarrakechUniversité D'avignon Et Des Pays De Vaucluse Ecole Doctorale 306 –SPSA, Montpellier.378p.

Novais M.H., Santos I., Mendes S., Pinto-Gomes C. **2004.** Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal), Journal of Ethnopharmacology 93 (2004) 183–195

**Organisation Mondiale de la Santé.1998** .Réglementation des médicaments à base de plantes La situation dans le monde.

**OUIS Naouel,. (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre et de feouil. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister (Ecole doctorale), Université Mentouri

**Ponce A.G, Fritz R.,del Valle C.E .& Roura S.I.,2003**-Antimicrobial activity of essential oils on the native microfora of organic Swiss chard.Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie ,

**Popovici,C., Saykova,I. et Tylkowski,B. (2009)**. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, (4) :8.

**Prasad S.K**. Biochemistry of Lipids. Discovery Publishing House; New Delhi, DEL, India: 2010.

**Pinto et al .2003 ;Salgueiro et *al.*** 2003

**Quezel P et Santa S. 1963**. Nouvelle flore de l'Algerie et des regions desertiques et meridionales. Tome II, Edition du centre national de la recherche scientifique (CNRS), Paris.

**Quezel,P. et Santa,S. (1963)**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Centre national de la recherche scientifique: France. 2.

**Roux R . (2008) :** conseil en aromathérapie.2éme Edition, pro-officia , p 187.Iheir main components upon Cryptococcus neoformans. Mycopathologia , 128 : P.151-153.

**Ribérau-Gayon, P. (1968)**. Les composés phénoliques des végétaux. Ed: Dunod. Paris. P: 317-436.

**Saffidine K., (2015).,** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de Carthamus caeruleus L. et de Plantago major L., Thèse de Doctorat en Sciences Filière: Biologie

**Samate Abdoul D. (2001) :** Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation , thése de doctorat , Univ. De Ouagadougou,Burkina Faso.

**Sanago R., 2006.**Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.

**Simon y. Mills, 2001**. Evidence for the clinician – a pragmatic framework for phytotherapy

**Singleton , V.L, Orthofer , R. and Lamuela –Raventos, R.M.(1999**). Analysis of total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent .Methods in Enzymology , 299, 152-178.

**Thomas,A. (2010)**. Prise d'antioxydants et d'autres thérapies complémentaires par les patients sous chimiothérapie antitumorale : étude prospective.

**Tsimogiannins, D.I., Oreopoulou, V. (2006).** The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*. p7, 140-146.

**Upson T.M., Grayer R.J., Greenham J.R., Williams C.A., Al-Ghamdi F. and Chen F.H. 2000.** Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. Journal of Biochemical Systematic and Ecology, **17**: 991–1007.

**Vance J.E. Vance D. (2008)** Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes. 5th ed. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands.

**Verdrager, J, 1978.** Ces médicaments qui nous viennent des plantes : ou les plantes médicinales dans les traitements modernes. Paris Maloine S. A éditeur ; p : 12-15.

**Williamson EM. 2001.** Synergy and other interaction in phytomedicines

**Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, 59: 113-122.,

**Yezza S, Bouchama S. (2014)**., Index des métabolites secondaires végétaux ., mémoire de master., Universite Kasdi Merbah, Ouargla.

**Yezza S., et Bouchama S., 2014:** index des métabolites secondaires végétaux, université kasdi merbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences biologiques.47 pages.

**Zahane O M., (2017).,** Mise en place de nouveaux procédés de dégradation des lignines dans les liquides ioniques.

**Zeghad N., (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de magister, Université Mentouri Constantine I

site web .1 http://www.mediterranean.htm

site web .2 http://www.philalgerie.com

Site web.3 ( https://sante.lefigaro.fr/sante/traitement/phytotherapie/phytotherapie-medecine-naturelle)

Site web.4 (http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/pharmacognosie3an05-ph_speciale-phytotherapie.pdf)

Site web.5 (https://sites.google.com/site/pastoraldz/plantes-medicinales/enquete-ethnobotanique/resultats/bunium-incrassatum-boiss-batt-et-trab)

Site web .6 : (n.d). Récupéré sur https://sites.google.com/site/pastoraldz/

Site web.7 https://www.memoireonline.com/01/13/6764/m_Contribution--l-etude-de-l-activite-antimicrobienne-du-genevrierjuniperus-phoenicea--essai-d4.html>)

Site web.8 www.agrobi<o-rennes.com

Site web.9 (https://www.memoireonline.com/07/08/1340/m_dosage-biochimique-composes-phenoliques-datte-miel-sud-algerie22.html.com )

site web.10 (https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/32797-bacillus-subtilis-definition ) site web.11(https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=pseudomonas-aeruginosa )

site web.12 (https://www.doctissimo.fr/sante/mycoses/principales-mycoses/candida-albicans-definition-symptome-traitement )

site web.13 (https://www.biomerieux-industry.com/fr/node/756