**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE MEDEA**

**FACULTE DES SCIENCES**



# Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

**Spécialité :** Chimie pharmaceutique

**Par :**

HADJADJ KARIMA
ALIATI IMANE

**Thème :**

## Evaluation de quelques propriétés chimiques et biologiques des extraits d'une plante médicinale.

Déposé le : 14/07/2021, aux jurys composé de :

| | | | |
|---|---|---|---|
| GASMI Sara Nawel | MCB | Université de Médéa | Présidente |
| EULDJI Amel | MAA | Université de Médéa | Examinatrice |
| FARCH Sabrina | MCB | Université de Médéa | Examinatrice |
| KIRDI Rachida | MCB | Université de Médéa | Encadreur |

Année universitaire : 2020/2021

# *Remerciement*

*Au terme de notre travail, nous tenons à adresser nos remerciements les plus vifs et notre profonde gratitude :*

*A* **DIEU,** *tout puissant pour ce qu'il nous donne comme volonté , santé et surtout patience durant nos années d'étude et pendant la réalisation de ce travail .*

*A notre promotrice* **Mme Kirdi. Rachida** *qui a accepté de nous encadre, nous a suivis et guidé tout au long de ce travail et pour sa confiance et ses encouragements.*

*Nous remercions* **Mme Gasmi Sara Nawel, Mme Euldji Amel** *et* **Mme Farch sabrina** *d'avoir accepté de faire part du jury de notre travail.*

*Nous tenons à remercier très chaleureusement* **Mr LADJ Karim** *pour ses conseils, son aide et son soutien.*

*Au directeur du laboratoire du groupe* **Saidal** *à Médéa et L'institut* **Pasteur** *Dely Brahim d'Algér sans oublier toutes l'équipe du laboratoire,*

*Ainsi que tout l'équipe du laboratoire de la science à l'université* **Yahia Fares - Medea** *pour leurs grandes contributions pour bien accomplir ce travail.*

*A nos chères* **familles** *pour leur soutien moral et matériel le long de notre cursus.*

*A toutes les personnes qui ont participé de prés ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

# *Dédicace*

*C'est avec toute l'ardeur de mes sentiments que je dédie ce modeste travail à : à mes très chers* **Parents**

*Ma gratitude et ma vive reconnaissance que dieu protège, pour leurs présences et leur patience, et leurs soutiens et encouragements durant toutes les longues années d'étude. Merci d'être toujours à mes cotés par leur amour, que Dieu leur procure bonne santé et longue vie et les accueille dans son vaste paradis.*

*à mes frères* **Abd alwaha, Cherif, Mohamed** *et leurs femmes.*

*à mes cher sœurs* **Amale** *,* **Hanane**, **Meriem**, *&, ma petite sœur* **Hadjer**

*sans oublier ma cher* **Ahlem**, *Aux petits enfants :* **wissal, zakaria, sarah et lokmane**

*et toute ma famille qui m'ont toujours encouragé et m'ont tendu la main dans les moments difficile pour leur aide et soutien durant tout mon cursus je vous lui souhaite que du bonheur et de prospérité .*

*à toutes mes chères amies pour leurs soutiens, encouragements et amours, sans oublier mes collègues.*

*A mon très cher binôme* **Imane**

*A toutes les personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire de prés ou de loin tout au long de cette période*

KARIMA

# *Dédicace*

*Mes remerciements vont tout d'abord au bon* **DIEU** *pour la volonté et la patience qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade.*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À ma chère mère* **Yamina**

*À mon cher père* **Mouhamed**

*Dont le mérite, les sacrifies et les qualités humaines*

*m'ont permis de vivre ce joure*

*À mes chers soeurs:* **Hanane et Soumia**

*À Mes chers fréres:* **Samir, Yassine, Hamza**

*Aux petits enfants :* **Maram, Alaa, Doaa et Wafaa**

*À Mon binôme* **Karima**

*J'ai partagé avec elle les joies et les difficultés au suivi de notre travail.*

*À tous les gents m aiment:*

**Zola, Youssra, Abir, zineb**

*À toutes mes familles et mes amies qui m'ont toujours encouragé, et à qui toujours souhaite plus de succès.*

**Imane**

**الملخص:**

الهيليون البري هو نوع من النباتات الصالحة للأكل ،في اطار تعزيز هذا النبات تم اختبار اربعة مستخلصات ( ميثانولية ومائية) لانشطتهما البيولوجية واحتوائها على البوليفينول والفلافونويد .

اظهر التقدير الكمي لهذا النبات ان المستخلصات تمثل مصدر مثالي للجزيئات النشطة بيولوجيا مثل البوليفنول ، الالكالويد ، التانين، الفلافونويد، الصابونين، البروتيين، الستيرويد، التربنويد.

تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الانتشار في وسط جيلوزي على تسعة سلالات تم اختيارها (المكورات العنقودية البشروية، ميكروكوكس فلافيس، المكورات الذهبية العنقودية، العصوية الرقيقة، البكتيريا القولونية، خميرة الخباز، بسيودوموناس ايروجينوس، الرشاشيات البرازيلية، مبيضة بيضاء).

اظهر مستخلص الماء نشاطا مضادا لسلالات مختلفة.

تؤكد هده الدراسة ان الاستعمال التقليدي لهذا النبات ويبرز مدى اهميتها في اطار استعمالها في الصناعة الصيدلانية.

كلمات مفتاح: الهيليون البري، الانشطة المضادة للبكتيريا، كيمياء العقاقير.

**Résumé**

*Asparagus Acutifolius L,* est une espéce végétale comestible, largement répondue dans toute méditerranée. Dans le cadre de la valorisation de cette plante, quatre extraits (méthanolique et aqueux) ont été testés pour leurs activités biologique et leurs teneurs en polyphénol et flavonoïde.

Les résultats phytochimiques montrent que les extaits constituent une source privilégiée de molécules biologiquement actives telles que les polyphénols, les alcaloïdes,les tanins, les flavonoïdes, les saponines, les protéiens, les stéroïdes, les terpenoïdes.

L'activité antimicrobienne à été diterminée selon les méthodes de diffusion en millieu gélosé sur 9 souches testées (*Staphylococcus épidermique, Microccocus flavus, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Eacherichia coli, Sacharomyces cerevisiae, Pseudomonas aeruginosa, Aspergillus brasiliensis, Condida albicans).*

L'extrait d'eau a présente une activité antimicrobienne aux défférents souche étudiée.

Cette étude confirme, l'usage traditionnel de cette plante et révèle son intérêt dans le cadre d'une exploitation industrielle pharmaceutique.

**Mots clés :** *Asparagus Acutifolius L,* Activité antibactérienne, phytochimiques

**Abstract**

*Asparagus Acutifolius L,* is edibel plant species that is widely distributed throughout the Mediterranean. As part of the valuation of this plant, four extracts (methanolic and aqueux) were tested for their biological activity and their content of polyphenol and flavonoids.

The phyto-chemical results show that the extracts constitute a preferredsource of biologically active molecules such as the polyphenols, the alcaloids, the tanins, the flavonoids, the saponins, the protéins, the steroids, the terpenoids.

Antimicrobial activity was determined according to the method of diffusion in agar medium on 9 strains tested (*epidermical Staphylococcus, Micrococus flavus, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Eacherichia coli, Sacharomyces cerevisiae, Pseudomonas aeruginosa, Aspergillus brasiliensis, Condida albicans)*.

The water extract showed antimicrobial activity to the different various strains studied.

This confirm the traditional use of this plant and chow its interest as part of the pharmaceutical industrial exploitation.

**Keys words :** *Asparagus Acutifolius L,* Antimicrobial activity, phyto-chemical.

# *Sommaire*

# SOMMAIRE

**Remerciement**

**Dédicace**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

**Introduction générale**..... 01

**Etude bibliographique**

**I.Présentation de la plante étudiée asperge : Asparagus Acutifolius L**

I.1. Asparagaceae……..... 02

I.1.1 Famille des Asparagaceae .....……..... 02

I.1.2. Le genre *Asparagus*..... 04

I.1.3.Taxonomie et systématique..... 04

I.1.4.Caractères botaniques du genre *Asparagus*..... 07

I.2.Les plantes en Médecine..... 08

I.2.1 Définition d'une plante médicinale ..... 08

I.2.2. Intérêt de l'étude des plantes médicinales..... 08

I.2.3. La phytothérapie ..... 09

I.3. Métabolites des plantes ..... 10

I.3.1. Les métabolites primaires..... 10

I.3.2. Les métabolites secondaires ..... 10

I.4. Propriétés médicinales de l'asperge..... 13

I.5. Données biochimiques et intérêts médicimaux ……..... 13

**II. Généralités sur les composés phénoliques**

II.1.Définition..... 15

II.2. Structure et catégories des composés phénoliques..... 15

II.2.1. Acides phénols ..... 16

II.2.2. Flavonoïdes..... 18

II.2.3.Tanins..... 20

II.3. Biosynthèse des composés phénoliques..... 22

II.3.1. Biosynthèse des acides phénols..... 22

II.3.2. Biosynthèse des flavonoïdes..... 23

II.4.Polyphénols dans les plantes : Localisation et intérêt..... 25

II.5.Polyphénols et activités biologiques..... 25

II.5.1.Activite antioxydante..... 25

II.6.Méthodes d'analyse des composés phénoliques..... 26

II.7. Méthodes d'évaluation du pouvoir antiradicalaire et antioxydante..... 28

II.8. plantes et activité antimicrobienne..... 31

II.8.1.Les infections microbiennes..... 31

II.8.2.Les agents antimicrobiennes..... 32

II.8.3.Mécanismes d'action..... 32

II.8.4. Les composés chimiques des plantes dotés d'une activité antimicrobienne..... 33

II.9. Classe des composés phénoliques ..... 34

II.9.1. Classe des terpènoïdes..... 34

II.9.2. Classe des alcaloïdes ..... 34

II.9.3. Classe des lectines et des polypeptides..... 35

## III.Matériels et Méthodes

III.1.Introduction..... 36

III.2. Méthode d'extraction..... 38

III.3.Screening et réactions chimiques..... 40

III.4. Dosage spectroscopique ..... 44

III.4.1 Dosage des phénols totaux..... 44

III .4.2. Estimation quantitative des flavonoïdes..... 45

III.4.3. Dosage des tannins condensés (proanthocyanidins) ..... 45

III.4.4. Dosage des tannins hydrolysable..... 46

III. 5. Activités biologiques..... 47

III. 5.1. Activités antioxydantes..... 47

III.5.2. Etude microbiologique..... 47

## IV.Résultats et discussion

IV.1. Screening phytochimique..... 49

IV.2. Dosage spectrophotométrique ..... 49

IV.3. Activité antioxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)..... 51

IV.4. Activité antimicrobienne ..... 53

# *Sommaire*

**Conclusion**…….. 54

**Références bibliographiques**…… 55

# Liste des Figures

## Etude Bibliographique

**FigI.1***: Répartition de la famille des Asparagaceae dans le monde.* ..... 03

**Fig I.2** *: Relations entre Asparagus européens et africains en fonction de la taille des génomes. D'après Stajner et al. (2002).* ..... 04

**FigI. 3:***Asparagus acutifolius L. échantillon de Bouchaoui* ..... 08

**Fig II.4***: Structure d'acides hydroxybenzoïques communs* ..... 17

**Fig II.5***: Structure d'acides hydroxycinnamiques communs* ***(Chanforan.,2010)*** ..... 18

**FigII. 6***: Structure générale des flavonoïdes* ..... 19

**FigII.7***: Exemple tannins hydrolysables* ..... 21

**Fig II.8***: Exemple tannins condensés* ..... 22

**Fig II.9***: Biosynthèse des flavonoïdes* ..... 24

## Matériel et méthodes

**FigIII. 10 :***Les Méthodes dextraction* ..... 39

**FigIII.11** *:Les quatre extraits de la plante Asparagus Acutifolius L* ..... 40

**FigIII.12** *:Test des alcaloïdes* ..... 41

**FigIII.13** *:Test des flavonïdes* ..... 41

**FigIII.14** *:Test des tanins* ..... 42

**FigIII.15** *:Test des saponines* ..... 42

**FigIII.16** *:Test des terpeniodes* ..... 43

**FigIII. 17** *:Test des stéroides* ..... 43

**FigIII.18** *:Test des protéines* ..... 44

**FigIII.19 :***Dosage des phénols totaux* ..... 45

**FigIII.20 :***Dosage des flavonïdes* ..... 45

**FigIII.21 :**Dosage des tanins condensés ..... 46

**FigIII.22 :***Dosage des tanins hydrolysables* ..... 47

## Résultats et discussion

**FigIV.23***: Courbe d'étalonnage des acides phénols totaux* ..... 50

**Fig IV.24***: Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes* ..... 50

**FigIV.25** *: Pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux de Asparagus AcutifoliusL* ..... 52

# Liste des tableaux

## Synthèse bibliographique

***TabII.1:*** *Les principales classes des composés phénoliques*..... 16

***TabII.2:****Structures des différentes classes de flavonoïdes*..... 20

***TabII.3:*** *Méthodes d'analyse, avantages et inconvénients*..... 27

***TabII. 4:*** *Tests antioxydants in vitro*..... 30

## Matériels et Méthodes

***TabIII .5 :*** *Les produits utilisés*..... 36

## Résultats et discussions

***TabIV.6 :****Profil phytochimiques des différents extraits Asparagus AcutifoliusL*..... 49

***TabIV.7****: Quantification des phénols totaux, flavonoïdes, et proanthocyanidine*..... 51

***TabIV.8:*** *Les résultats des tests antimicrobiens*..... 53

# *Introduction Générale*

# Introduction générale

Les plantes ont toujours fait partie de l'environnement de l'homme, les fruits, les plantes et les autres substances naturelles ont d'abord été connus pour leurs propriétés nutritives puis ensuite pour leurs vertus curatives. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité. Bien qu'une grande partie du XXème siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles aconduit à la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un role majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines **(Gurib-fakim et al., 2006)** .

Ainsi, malgré le développement du médicament de synthèse, le médicament végétal sous ses différentes formes continue à occuper une place de choix entre 20.000 et 25.000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine.75% des médicaments ont une origine végetale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale (**Adossides., 2003).**

En Algérie il en existe 3000 éspèces appartenant à différentes familles botaniques dont la famille des astéracées (composées) constitue l'une des plus grandes familles récement étudiées. Ainsi, le genre centaurea a fait l'objet de nombreuses recherches phytochimique et pharmacologique durant plusieurs années**.**

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude ayant comme objectif l'investigation phytochimique et biologique de l'extrait méthanolique et aqueux de l'esèce *Asparagus Acutifolius L.*

Ce travail est axé sur quatre chapitres essentiels : le premier chapitre, consacré à l'étude bibiographique la présentation botanique de la famille Asparagaceae et l'espèce de Asparagus Acutifolius, ainsi que quelques intéretes thérapeutiques de ces métabolites .Dans le deuxième chapitre, généralités sur les composés phénoliques, les principaux metabolites du gerne Asparagus Acutifolius et les composés phénolique : flavonoides, tanine….troisième chapitre, est étudiée les methodes d'extraction d'un plante médicinale Asparagus Acutifolius et quelque propriétés de la plante, quatrième chapitre est consacré pour résultat et discusion des test physicochimies et biologiques.

# *Chapitre I : Présentation de la plante étudiée Asperge : Asparagus Acutifolius L*

Les espèces du genre *Asparagus L* , sont parmi les plus représentatives de la strate lianescente des forets méditerranéennes. Ce genre très diversifié, comprend plus de 300 éspèces herbacées, arbustes et plantes grimpantes, réparties dans le monde et adaptées à des environnements très contrastés **(Norup et al.,2015)**.

Du point de vue écologique, avec les autres lianes comme *Tamus Communis*, *Clematis* spp., *Smilax aspera*, *Jasminum Fruticans* et autres *Ruscus* spp., les espéces *d'Asparagus* jouent un role essentiel dans la production de litière et par conséquent, dant les apports en éléments minéraux et la productivité primaire **(Schnitzler et Arnold.,2010)**. Certaines d'entre elles, telles que A. *horridus* et A. *albus*, forment de grands buissons épineux, véritables abris pour la remonté biologique en milieu ouvert notamment steppique, mais aussi dans la protection des jeunes plantes d'arbres en milieuforestier. Toutes ces lianes représentent donc des indicateurs clés dans le suivi de la gestion des écosystèmes forestiers **(Naidu et al., 2014).**

Cependant, les efforts alloués à la gestion des écosystèmes forestiers et aux aires protégèes sont souvent limités par un manque de données sur les unités taxonomiques et leurs caractéristiques cytogénétiques qui sont essentielles pour appréhender leur diversité génétique.Le genre *Asparagus* est en fait peu étudié en Algérie. Selon les anciennes flores de l'Algérie **(Munby.,1855 ; Maire., 1958 ; Quézel et Santa., 1962),** il comprend cinque espéces pricipales : *A. acutifolius L., A.ablus L., A.officinalis L.*, et une endémique *A.altissimus Munby.*

## I.1. Asparagaceae

### I.1.1 Famille des Asparagaceae .

Les Asparagaceae représentent la famille type de l'ordre. **APG (2013),** y ont inclus d'autre petites familles comme les Agavaceae, Aphyllanthaceae, Hyacinthaceae, Laxmanniaceae, Ruscaceae, Themidaceae et Hesperocallidaceae.

Au sens strit, la famille des Asparagaceae renforme 370 espéces largement répandues dans les régions tempérées chaudes et subtropicales (Figure1).

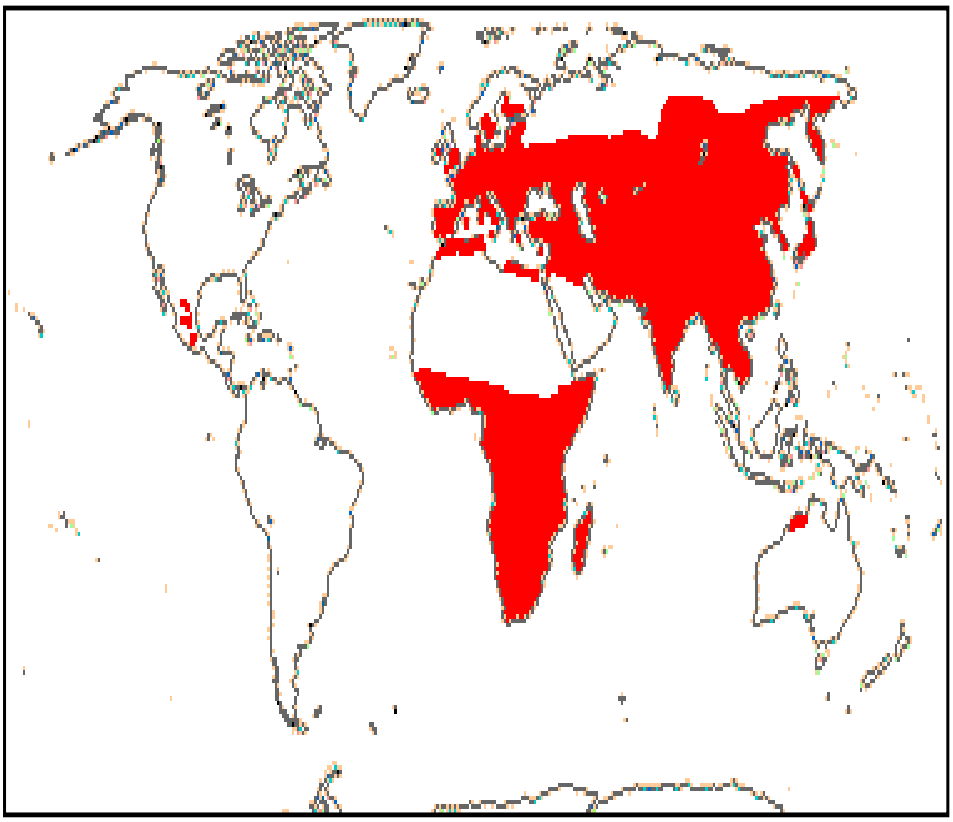


***Fig1:*** *Répartition de la famille des Asparagaceae dans le monde.*

Habituellement, on ne reconnait qu'un seul genre; A*paragus* avec ou sans subdivisions infra-génériques (sous-genres).

**Clifford et Conran (1987),** avaient définis trois genres à partir d'une étude reposant sur des espéces australiennes seulement : *Asparagus*, *Myrsiphyllum* et *protasparagus.*

**Malcomber et Demissew (1993)**, ont montré que les caractères utilisés par ces auteurs pour séparer *Asparagus* et *protasparagus* étaient insuffisants.Et ils ont confirmé la monophylie dans cette famille avec la présence de 3 sous-genres : *Asparagus*, *Protasparagus*, *Myrsiphyllum.*

Des analyses récentes, moléculaires, embryologiques et cytologiques, ont permis toute fois de mettre en évidence un nouveau genre, *Hemiphylacus*, qui peut étre rattaché à la famille des Asparagaceae **(Rudall et al., 1998)**. C'est en fait un petit genre d'origine mexicaine de cinq espèces qui est étroitement lié au genre *Asparagus* **(kramer et al.,2008).**

### I.1.2. Le genre *Asparagus*

Le genre contient prés de 300 espèces originaires du bassin méditerranéen. La plupart de ces plantes sont dioiques **(Lee et al., 1997).**

Les études phylogénétiques basées sur le polymorphisme des RFLP de l'ADN chloroplastique confirment certaines classifications et indiquent que la dioecie et la polyploidie dans le genre *Asparagus* est d'origine monophylétique **(Lee et al., 1997).**

D'autres études ont montré que les espèces européennes portent le meme nombre chromosomique, avec une taille du génome nucléaire deux fois plus grande que celles des espèces de l'Afrique du sude **(Stajner et al., 2002)** (Figure2). D'après **Deepak (1998)**. La taille du génome est importante et elle est utilisée comme marqueur taxonomique.

Les espèces eurasiennes forment un groupe monophylétique tandis que les espèces de l'Afrique du sud sont para phylétiques comprenant plus de deux groupes *Protasparagus* et *Myrsiphyllum* qui font actuellement le consensus **(Fukuda et al., 2005).**

A. asparagoides est la seule espèce différente sur le plan morphologique par rapport aux autres espèces du genre Asparagus **(Morin et al., 2006).**

Le genre Asparagus se compose essentiellement d'arbustes xéromorphiques mais aussi d'herbes. Les espèces xérophytiques communes dans la zone méditerranéenne sont : A. stipularis, A. aphyllus et A. thunbergiannus.

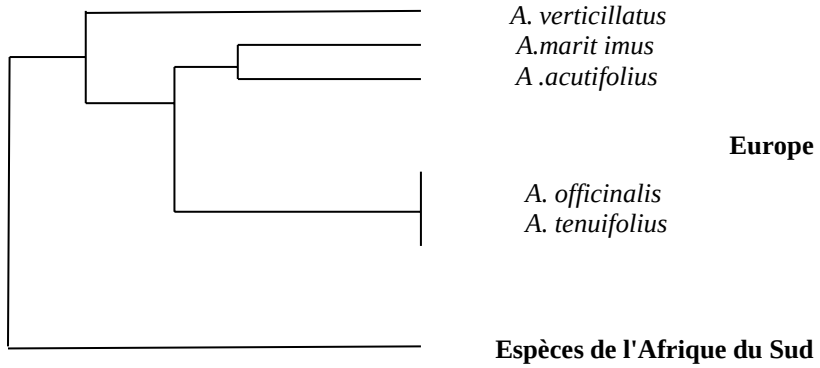



***Fig 2**. Relations entre Asparagus européens et africains en fonction de la tailledes génomes. D'après **Stajner et al. (2002).***

### I.1.3.Taxonomie et systématique

Selon les flores de l'Afrique du Nord et de l'Algérie, le genre *Asparagus* est placé dans la famille des Liliaceae. **Maire (1958)** a reconnu 12 espèces dont 5 sont retrouvées en

Algérie et confirmées par **Quezel et Santa (1962).** Ces flores partagent 4 espèces avec **Flora europea (1981),** seule *A. altissimus* est endémique à l'Afrique du Nord.

- *La Flore d'Afrique du Nord* **(Maire, 1958)**

Maire a reconnu dans sa *Flore de l'Afrique du Nord* 12 espèces dans le genre *Asapragus* qu'il a subdivisé en 3 sections:

- Section *EUASPARAGUS* **Baker (1875)**
- Section *ASPARAGOPSIS* (Kunyh**) Baker (1875)**
- Section *MYRSIPHYLLUM* (Willd) **Baker (1875).**

**a- Section *EUASPARAGUS* Baker (1875)**

*A. officinalis* L. (var. *altilis* L.) **(1753)**

var. *compestris* G**. (1856).**

- *A. maritimus* Mill.
- *A. stipularis* Forsk = *A. horridus*
- *A. aphyllus* L.
- *A. acutifolius* L

**b- Section *ASPARAGOPSIS* (Kunth) Baker (1875)**

**= *ASPARAGOPSIS* (Kunth) (1844).**

*a. A. altissimus* **Munby**

var. *typicus* **Maire (1931)**

var. f*oeniculaceus* (Lowe) **Maire (1931)**

var. *asperulus* **Maire (1938).**

*b. A.* a*lbus* L.

*c. A. pastorianus* Webb.,

*d. A.plumosus* **Baker (var. *nanus* Hort.).**

*e. A. sprengeri* Regel.

*f. A. asparagoides* (L.)

**c- Section *Myrsiphyllum* (Willd.) Baker (1875)**

**= *Myrsiphyllum* Willd. (1808).**

➢ *Nouvelle Flore d'Algérie, des régions désertiques et méridionales* **(Quezel et Santa., 1962)**

Quezel et Santa ne décrivent que 5 espèces:

- *A. stipularis* Forsk. = *A. horridus*
- *A. officinalis* L.
  var. *compestris*
- *A. albus* L.
- *A.altissimus*Munby
- *A. acutifolius* L.

➢ *Flore des régions arides du Maroc occidentales* **(Nègre., 1961)**

Dans cette flore on remarque que *A. pastorianus* est endémique du Maroc.

- *A. stipularis* Forsk= *A. horridus* L.
- *A. albus* L.
- *A. altissimus* Munby.
- *A. acutifolius*.L.
- *A .pastorianus* Webb et Berth

➢ *Flora Europea* **(Mc Neill., 1981).**

Dans Folra Europea, Mc Neill distingue quinze espèces en Europe

- *A. asparagoides* (L.), (=*A. medeoloides* (L.) Thumb).,
- *A. albus* L.
- *A. acutifolius* L.var .*gracilis* Baker.,
- *A. aphyllus* L.,
- *A. stipularis* Forsk.,
- *A. verticillatus* L.,
- *A. bresleranus* Shultes.,
- *A. persicus* Baker.,
- *A. brachyphyllus* Turcz.,

- *A. kasakstanicus* Iljin.,
- *A. maritimus* (L.) Miller.,
- *A. littoralis* Steven.,
- *A. officinalis* L.,

  ssp. *officinalis* ( =*A. polyphyllus* Steven; =*A. caspicus* Hohen.)

  ssp. *prostratus* (Dumort.)
- *A. pseudoscaber* Grec.
- *A. tenuifolius* Lam.

➢ *Flore du sahara* **(Ozenda., 1977)**

Ozenda a reconnu deux espèces endémiques du Sahara occidentale:

- *A. altissimus* Munby
- *A. pastorianus* Webb et Berth.

**I.1.4.Caractères botaniques du genre *Asparagus***

La plante adulte comprend:

- Une partie sous-terraine appelée "griffe" constituée par un rhizome horizontal et des racines sous forme de cylindres charnus, servant d'organes de réserves.
- Une partie aérienne constituée par des tiges dressées partant du rhizome, Portant des cladodes en forme d'aiguilles, à l'état jeune ces tiges encore non ramifiées (turions) représentent la partie comestible.
- Les cladodes peuvent être circulaires plus ou moins filiformes, linéaires, lancéolés ou ovales.
- Les feuilles sont réduites à des écailles.
- Les fleurs sont petites, solitaires, unisexuées, polygames ou hermaphrodites disposées à la base des cladodes:
- Périanthes petits, libres ou légèrement soudés à la base.
- 6 étamines à filets filiformes.
- Ovaire avec un style portant trois stigmates.
- Baie globuleuse, rouge ou noire parfois d'abord verte.
- Graines solitaires ou peu nombreuses à tégument mince, embryon cylindrique **(Maire., 1958).**



***Fig 3 :*** *Asparagus acutifolius* L. *échantillon de Bouchaoui*

## I.2.Les plantes en Médecine

### I.2.1 Définition d'une plante médicinale

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française comme une « drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisée, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais **(Sofowora., 2010).**

L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments.

### I.2.2. Intérêt de l'étude des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus **(Iserin., 2001).**

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 **(Bruneton., 2009).**

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et

l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs **(Decaux., 2002).**

### I.2.3. La phytothérapie

La phytothérapie est l'utilisation des plantes (de l'ensemble des éléments de la plante) à des fins thérapeutiques. Ce terme vient du grec : « phytos » la plante et « therapiea » la thérapie.

Il s'agit d'une des sciences médicales les plus anciennes, elle est parfois connue aujourd'hui sous le nom de « remède de bonne femme », étymologiquement : Bona fama = grande renommée. Une citation de Galien dit :

« La meilleure médecine, c'est la nature car elle guérit les trois quart de toutes les maladies ».

Aujourd'hui, 60 % des spécialités médicamenteuses employées en médecine courante sont issues, directement ou par hémi-synthèse, du règne végétal **(Grosmond., 2001).**

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît.

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme **(Iserin., 2001).** L'exploitation des ressources naturelles, et notamment du monde végétal, est encore capitale à l'heure actuelle. Elle est réalisée par :

Etude chimiotaxonomique qui consiste à rechercher des catégories de molécules dans les plantes en fonction de leur appartenance botanique. Ainsi les Apocynaceae, les Rutaceae, les Rubiaceae renferment souvent des alcaloïdes et c'est parmi

- ces familles que l'on recherche d'abord les alcaloïdes.

● Etude ethnopharmacologique qui consiste à recueillir des renseignements sur l'utilisation des plantes auprès des populations vivant encore prés de la nature en Amérique du Sud, dans les îles du Pacifique, en Afrique ou dans le Sud- Est Asiatique.

● Etude pharmacologique qui est caractérisée par l'observation du comportement des plantes dans leur environnement naturel. Les interactions plantes-plantes (allèlopathie), plantes-microorganismes, plantes-insectes, plantes-animaux sont associées à des signaux chimiques **(Barnes et *al.*, 2007).**

**I.3. Métabolites des plantes**

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. Les métabolites sont les molécules issues du métabolisme des végétaux ou d'animaux.

On distingue deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires **(Hartmann., 2007).**

**I.3.1. Les métabolites primaires**

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme **(Diallo D., 2000).**

- Les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaire (cellulose).
- Les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.
- Les amino-acides représentent une source primaire de construction des protéines.

**I.3.2. Les métabolites secondaires**

Sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante.

Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique.

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils ont un intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique.

Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles ou des matières premières pour la hémisynthèse de composés actifs.

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs au XIXème siècle, a contribué à l'amélioration des connaissances des structures, ce qui a permit de passer progressivement d'une phytothérapie traditionnelle souvent empirique, acceptée parfois avec une certaine méfiance à une thérapie moderne, acceptée scientifiquement.

Au début du XXème siècle, des synthèses de composés analogues (métabolites secondaires) ont commencés à naître ; et afin d'augmenter leurs efficacités pharmacologiques, des études des structures et des activités biologiques issues des dérivés prénylés de ces métabolites ont été réalisés. La prénylation consistait à la fixation d'une chaine latérale (pentenyle, géranyle et farnésyle) sur une molécule acceptante.

Les métabolites secondaires constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydantes, anti microbiennes, anti-inflammatoires et anti carcinogènes ou mutagènes **(Epifano et *al., 2007).***

Ce sont des composés très hétérogènes tant par leur composition que par leur structure. Pendant longtemps, ces composés ont été considérés comme secondaires et métaboliquement inactifs, ils ne suscitaient donc que peu d'intérêt.

A l'heure actuelle, cette opinion a changé, du fait de nombreuses recherches qui ont largement montrées que ces composés ne sont pas inertes et contribuent efficacement dans la biosynthèse de divers métabolites de l'organisme.

Chez les végétaux, ils sont soumis à d'importantes variations quantitatives et qualitatives, ce qui témoigne d'une dynamique biochimique incontestable **(Brzozowska et *al.*, 1976).** Ils interviennent dans des processus vitaux les plus divers. D'où l'importance croissante des

études consacrés à ces composés. Leurs mode d'action et leurs signification physiologique ne sont pas encore suffisamment claires, d'où la place de plus en plus large qui revient aux études de ces composés et de leurs fonctions.

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue :

- Les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés, on citera les polyphénols, les lignines, les stilbènes, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes, les anthocyanes et les tannins.

- Les alcaloïdes, renferme un atome d'azote dans la structure. Parmi ces derniers, certains relèguent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abîmées. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On citera la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine.

- Les mucilages : Ces sont des polymères complexes de fructose, d'acide glucorinique et d'acide manuronnique. Les mucilages sont des mélanges colloïdaux qui gonflent avec l'eau (agar agar).

- Les gommes et les résines : Ces sont des substances produites par la plante à la suite d'une blessure.

- Les huiles essentielles : Ces sont des liquides concentrés et hydrophobes des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante, ces essences sont très volatiles et non miscibles à l'eau.

- Les latex : Ces sont des substances sécrétées ou fabriquées par des cellules laticifères (vraies ou anastomosées) et qui ont la particularité de se solidifier au contact de l'air.

Les principaux groupes de métabolites secondaires rencontrés dans les plantes et qui possèdent généralement une activité antimicrobienne sont : les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpénoïdes et stéroïdes.

**I.4. Propriétés médicinales de l'asperge**

L'utilisation de l'asperge a probablement commencée il y a 2000 ans dans les régions orientales de la méditerranée, à cette époque les romains donnaient les instructions pour sa culture et préféraient l'asperge cultivée à partir de graines **(Derek et al., 1998).**

Les formes domestiquées se sont propagées à partir de cultures et se sont naturalisées dans plusieurs régions. L'asperge est l'une des rares espèces cultivées qui possèdent des fleurs mâles et des fleurs femelles (dioïque).

Pour les grecques et les égyptiens l'*Asparagus officinalis* était recherché pour ces propriétés médicinales. Pour certains égyptologues, cette espèce aurait été cultivée dès l'époque des dynasties memphites **(Pitrat., 2003).**

**I.5. Données biochimiques et intérêts médicimaux**

Le genre *Asparagus* est considéré comme un genre possédant des espèces à grandes valeurs nutritive et médicinale. Plusieurs d'entre-elles sont cultivées dans le monde pour leurs intérêts alimentaires ou ornementaux comme *A. officinalis*, *A. falcatus*, *A. spreingeri*, *A. plumosus* **(Stajner *et al.*, 2002).**

D'autres encore sont réputées pour leurs propriétés médicinales et sont utilisées en pharmacopée traditionnelle **(Kumar *et al.*, 2015)** ; toutes représentent une source naturelle présentant plusieurs propriétés et activités biologiques antioxydantes. En effet, plus de 50 composés chimiques et organiques tels que les saponines stéroïdiens, glycosides, alcaloïdes, polysaccharides, mucilage, racémosol et autres isoflavones ont été identifiés **(Thomsen., 2002, Hayes *et al.*, 2008; Jaramillo-Carmona *et al.*, 2017).** *A. maritimus* et *A. racemosus* sont remarquables par leur teneur élevée en saponines stéroïdiens **(Hayes *et al.*, 2008 ; Jaramillo- Carmona *et al.*, 2017).**

Dans le Sahara Egyptien, *A. horridus* est d'usage médicinal par les nomades; les racines sont utilisées comme infusion pour enlever les calculs rénaux **(Serag *et al.*, 2011).** Les extraits d'*A. acutifolius*, renferment des flavonoïdes **(Lacaille-Dubois *et al.*, 2006)** et auraient des propriétés anti-inflammatoires, antioxydants et antifongiques. Une alimentation combinant *A. acutifolius* et d'autres légumes et fruits, améliorerait ces activités biologiques **(Kasture *et al.*, 2009).** *A. officinalis*, la plus cultivée sur le plan alimentaire, présente aussi des propriétés thérapeutiques et nutraceutiques **(Tandon *et al.*, 1990; Iqbal *et al.*, 2017).** Les saponines et

les fructanes qu'elle possède jouent un rôle central dans l'activité antitumorale ainsi que dans l'ostéoporose, l'obésité, cardiopathies, les rhumatismes et le diabète **(Sharma *et al*., 2000).**

# *Chapitre II :*

# *Généralités sur les composés phénoliques*

## II.1.Définition

Le règne végétal y compris les fruits et les légumes constituent une source importante de polyphénols. Ces derniers sont présents dans toutes les parties de la plante mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents organes et tissus.

Plus de 8000 molécules produites dans les plantes sont identifiées et qui constituent trois grandes classes : les composés phénoliques, les terpenoïdes, et les alcaloïdes **(Wink., 2003, Aharoni & Galili., 2011).**

Ces molécules sont pourvues de différents rôles dans la plante, notant les agressions climatiques ; stresse biotique (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Ils contribuent aussi à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) **(Visioli *et al*., 2000).**

Ils représentent une large gamme potentielle d'agents thérapeutiques, largement exploitée par l'homme dans différents domaines comme la santé et l'alimentation **(Croteau *et al*., 2000, Cragg & Newman., 2010, Ncube *et al*., 2012)**.

## II.2. Structure et catégories des composés phénoliques

Structuralement, les composés phénoliques comprennent un noyau aromatique, qui possède un ou plusieurs substituants hydroxylés. Ces derniers permettent aux composés phénoliques simples de se polymériser pour obtenir des phénols complexes ou polymérisés.

La plupart des composés phénoliques sont conjugués avec un mono ou poly saccharides, où associés à des esters et des méthyles esters en raison de leur réactivité et toxicité en vue de la plante elle-même. Ces composés peuvent être groupés dans plusieurs classes **(Nagendran., 2006)** ; comme le montre le tableau 1**(Nkhili., 2009).**

***Tab 1:*** *Les principales classes des composés phénoliques.*

| Squelette carboné | Classe | Exemple | Origine |
|---|---|---|---|
| $C_6$ | Phénols simples | Catéchol | Nombreuses espèces |
| $C_6$-$C_1$ | Acides hydroxybenzoïques | *p*-hydroxybenzoïque | Epices, fraise |
| $C_6$-$C_3$ | Acides hydroxycinnamiques, | Acide caféique, acide férulique | Pomme de terre, Pomme, citrus |
| | Phenylpropenes | Myristicin, eugénol | |
| | Coumarines | Scopolétine | |
| | Isocoumarines | Myristicine, eugénol | |
| | Chromones | Eugenine | |
| $C_6$-$C_4$ | Naphtoquinones polyphénols | Juglone, plumbagine | Noix |
| $C_6$-$C_1$-$C_6$ | Xanthones | Mangiferine | |
| $C_6$-$C_2$-$C_6$ | Stilbènes | Resvératrol | Vigne |
| | Anthraquinones | Anthraquinones | |
| $C_6$-$C_3$-$C_6$ | Flavonoïdes, isoflavonoïdes | Quercétine, cyanidine, daidzéine | Fruit, légumes, fleurs, soja, pois |
| $(C_6$-$C_3)_2$ | Lignanes | Pinorésinol | Pin |
| | Neolignanes | Eusiderine | |
| $(C_6$-$C_3$-$C_6)_2$ | Biflavonoides | Amentoflavone | |
| $(C_6$-$C_3)_n$ | Lignines | | Bois, fruits à noyaux, raisin, kaki |
| $(C_6$-$C_3$-$C_6)_n$ | Tanins condensés | | |

Les acides phénols, les flavonoïdes, et les tanins font l'objet d'une description plus détaillée.

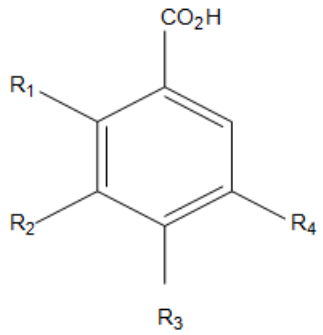
### II.2.1. Acides phénols

Ces molécules sont caractérisées par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside **(Bruneton., 1999).** Les acides phénols comprennent deux sous classes :

***A – Acide hydroxybenzoiques***

Cette classe se caractérise par un squelette de C6-C1 en commun. Ils sont particulièrement représentés chez les Gymnospermes et les Angiospermes d'où ils sont souvent libérés après hydrolyse alcaline ou enzymatique. Les acides hydroxybenzoïques existent fréquemment sous formes d'esters ou de glycosides **(Macheix., 2005).** Les principaux acides hydroxybenzoïques retrouvés dans les végétaux sont les acides phydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, gallique et salicylique **(Chanforan., 2010).**

La figure 4 illustre la structure de quelques exemples de ce groupe**.**



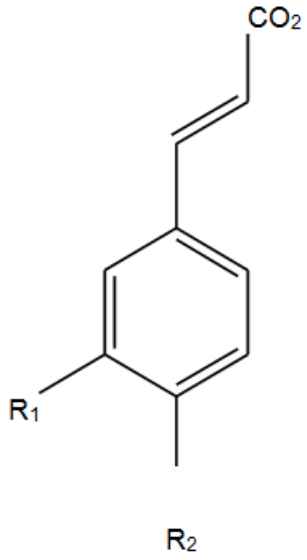

| | |
|---|---|
| $R_1$=$R_2$=$R_4$=H, $R_3$=OH | Acide *p*-hydroxybenzoïque |
| $R_1$=$R_4$=H, $R_2$=$R_3$=OH | Acide protocaatéchique |
| $R_1$=$R_4$=H, $R_2$=$OCH_3$, $R_3$=OH | Acide vanillique |
| $R_1$=H, $R_2$=$R_3$=$R_4$=OH | Acide gallique |
| R1=OH, $R_2$=$R_3$=$R_4$=H | Acide salicylique |

***Fig 4**: Structure d'acides hydroxybenzoïques communs.*

### *B- Acide hydroxycinnamiques*

Les acides hydroxycinnamiques représentent un groupe très important dont lastructure possède un cycle aromatique associé à trois carbones C6- C3 (Figure 5) ; par exemple : l'acide caféique, l'acide férulique, p-coumarique, et l'acide sinapique **(Nagendran., 2006).**

Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires sont un des éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules. De plus, l'existence d'une double liaison dans la chaîne latérale conduit à deux séries isomères (Z et E) dont les propriétés biologiques peuvent être différentes **(Macheix., 2005).**




| | |
|---|---|
| $R_1$=$R_2$=H | Acide cinnamique (non phénolique) |
| $R_1$=H, $R_2$=OH | Acide *p*-coumarique |
| $R_1$=$R_2$=OH | Acide caféique |
| $R_1$=$OCH_3$, $R_2$=OH | Acide férulique |

***Fig 5:*** *Structure d'acides hydroxycinnamiques communs* ***(Chanforan., 2010).***

### II.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont formés d'un squelette de 15 atomes de carbones C6-C3- C6. Correspondant à la structure des phénylbenzo-pyrones (phénylchromones) **(Santos-buelga & Scalbert., 2000).** Ces molécules comprennent deux noyaux aromatiques, A et B, liés par un hétérocycle oxygéné C (Figure 6) **(Heim *et al*., 2002).**

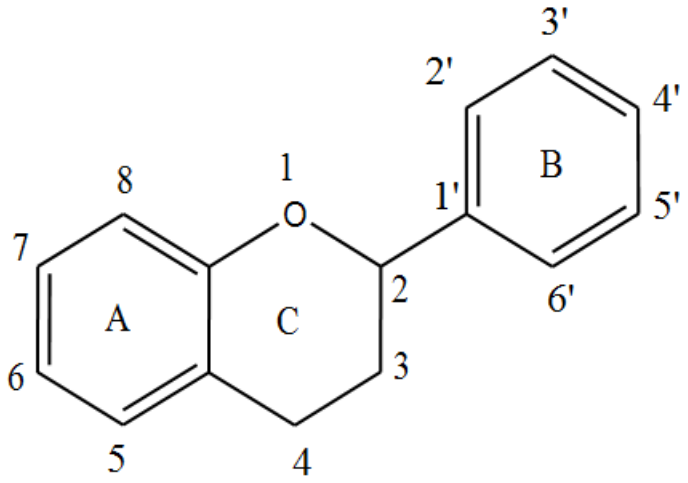



***Fig 6:*** *Structure générale des flavonoïdes.*

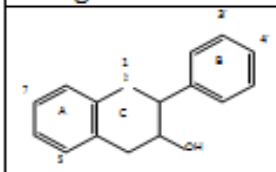
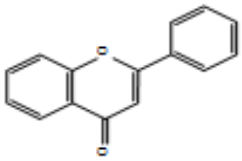
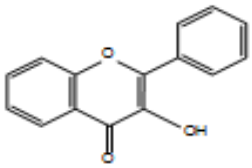
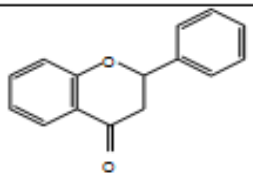
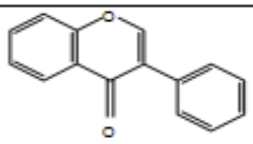
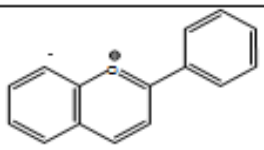
Leur cycle A est synthétisé par la condensation de 3 molécules du malonyl- coenzyme A, issue du métabolisme du glucose. Les cycles B et C ont comme précurseur immédiat l'acide cinnamique qui est formé par la voie de l'acide shikimique. Ce dernier, lui-même, dérivé du métabolisme du glucose **(Markham., 1982, Formica & Regelson., 1995).**

Plus de 6500 flavonoïdes ont été identifiés **(Harborne & Williams., 2000, Boumendjel *et al*., 2002).** Ils sont quasiment universels chez les plantes vasculaires, où ils jouent un rôle très important comme pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux **(Ghedira., 2005).**

Structurellement, les flavonoïdes se répartissent en quinze groupes, dont les plus importants sont illustrés dans le tableau 2 **(Heim *et al*., 2002)** ; les flavonols, les flavones, les flavanones, les flavannonols, les isoflavones, les isoflavannones, les chalcones et les anthocyanes **(Formica & Regelson., 1995, Bruneton., 2009).**

Dans la plupart des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosidique dans les vacuoles des fleurs, des feuilles, des tiges ou des racines. Les flavonoïdes aglycones polymethylés, sont plutôt présents sous forme de cires dans les feuilles, les écorces, et les bourgeons floraux **(Laouini., 2014).**

***Tab 2:*** *Structures des différentes classes de flavonoïdes :*

| Structure générale | Flavonoïde | Substitution | Sources alimentaires |
|---|---|---|---|
|  | (+)-catechin<br>(-)-epicatechin<br>Epigallocatechin gallate | 3,5,7,3',4'-OH<br>3,5,7,3',4'-OH<br>3,5,7,3',4',5'-OH,3-Gallate | Thé (camelliasinensis) |
|  | chrysin<br>apigenin<br>rutin<br>luteolin<br>luteolin glucosides | 5,7-OH<br>5,7,4'-OH<br>5,7,3',4'-OH, 3-rutinose<br>5,7,3',4'-OH<br>5,7,3'-OH, 4'-glucose<br>5,4'-OH, 7-glucose | Peau de fruitPersil, céleri<br>Vin rouge, sarrasin<br>Agrumes, peau de tomatePoivron rouge |
|  | Kaempferol<br>quercetin<br>myricetin<br>tamarixetin | 3,5,7,4'-OH<br>3,5,7,3',4'-OH<br>3,5,7,3',4',5'-OH<br>3,5,7,3'-OH,4'-OMe | Poireau, brocoli, endives<br>Pamplemousse, thé noir<br>Oignon, laiture, brocoli<br>Tomate, thé, vin rouge<br>Baies, huile d'olive, peau de pomme<br>Raisins de canneberge. |
|  | naringin<br>naringenin<br>taxifolin<br>eriodictyol<br>hesperidin | 5,4'-OH,7-rhamnoglucose5,7,4'-OH<br>3,5,7,3',4'-OH<br>5,7,3',4'-OH<br>3,5,3'-OH,4'-OMe,7 rutinose. | Agrumes, pamplemousseCitron, Orange |
|  | genistin<br>genistein<br>daidzin<br>daidzein | 5,4'-OH,7-glucose<br>5,7,4'-OH<br>4'–OH,7glucose<br>7,4'-OH | Soja |
|  | Apigenidin<br>cyanidin | 5,7,4'-OH<br>3,5,7,4'-OH,3,5-OMe | Fruits colorés<br>Cerise, framboise, fraise |

**II.2.3. Tanins :**

Les tanins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones **(Konig *et al*., 1994).** Ils ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités, ce qui leur procure la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de rendre imputrescible. **(Dangles *et al*., 1992 ; Hemingway& Karchesy., 2012 ).**

L'accumulation de ces molécules dans le végétal s'effectue essentiellement dans les vacuoles, les fruits et les tissus âgés ou d'origine pathologique.

Dans l'alimentation humaine, les sources les plus importantes de tanins sont le vin et le thé **(Pénicaud., 2009).** De même l'astringence est la qualité organoleptique qui indique la présence des tannins. Elle a un rôle important dans le choix desaliments (corrélation inverse entre les espèces végétales choisies et leur teneur en tanins) **(Horn *et al*., 2002, Del Bubba *et al*., 2009).**

Comme les autres types de polyphénols, les tanins sont aussi répandus pour leurs nombreuses activités thérapeutiques notamment ; anti-infectieuses **(Latte & Kolodziej., 2000, Leitao *et al*., 2005),** cardiovasculaires **(Yamanaka *et al*., 1996, Cheruvanky., 2004**), hormonodépendantes et anticancéreuses **(Notomo *et al*., 2004, Gosse *et al*., 2005).**

Selon la structure, on distingue : les tanins hydrolysables et les tanins condensés **(Roux & Catier., 2007).**

***A- Tanins hydrolysables***

Les tanins hydrolysables ou acides tanniques (Figure 7) sont des polymères de l'acide gallique ou de son produit de condensation ; l'acide ellagique. Ils ont un poids moléculaire plus faible et précipitent beaucoup moins les protéines que les tanins condensés. Ils peuvent diminuer la dégradation des parois dans le rumen et être hydrolysés dans l'intestin en libérant des produits toxiques pour le foie et le rein **(Jarrige & Ruckebusch., 1995**).

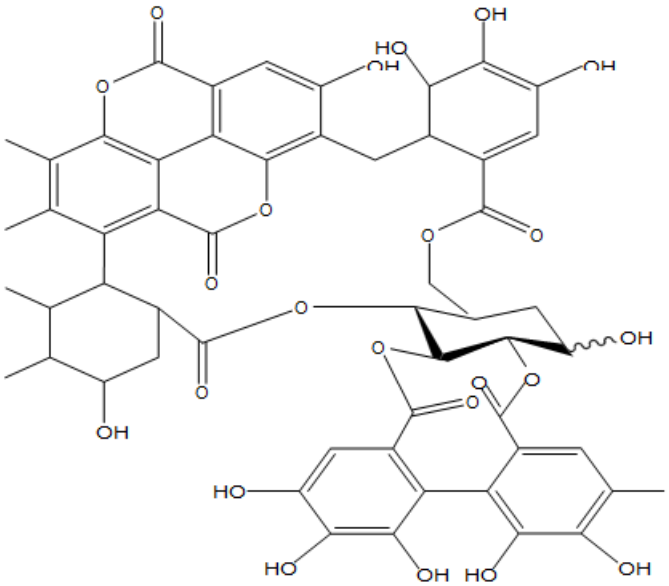



***Fig 7:*** *Exemple tannins hydrolysables.*

***B- Tanins condensés***

Les tanins condensés (proanthocyanidines ou procyanidines) sont des polyphénols de masse molaire élevée (Figure 8). Ils résultent de la polymérisation auto oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 ou C4-C6 des unités adjacentes, ou bien des liaisons C4-C8 avec une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7 **(Wollgast & Anklam., 2000, Dykes & Rooney., 2006).**

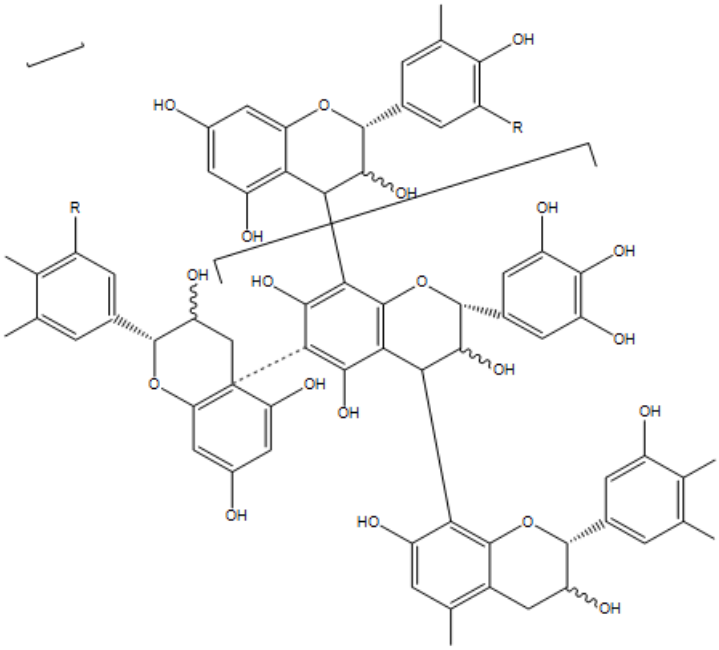



***Fig 8:*** *Exemple tannins condensés.*

## II.3. Biosynthèse des composés phénolique

### II.3.1. Biosynthèse des acides phénols

Les grandes lignes des voies de biosynthèse des principaux composés phénoliques sont maintenant bien connues. Les deux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) sont présents dans les protéines mais sont également à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux **(Sarmi & Cheymer., 2006).** Ces composés sont issus par deux grandes voies métaboliques **:**

- **voie de l'acide shikimique**

Elle conduit à la formation du précurseur immédiat des phénols par désamination de la phénylalanine.

La séquence biosynthétique qui suit, dénommée séquence des phénylpropanoides,

permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques.

Les formes actives de ces derniers avec le coenzyme A permettent d'accéder aux principales classes des composés phénoliques citant quelques transformations :

- Vers les acides de la série benzoique (acides gallique, protocatéchique…) par Béta-oxydation. L'acide gallique lui-même, par combinaison avec des sucres simples, conduit aux tannins hydrolysables (tannins galliques et ellagiques).
- Vers les estres de type chlorogénique par estérification avec un acide alcool (acide quinique, tartrique, shikimique…) **(Sarmi & Cheymer., 2006).**
- Vers les coumarines, par cyclisation interne des molécules suivie de modifications complémentaires (glycosilations, prénylations…).

Vers les lignines par réduction, formation des monolignols puis polymérisation oxydative initiée dans la paroi cellulaire par les peroxydases et éventuellement les laccases. **(Bruneton., 1999).**

- **Voie d'acétate malonate**

Elle conduit par condensations répétées à des systèmes aromatiques ex : les chromones, les isocoumarines, et les quinones. La pluralité structurale des composés phénoliques due à cette origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité très fréquente d'une participation simultanée du shikimate et de l'acétate à l'élaboration des composés mixtes comme les flavonoïdes, les stilbènes et les xanthones **(Bruneton., 1999).**

### II.3.2.Biosynthèse des flavonoïdes

La formation de ces molécules flavonoiques s'effectue par un intermédiaire connu : tétrahydroxychalcone à partir de la quelle se différencient plusieurs types des flavonoïdes **(Bruneton., 1999).**

Le squelette moléculaire de base a une double origine : 3 molécules d'acétyl CoA (CoA = coenzyme A) pour le cycle A qui dérive de la voie acétate malonate, une molécule de p-coumaryl pour le cycle B qui dérive de la voie shikimate et aussi pour l'hétérocycle C. C'est alors à partir de la chalcone ainsi formée par cette condensation chimique que vont être mis en place les flavonoïdes appartenant aux diverses classes, en particuliers des pigments comme les anthocyanes et les flavonols, ou encore certains monomères de type flavonols dont la

polymérisation conduira aux tannins condensés.

La biosynthèse des différents groupes de flavonoïdes (Figure 9) implique un ensemble complexe de réactions comprenant des hydroxylations, méthylations, oxydations, réductions, glycosilations… **(Sarmi & Cheymer., 2006).**

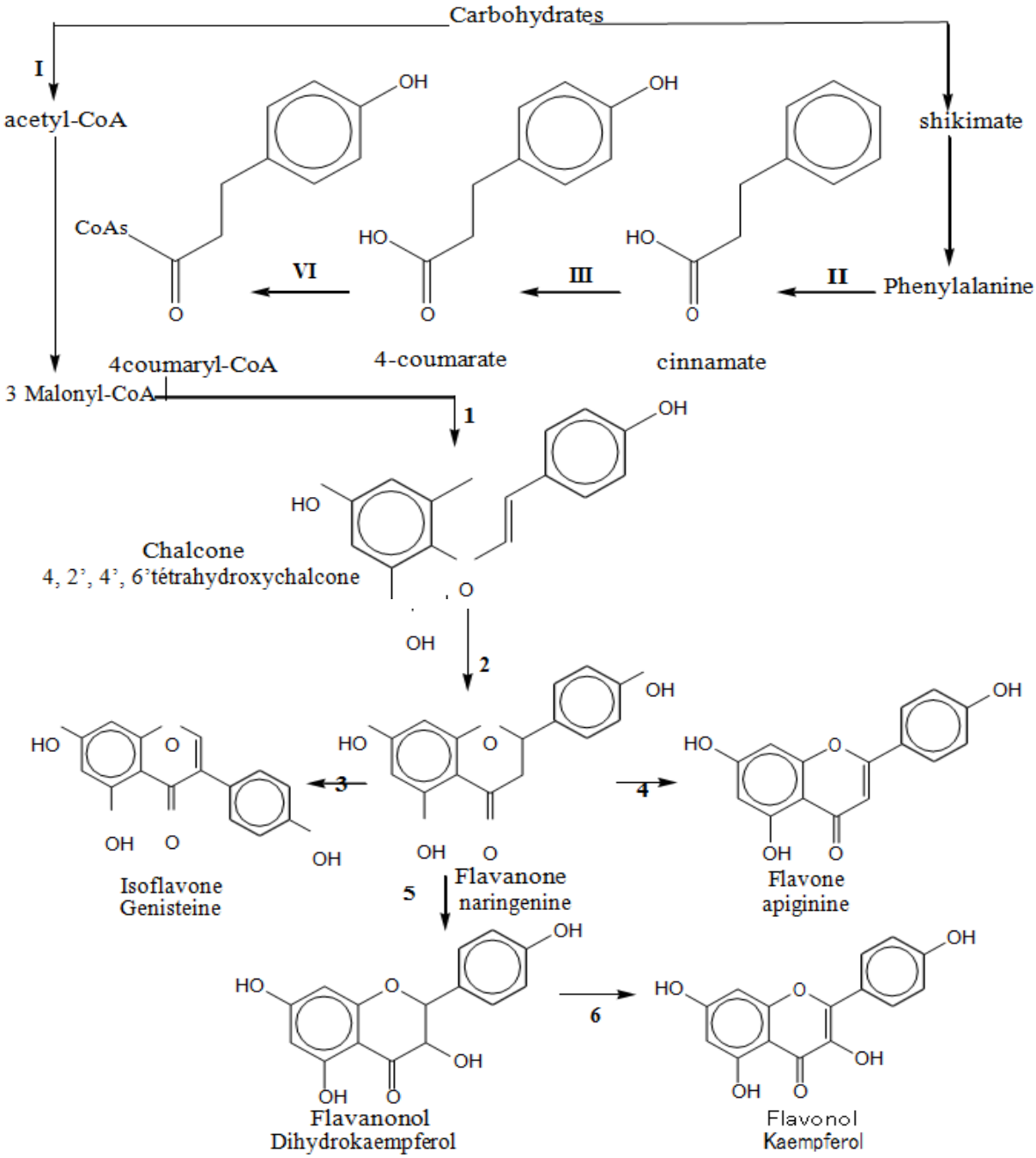



***Fig 9:*** *Biosynthèse des flavonoides.Les enzymes : I- Acetyl CoA carboxylase ; II- Phenylalanine ammoniac lyase ; III- Coumarate 4- hydroxylase ; IV- 4-coumarate CoA ligase ; 1- Chalcone synthase ; 2- Chalcone isomérase ;3- Hydroxy-2 isoflavone synthase ; 4- Flavone synthase ; 5- Flavanone-3 hydroxylase ; 6- Flavonol synthèse.*

**II.4.Polyphénols dans les plantes : Localisation et intérêt**

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule.

Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales. Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Une partie des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes est liée aux membranes du réticulum endoplasmique, où elles sont organisées en métabolons **(Bénard., 2009).**

Au niveau tissulaire, la localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et peut être très caractéristique. Au sein même des feuilles la répartition des composés est variable, par exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme.

Au niveau de la plante entière, il faut noter que certains composés ne sont accumulés que dans des organes bien définis. Chez la pomme par exemple, les composés phénoliques interviennent au niveau de la coloration de la peau via les anthocyanes, et dans la qualité organoleptique de la chair, notamment pour l'amertume ou l'astringence **(Bénard., 2009)**.

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans le métabolisme de la plante mais aussi peuvent réagir dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV). Toutes les catégories de composés phénoliques sont impliquées dans les mécanismes de résistance **(Dicko *et al.*, 2006).**

Ils assurent la communication entres cellules, entre végétaux, entre végétaux et animaux **(Robert & Catesson., 2000).**

**II.5.Polyphénols et activités biologiques**

**II.5.1.Activite antioxydante**

Par définition, les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (non appariés) sur leur couche externe. Ces radicaux jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire ; la phagocytose et la communication cellulaire **(Peynet *et al.*, 2005).**

Ces molécules (RL) se caractérisent par leur instabilité et leur réaction rapide avec d'autres composants, afin de capturer l'électron nécessaire pour acquérir leur stabilité. Une réaction en chaine débute lorsqu'un radial attaque la molécule stable la plus proche, en lui arrachant son électron et la molécule attaquée devient alors elle- même une molécule instable.

**Fosting (2004)** rapporte que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou un oxydant, cependant il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même que tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres.

Les radicaux libres ou bien les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont souvent produites dans l'organisme mais cette production est toujours contrôlée par les antioxydants afin de maintenir l'équilibre de la balance oxydative oxydant/antioxydant. Le stress oxydatif survient lorsque cet équilibre est rompu en faveur des radicaux libres. Toutefois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer cette balance **(Christophe & Christophe., 2011, Papazian & Roch., 2008).**

**Poirier (2004),** et **Médart (2009)** rapportent que ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telle que :

- Les radiations ionisantes (exposition importante au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle),
- la pollution,
- le contact avec certains pesticides et solvants,
- la consommation de tabac et d'alcool,
- la consommation de certains médicaments,
- la pratique du sport intensif,

tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxication hépatique, notamment une perte de poids importante

### II.6.Méthodes d'analyse des composés phénoliques

La séparation, la détection, l'identification et la quantification des molécules s'effectuent par plusieurs méthodes analytiques et spécialement chromatographiques.

De nos jours, les méthodes chromatographiques couplées à divers détecteurs occupent la plus importante place dans le screening moléculaire car elles permettent de caractériser simultanément un éventail très large de molécules avec une meilleure spécificité et une plus grande sensibilité comparées aux méthodes anciennes.

Elles sont applicables à tous les milieux biologiques, quelle qu'en soit la nature, après une étape d'extraction rendue nécessaire du fait de la complexité de ces matrices.

Les propriétés physico-chimiques des analytes conditionnent la détection par chromatographie, ce qui explique qu'il n'y a aucune méthode chromatographique qui

permette la détection de toutes les substances et qu'une bonne stratégie impose la disposition de plusieurs méthodes colorimétriques, spectrophotométriques, et chromatographiques complémentaires.

Le tableau3 présente les différentes méthodes spectrométriques et chromatographiques, en mentionnant les avantages et les limites de chaque méthode **(Ben sakhria., 2016).**

***Tab 3:*** *Méthodes d'analyse, avantages et inconvénients*

| **Méthodes** | **Avantages** | **Inconvénients** |
|---|---|---|
| **Colorimétriques** | simple ; rapide ; disponible ; directe. | Manque de spécificité et e sensibilité ; subjectivité de l'interprétation ; nécessite un blanc et un positif à chaque test |
| **Spectro-photométrique** | Quantification et/ou identification spectrale simple et rapide de certains composés. | Manque de spécificité et de sensibilité ; séparation préalable nécessaire |
| **CCM** | Matériel simple, disponible, peu couteux ; méthode séparative robuste non destructive, permet l'identification de centaines de molécules et leurs métabolites ; facilite les tests spécifiques d'identification et permet la collection des fractions après séparation ; les nouvelles méthodes sont semi- quantitatives, automatisables et donnent une meilleure identification | Relativement longue à réaliser ; extraction préalable des analytes nécessaire ; manque de sensibilité et de résolution ;influence des conditions locales sur les résultats ; interprétation difficile et délicate en présence de beaucoup de métabolites. |

| | | |
|---|---|---|
| **LC-MS** | Identification et quantification rapide d'un très large nombre de composés même polaires et thermolabiles ; grande sensibilité et spécificité ; faible volume d'échantillon et plus simple | Coût élevé ; manque destandardisation des librairies de spectres demasse. |

La chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur UV à barrettes de diodes (HPLC-DAD) fut la première technique chromatographique en phase liquide à être utilisée pour un screening moléculaire large. Elle permet l'analyse simultanée d'un grand nombre de molécules dotées de propriétés physico-chimiques très variables, surtout en terme de polarité, de poids moléculaire et de stabilité thermiques. C'est une méthode de séparation robuste, facile d'emploi, avec des principes de séparation bien connus, et qui permet l'analyse d'un grand nombre de molécules avec une bonne sensibilité et sélectivité ajustable. Elle est additive et complémentaire à la CG/MS et avec un coût abordable **(Ben sakhria., 2016).**

Le couplage de l'HPLC/DAD avec la spectrométrie de masse donne plus de précision et de caractérisation au profile établis par l'HPLC seule.

La spectrométrie de masse repose sur deux éléments essentiels **(Alkhatib., 2010).**

- La possibilité, par différentes méthodes, de fragmenter une molécule en différents ions, positifs ou négatifs, de rapports *m/z* (masse/nombre de charges élémentaires) différents.
- La détection de ces fragments. Là encore, différentes techniques existent (déflection par champ magnétique, filtre de masse quadripolaire, trappe ionique, temps de vol) mais leur nature influe essentiellement sur la précision des résultats.

Chaque molécule peut être caractérisée par un profil de fragmentation pour une technique de fragmentation donnée. De plus, la formation d'un ion moléculaire (M+) ou pseudomoléculaire $[M+H]^+$, informe sur la masse de la molécule étudiée, ce qui permet son identification.

### II.7. Méthodes d'évaluation du pouvoir antiradicalaire et antioxydant

L'évaluation du pouvoir antioxydant et antiradicalaire peut se faire par de nombreuses méthodes *in vitro* et *in vivo*. Ces techniques sont différentes les unes des autres par les réactifs utilisés, les conditions d'application, leurs protocoles ainsi le mécanisme d'action par lequel l'extrait ou la molécule testée se manifeste dans le milieu.

Le tableau 4 présente les méthodes les plus utilisées, en particulier pour les tests *in vitro* chimiques, en mentionnant les mécanismes réactionnels, les avantages et inconvénients de chaque méthode.

Les techniques citées témoignent l'aptitude d'une molécule ou d'un extrait naturel à neutraliser les radicaux libres par transfert d'électron et/ou de proton issus de phénomènes d'oxydations **(Prior *et al.*, 2005).**

Les résultats des activités antioxydantes sont généralement exprimés en fonction d'une molécule de référence possédant de forte propriété antioxydante (trolox, quercetine, rutine...).

***Tab 4:*** *Tests antio dants in vitro*

| Tests | DPPH | ABTS ou TEAC | FRAP | ORAC |
|---|---|---|---|---|
| **Mécanismes réactionnels** | • transfert d'électron majoritaire | • transfert d'électron et de proton | • transfert d'électron | • transfert de proton |
| **Nature des molécules testées** | • hydrophiles et lipophiles | • hydrophile et lipophiles | • hydrophiles | • hydrophiles et lipophiles |
| **Expression des resultants** | • CI50 et/ou en mg ou µmol équivalent d'une molécule de référence | • CI50 et/ou en mg ou µmol équivalent d'une molécule de référence | • en mg ou µmol équivalent Fe2+ | • CI50 et/ou en mg ou µmol équivalent d'une molécule de référence |
| **Avantages** | • très facile à mettre en œuvre<br>• peu couteux | • très facile à mettre en œuvre<br>• cinétique de réaction très rapide<br>• peu couteux | • très facile à mettre en œuvre<br>• peu couteux | • facile à mettre en œuvre<br>• couteux (nécessité d'un fluorimètre)<br>• Utilisation d'un générateur de radicaux (ROO•) |
| **Inconvénients** | • encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires<br>• interférences possibles à 515 nm<br>• forte dépendance au pH et au solvant<br>• radical inexistent *in vivo* | • produits de dégradation antioxydants<br>• radical inexistant *in vivo* | • pH utilisé non physiologique<br>• interférences possibles à 595 nm<br>• interférences avec composés possédant E°< 0,77V | • mécanismes de génération des ROO• non physiologique<br>• interférences possibles des proteins |

**II.8. plantes et activité antimicrobienne**

Depuis toujours et jusqu'à maintenant, l'Homme utilisait les plantes trouvées dans la nature comme remèdes pour traiter et soigner certaines pathologies **(Sanago., 2006).** Selon l'Organisation Mondiale de la Santé **(OMS., 2004),** environ 65-80 % de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, à cause de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne surtout dans les pays sous-développés **(Ma et *al*., 1997).** L'OMS considère aussi que dans de nombreux pays peu développés, les plantes et leurs composants représentent la première source de remède **(Ali-Delille., 2010).**

**II.8.1.Les infections microbiennes**

Les bactéries aéroportées cultivables ou non, les champignons microscopiques saprophytes, leurs fragments (fragments cellulaires, flagelles et matériel génétique), leurs métabolites (COV (composé organique volatil), endotoxines, mycotoxines) et les virus, sont largement responsables d'une variété de maladies liées à leur présence dans l'environnement **(Hurst., 1997 ; Rylander., 1998).** Les germes qui ne sont pas intrinsèquement pathogènes provoquent des symptômes de processus inflammatoires, de stimulations des réponses immunitaires, de largages de substances toxiques ou d'allergènes **(Salthammer., 1999).** Les premières parties atteintes du corps sont les yeux, le nez et la gorge.

Les principaux types de maladies sont des irritations et des inflammations du système respiratoire (la bronchiolite), des maladies infectieuses (la légionellose) et virales et des allergies. Il existe quelques cas rares de cancers et d'immunosuppressions. Malgré que toutes les moisissures et leurs spores ne sont pas pathogènes, ils peuvent déclancher des maladies respiratoires de type allergique chez des personnes prédisposées et sensibles, ou déclancher et ou aggraver des crises chez les asthmatiques **(Gumowski et Grange., 1987).**

Les infections nosocomiales concernent toute affection à microorganisme (bactéries 90% et champignons) survenant chez un malade hospitalisé et sans rapport, à priori, avec l'affection qui a motivé son intervention. Elles sont soit liées à un soin (ou une intervention) ou simplement dues à l'environnement

hospitalier. Ces infections se présentent sous diverses formes: infections urinaires, respiratoires, digestives et post-opératoires. Elles peuvent aussi être dues à la contamination du matériel: cathéters et tubes trachéaux **(Borrel., 2000).**

Les microorganismes incriminés dans les infections microbiennes sont rarement des protozoaires, quelques fois des champignons (Aspergillus, Cryptococcus), des levures

(Candida) et parfois des virus (hépatites, herpès, grippe). On retrouve très souvent des bactéries ou leurs formes altérées, dont l'apparition est favorisée par l'usage des antibiotiques:

bactéries à Gram positif tel que *Staphylococcus, Enterococcus* et bactéries à Gram négatif comme les *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Proteus sp., Klebsiella sp*.,…), *Pseudomonadaceae* **(Haxhe et Zumofen., 1999).**

La capacité des microorganismes de créer une infection chez l'homme découle de plusieurs facteurs dont la nature du microbe et la réceptivité de l'hôte **(Haxhe et Zumofen., 1999).** La sensibilité des malades peut être due à certaines conditions comme l'âge et le poids, ainsi que le diabète ou la leucémie, la malnutrition, le stress et même le coma. Elle peut être aussi induite à des traitements à base d'immunodépresseurs, de stéroïdes ou de radiothérapie **(Borrel., 2000).** La nature mais aussi la taille des cellules sont déterminantes pour les risques encourus lors d'une contamination. En règle générale, plus la particule est petite plus le risque est grand car les petites particules, telles les bactéries et les virus qui pénètrent jusqu'aux bronchioles et alvéoles, ne sont pas expulsés facilement lors de l'expiration.

**II.8.2.Les agents antimicrobiennes**

Un agent antimicrobienne ou désinfectant est défini par son pouvoir de tuer des populations microbiennes. On attend d'un agent désinfectant généralement une action à large spectre et plus rarement une action ciblée sur un germe en particulier (désinfection sélective).

Pour une action bactéricide globale sur les bactéries on doit s'assurer de l'activité bactéricide de l'agent antimicrobienne aussi bien sur les espèces à Gram positif que négatif, sans exclure le groupe CNM (Corynebacterium, Nocardia, Mycobacterium). Ces trois groupes de bactéries se distinguent par la composition et la structure de leur paroi cellulaire dont dépend la perméabilité aux agents antimicrobiennes **(Pibiri., 2006).**

**II.8.3.Mécanismes d'action**

Les mécanismes d'action des produits antimicrobiennes autres que les antibiotiques restent encore généralement peu et mal connus. Les agents chimiques antimicrobiennes se classent en deux catégories selon leur effet. Le premier est létal, c'est à dire qu'il entraîne la mort de l'individu. On le nomme par le suffixe –CIDE : virucide, bactéricide, fongicide, insecticide.Le second correspond à une inhibition de croissance en présence du produit actif. On le nomme avec le suffixe –STATIQUE : bactériostatique, fongistatique.

Parmi les produits BIOCIDES, on distingue **i)** les composés chimiquement très réactifs qui se caractérisent par une action brutale, rapide et temporaire et souvent non spécifique. Exemples : les oxydants et l'eau oxygénée, les halogénés (chlore et iode) et l'oxyde d'éthylène, les acides et les bases fortes, les aldéhydes et les phénols. **ii)** les composés

chimiquement stables à actions plus spécifiques comme les ammoniums quaternaires, les dérivés phénoliques autres que le phénol, la chlorohexidine parmi d'autres.

Les inhibiteurs de croissance avec un effet BIOSTATIQUE comprennent essentiellement les métaux (mercuriels et dérivés du cuivre, du zinc, de l'argent,…) et les colorants.

Selon leur nature et la concentration utilisée, les antiseptiques et désinfectants ont une ou plusieurs cibles. Dans la majeure partie des cas, l'accès à la cible nécessite le franchissement de la paroi cellulaire qui est un obstacle à la fois chimique et physique.

M.R.J. Salton en 1968 a décrit cinq étapes dans l'action des agents antimicrobiennes **(Fleurette et Freney., 1995) :**

1.Adsorption sur la cellule suivie de la pénétration dans la paroi.

2.Réactions complexes avec la membrane cytoplasmique conduisant à sa désorganisation.

3.Echappement des composants de faible poids moléculaire du cytoplasme.

4.Dégradation des protéines et des acides nucléiques.

5.Lyse de la paroi causée par les enzymes autolytiques

### II.8.4. Les composés chimiques des plantes dotés d'une activité antimicrobienne

Les plantes synthétisent deux types de métabolites : primaires et secondaires; cette classification est par rapport à leurs participation directe ou indirecte aux processus vitaux de la cellule (processus indispensables au développement normal et à la reproduction de la cellule). Parmi les métabolites primaires nous pouvons citer le glucose obtenu par photosynthèse. Les métabolites secondaires quant à eux, ils sont généralement classés en trois groupes : les phénols tels que les tanins, lignine et les flavonoïdes ; les azotés tels que les glucosinolates, et enfin les alcaloïdes. Ces métabolites secondaires (tanins, terpénoïdes, alcaloïdes et flavonoïdes), servent de mécanismes de défense des plantes contre la prédation par des microorganismes, des insectes et des herbivores. Il a été démontré *in vitro* que ces composés sont dotés de propriétés antimicrobiennes très intéressantes qui font l'objet de plusieurs études. Ces phytochimiques antimicrobiennes actifs peuvent être divisés en plusieurs catégories **(Cowan., 1999).**

### II.9. Classe des composés phénoliques

Le terme polyhénols ou composés phénoliques a été introduit en 1980 **(Béta et *al.*, 2005),** ce sont de métabolites secondaires caractérisées par la présence d'au moins un noyau aromatique possédant un ou plusieurs groupes hydroxyles substitués **(Marouf et *al.*, 2007).** Plus de 8000 structures ont été identifiées **(Urquiage et Leighton., 2000),** allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymériséescomme les tanins **(Dai et Mumper., 2010).** On retrouve dans cette classe, les sous-classes suivantes **(Cowan., 1999).**

- Les phénols simples par exemple : Les pyrocatéchols dont le mécanisme d'action est la privation en certains substrats et les épicatéchines dont le mécanisme consisteen la destruction de la membrane cytoplasmique.
- Les acides phénoliques tels que l'acide cinnamique dont le mécanisme est inconnu.
- Les quinones telles que les hypericines dont le mécanisme est la formation de complexe irreversible avec les protéines de la paroi cellulaire et inactivation des adhésine et des enzymes ainsi la destruction de la cellule bactérienne.
- Les flavonoïdes (flavones) : le mécanisme est le même que les quinons mais ajoutéà cela, le fait qu'ils sont lipophiles leurs permettent de perturber la fluidité membranaire. Le mécanisme antiviral des flavones consiste en l'inhibition de la reverse transcriptase du VIH. Aussi, l'inhibition le virus respiratoire syncytial (RSV) et le virus de l'herpès simplex 1 (HSV-1).
- Les tanins dont les mécanismes sont diversifiés : liaison avec les protéines et les adhésines, privation en substrat, formation d'un complexe avec la paroi, destructionde la membrane cytoplasmique par inactivation les adhésines microbiennes, les enzymes, les protéines de transport d'enveloppes cellulaires, mais aussi chélatation des ions métaliques. Les tanines peuvent aussi inhiber les reverses transcriptases virales.
- Les coumarines telles que les warfarines qui ont une activité antivirale et antifongique.

#### II.9.1. Classe des terpènoïdes

Parmi les terpènoides on a les capsa cinés dont le mécanisme d'action est ladestruction de la membrane cytoplasmique.

#### II.9.2. Classe des alcaloïdes

Parmi les alcaloïdes on a les berbérines et les piprines dont le mécanisme d'actionest l'intercalation dans la paroi cellulaire.

### II.9.3. Classe des lectines et des polypeptides

Ces molécules sont actives sur les virus et les bactéries.

# *Matériels et Méthodes*

## III.1.Introduction

L'objectif de ce chapitre est donc de présenter en détail, le matériel et les produits utilisés et les différents modes opératoires suivis pour la caractérisation( tests phytochimiques dosage spectroscopique …etc) de différents extraits préparés à partir de la plante médicinale *Asparagus Acutifolius*.

L'ensemble des expériences et des essais de préparation ont été réalisées au niveau du laboratoire pédagogique de la faculté des sciences à université de Médéa.

***Tab 5 :*** *Les produits utilisés.*

| **Produit** | **Formule Brute** | **Masse molaire (g/mol)** | **Densité g/cm** | **Pureté (%)** | **Marque** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Méthanol** | **$C_2H_2O$** | **46.07** | **0.789** | **99.8** | **Biochem** |
| **Hydroxyde de Potassium** | **KOH** | **56.11** | **/** | **95** | **Biochem** |
| **Acide Chlorohydrique** | **HCl** | **36.46** | **1.18** | **33** | **Biochem** |
| **Acide Sulfirique** | **$H_2SO_4$** | **98.079** | **1.83** | **96-98** | **Biochem** |
| **Chloroforme** | **$CHCL_3$** | **119.38** | **119** | **99** | **Biochem** |
| **Acide acétique** | **$CH_3COOH$** | **60.05** | **1.0480** | **99.5** | **Rankem** |
| **Iodure de Potassium** | **KI** | **166** | **/** | **99-100.5** | **Sigma-Aldrich** |
| **Empois d'amidon** | **$C_6H_{10}O_5$** | **162.141** | **/** | **/** | **Rankem** |
| **Thiosulfate de Sodium** | **$Na_2S_2O_3$** | **248.17** | **/** | **99** | **Biochem** |
| **Tétra chlorure de carbone** | **$Ccl_4$** | **153.82** | **1.59** | **/** | **Sigma-Aldrich** |
| **Trichlorure de fer** | **$FeCl_3$** | **162.2** | **1.4** | **1** | **Biochem** |
| **Iode** | **I** | **127** | **4.93** | **99.8-100.5** | **Honeywell** |
| **Hydroxyde de** | **NaOH** | **40** | **2.13** | **10** | **Biochem** |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **sodium** | | | | | |
| **carbonat de Sodium** | **$Na_2Co_3$** | **105.98** | **2.54** | **/** | **Biochem** |
| **Sulfate de Cuivre** | **$CuSO_4$** | **249.69** | **3.6** | **98-99** | **Biochem** |
| **Potassium de sodium de Tetrate Tetrahydrate** | **$C4H_{12}KnaO_{10}$** | **282.22** | **2.1** | **/** | **Biochem** |
| **Triclorure d'Aluminium** | **$AlCl_3$** | **133.34** | **2.48** | **/** | **Biochem** |
| **Pyridine** | **$C_5H_5N$** | **79.1** | **0.98** | **/** | **Biochem** |
| **Butanol** | **$C_4H_{10}O$** | **74.12** | **0.81** | **/** | **Biochem** |
| **Acide Gallique** | **$C_7H_6O_5$** | **170.12** | **1.7** | **/** | **Rankem** |
| **Calcium Disodium** | **$CaNa_2$** | **132.01** | **2.53** | **/** | **Biochem** |

- **Equipements et matériel utilisés :**

Les principaux équipements et matériels de laboratoire utilisés dans ce travail sont listés ci-dessous :

- Rota vapeur. (stuart)
- Ballons pour le rota-vapeur.
- Centrifugeuse.
- Réfrigérant
- Balance de précision.
- Thermomètre.
- Deux Agitateur. (velp scientifica)
- plaque chauffante.(nûve bath)
- Autoclave
- Etuve de laboratoire

- Papiers filtres.
- Papier aluminium.
- Entonnoir.
- Barreau magnétique.
- Montage de filtration.
- Chauffe-balon
- **Verrerie et autres petits matériels :**flacons, baguettes en verre, burettes, pipettes jaugées et graduées, pots en plastique, béchers, fioles, erlenmeyers, éprouvettes graduées, entonnoirs en verre, pipettes pasteur, bouteilles propres, spatule en inox, tubes a essais.

### III.2. Méthode d'extraction

La méthode d'extraction est faite selon le protocole suivant

1. Extrait eau ; 25 g de plante dans 500 ml d'eau distillée chaude mettre en agitation pendant 24 h.

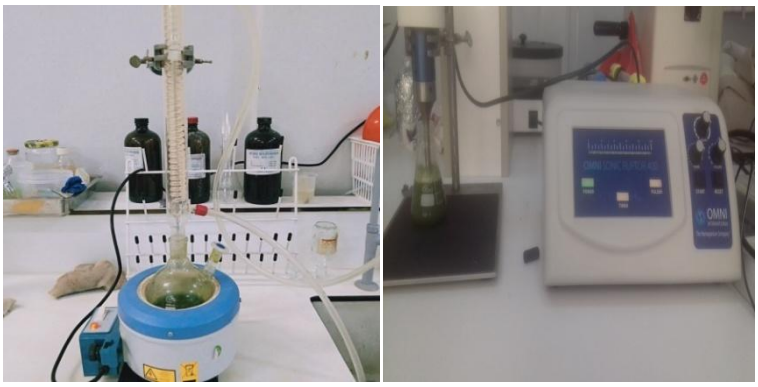
2 .Extrait eau –méthanol (40/60) ml ; 25g agitation 24 h.

3. Extrait eau traditionnelle ; 25 g de plante dans 500 ml eau distillée mettre en ébullition pendant 1h.

4. Extrait sonicateur 25g de plante dans 500ml eau distillé. L'extraction est réalisée dans une cuve à l'ultrason pendant une heure (1 H) avec une fréquence de 50 kHz.




1-Extraction par l'eau 2-Extraction par le méthanol



3-extraction traditionnelle 4-Extraction par le sonicateur

***Fig10:*** *Les Méthodes d'extraction*

Les solutions obtenues sont filtrées et ensuite conservés à température de 4°C, à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.

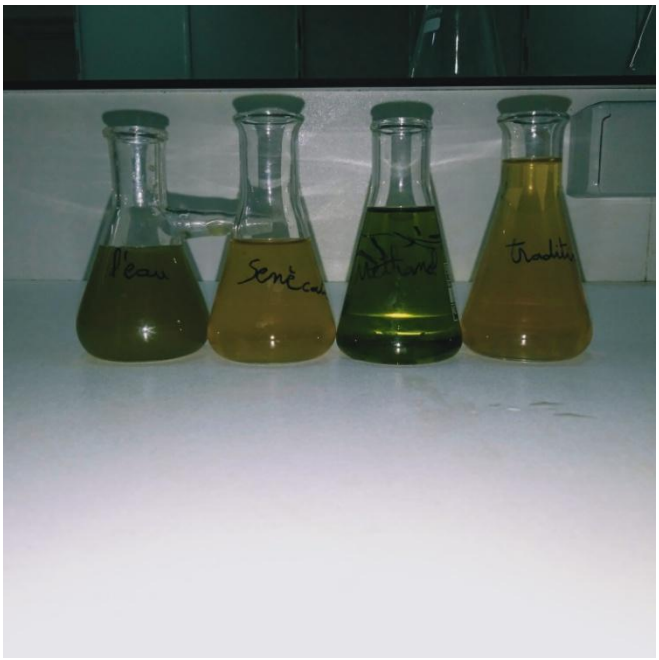


***Fig11:*** *Les quatre extraits de la plante Asparagus Acutifolius L*

### III.3.Screening et réactions chimiques

Les différentes réactions chimiques ont pour objectif de caractériser et rechercher les principaux groupes et familles chimiques dans les différents extraits.

Cette caractérisation chimique préliminaire se fait dans des tubes à essais en utilisant différents protocoles avec plusieurs produits chimiques.

Les résultats qualitatifs sont classés en :

- **Réaction très positive +++ : Présence confirmée ;**
- **Réaction positive ++ : présence modérée ;**
- **Réaction plus au moins positive + : présence en tant que trace ;**
- **Réaction négative - : absence**

- **Test des Alcaloïdes**

Ce test est basé sur le phénomène de précipitation avec un réactif spécifique« Wagner » (solution d'iode dans l'iodure de potassium) ont été ajoutée Dans des tubes à essai 0,5

ml de l'extrait sont introduits en ajoutant quelque gouttes de réactif de Wagner. La formation d'un précipité rougeâtre indique la présence des alcaloïdes dans l'extrait.

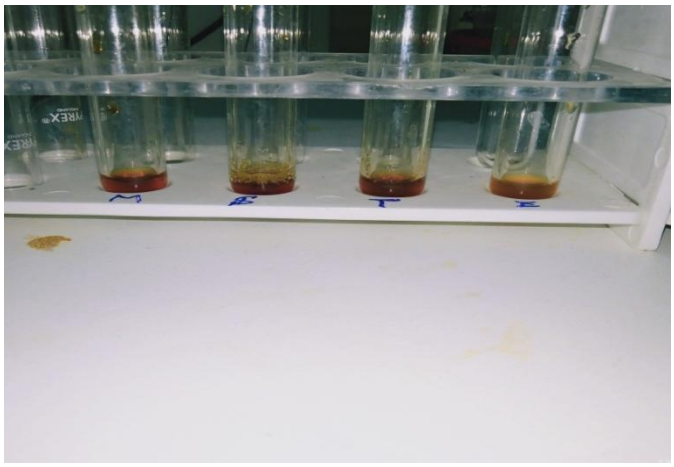


***Fig12:*** *Test des Alcaloïdes*

- **Test des Flavonoïdes**

Le test consiste à ajouter à 0,5 ml d'extrait à une solution de NaOH (10%) et laisser agir 3 minutes. L'apparition d'une coloration jaune intense implique la présence des flavonoïdes **(Karumi *et al.*, 2004).** L'ajout de quelques gouttes d'une solution d'acide diluée permet la persistance de la coloration.

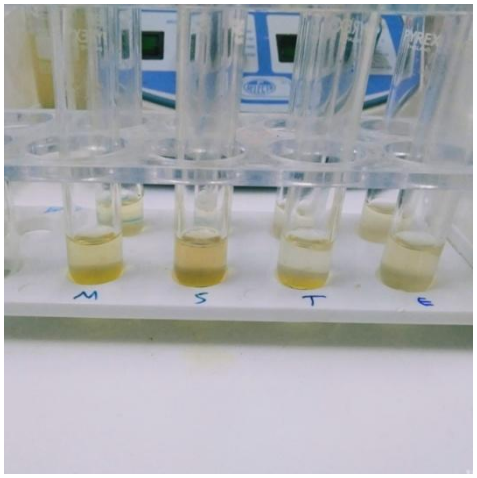


***Fig13:*** *Test des Flavonoïdes*

- **Test des Tanins**

Dans un tube à essai, 0,5ml de chaque extrait et ajouté au trichlorure de fer ($FeCl_3$) à 1%. Ce test permet de détecter la présence ou l'absence des tannins.

L'apparition d'une couleur brune noir confirme la présence des tannins galliques (tannins hydrolysables) et la couleur bleu verdâtre pour la présence des tannins caté chiques (ou tannins condensés). **(Doh *et al.*, 2003).**

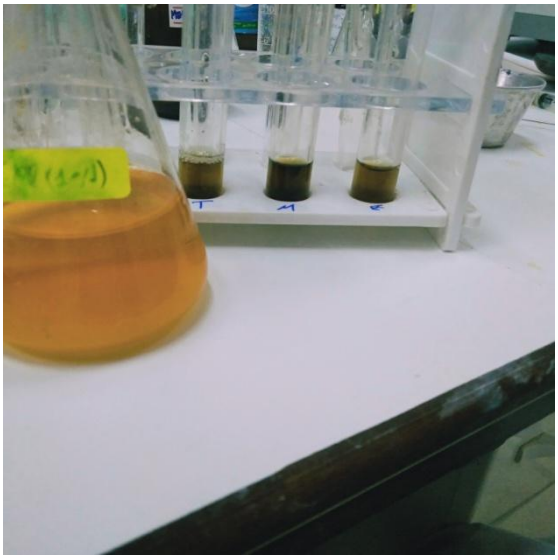


***Fig14:*** *Test des Tanins*

- **Test des Saponines**

La détection des saponines est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 0,5 ml de l'extrait. Par la suite, en ajoutant 0,5 ml de pyridine et 1ml de chlorure ferrique (1%) cette solution est fortement agitée. Après 15 min de repos.

La détection des saponines se traduit par l'apparition d'une mousse crémeuse de petites bulles.

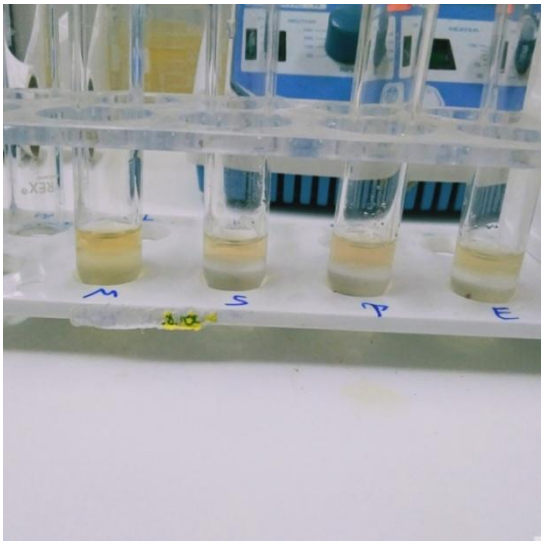


***Fig15:*** *Test des Saponines*

- **Test des Terpenoïdes**

Ce test consiste à ajouter 0,5 ml de chaque extraite avec 1 ml de $CHCl_3$, et quelque gouttes d'acide sulfurique concentré à chaque extrait.

La présence des terpenoides est confirmée par l'apparition d'une interface brune rougeâtre.

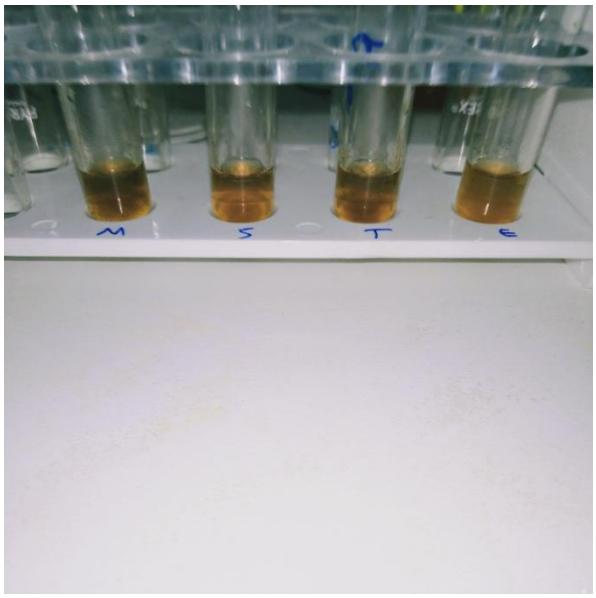



***Fig16:*** *Test des Terpenoïdes*

- **Test des Stéroïdes**

Les stéroïdes sont mis en évidence par dissoudre 0,5 ml de chaque extrait dans un 0,5 ml d'anhydride acétique et ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Le test positif est révélé par la formation d'anneau brun.

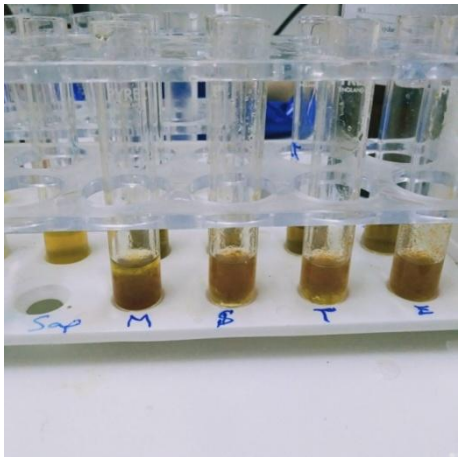



***Fig17*****:** *Test des Stéroïdes*

- **Test des Protéines**

1mL d'extrait végétal été additionné a 5ml de solution A (98 ml de Carbonate de sodium (NA2CO3) à 2% dans Hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1N, 1mL de sulfate de cuivre à 1% et 1mL de tartrate double de potassium sodium). Après avoir agité et laissé au repos pendant 10 minutes, 0,5 mL de réactif de Folin ont été ajoutés. Ensuite, le mélange a été agité énergiquement puis laissé reposer pendant 30 minutes. La présence de protéines a été indiquée par l'apparition d'une coloration bleue **(kone., 1998).**

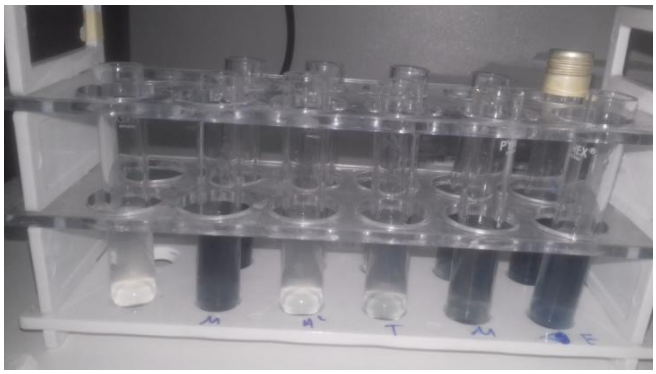


***Fig18:*** *Test des Protéines*

### III.4. Dosage spectroscopique

#### III.4.1 Dosage des phénols totaux

L'estimation quantit+ative exprimée en mg d'acide gallique est réalisée par la méthode de Folin-Ciocalteu. **(Li *et al.*, 2007).**

Dans un tube à essai, un volume de 50 µl de chaque extrait et ajouté 2 ml du réactif Folin Ciocalteu (1%) (dilué dix fois). Apres 5 minutes ajouté 1,6 ml de Carbonate de sodium ($Na_2CO_3$) à 7,5% est ajouté à la solution précédente.

L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 765 nm après 30min dans l'obscurité, et la concentration des phénols totaux est estimée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (0-100µg /ml).

L'équation de régression déduite de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique permet de déterminer la teneur en phénols totaux exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG /g d'extrait).

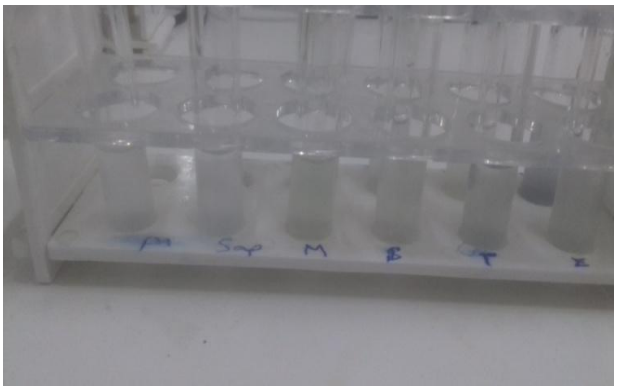


***Fig19:*** *Dosage des phénols totaux*

### III .4.2. Estimation quantitative des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont considérés comme une importante classe des polyphénols et vue la richesse des plantes en ces molécules. L'application de la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) **(Bahorun *et al.*, 1996)** est fréquemment utilisée pour estimer la teneur des flavonoïdes dans les extraitsdes différentes parties de la plante.

Le protocole consiste à mettre dans un tube à essai 0,5µl de chaque extrait (avec dilution convenable), puis 1ml d'une solution d'$AlCl_3$ (2% dans le méthanol) a été ajouté. Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à une longueur d'onde de 430nm.

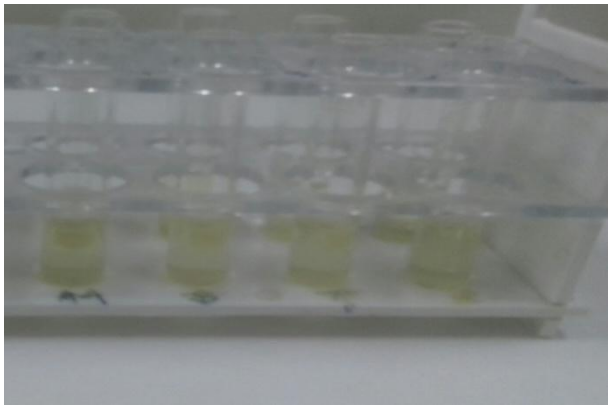


***Fig20:*** *Dosage de Flavonoïdes*

### III.4.3 Dosage des tannins condensés (proanthocyanidins)

Cette méthode de détermination du taux des pro anthocyanidines a été proposée par **Vermerris & Nicholson., (2008).**

La méthode est basée sur le mélange butanol/HCl. Un volume de 0,5 ml de chaque extrait a été mélangé avec 2,5 ml d'une solution d'acide de sulfate ferreux (77mg de sulfate d'ammonium ferrique : $Fe(SO_4)$ dissous dans 500 ml de (3:2 n- butanol: HCl). Après

incubation à 95°C pendant 50 minutes, l'absorbance a été mesurée à 550 nm. La teneur en Proanthocyanidine a été calculée selon la formule suivante :

$$T = \frac{A_{530nm} \times DF \times MW \times V2}{(\varepsilon * l * m * \nu)}$$

**DF** : est le facteur de dilution

**MW** : la masse moléculaire de la cyanuration (287g/mol).

**V2 :** le volume de l'extrait (ml).

**ν : est 0.5 ml.**

**m** : est la masse de plante.

**ε** : le coefficient d'extinction moléculaire (34700 l/mol/cm).

Les proanthocyanidines ont été exprimées en mg de cyanidine équivalent / g d'extrait.

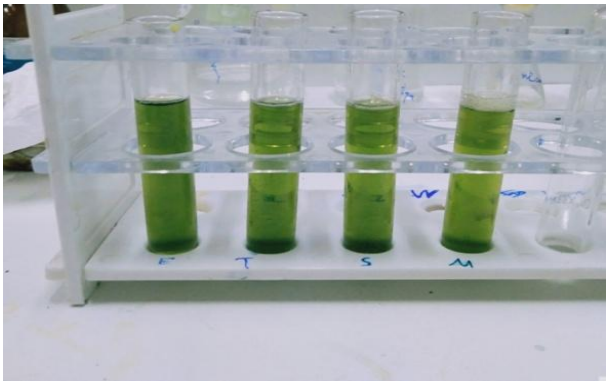


***Fig21 :*** *Dossage des tanins condensés*

### III.4.4 Dosage des tanins hydrolysable

**Tanins hydrolysables : (Mole et Waterman .,1987)**

Principe : Cette méthode est basée sur une réaction avec le chlorure Ferrique, le mélange de l'extrait tannique avec le réactif chlorure ferrique provoque la coloration rouge violet du complexe d'ou la formation des ions Mode opératoire : Préparer le réactif C ( $FeCl_3$ à 0,01M dans HCl à 0,001M) Prendre 1 ml de l'extrait et on ajoute 3,5 ml de réactif C Lire l'absorbance a 660nm 15 secondes après l'addition du réactif C.

**Expression des résultats : T % = DOx (MxV/Emole P)**

**DO : Densité optique Emole : 2169 de l'acide gallique M : 300**

**V : Volume de l'extrait utilisé**

**P : poids de l'échantillon (g)**

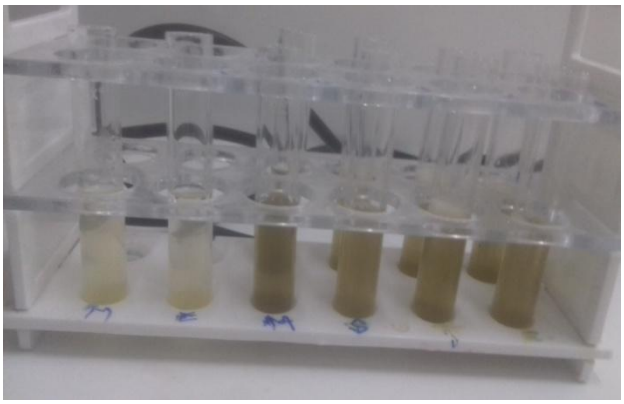


***Fig22 :*** *Dosage des tanins hydrolysables*

### III. 5. Activités biologiques

### III. 5.1. Activités antioxydantes

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, de méthode universelle, unique et fiable traduisant la capacité antioxydante. En effet, pour juger l'effet antioxydant global d'un extrait d'une ressource végétale ou alimentaire, l'utilisation de plusieurs tests d'activité est nécessaire **(Cao & Prior., 1998).**

Le protocole suivi est celui de **Braho *et al.*, (2013),** où l'activité antioxydante des extraits préparés était évaluée en prenant 2 ml de chaque extrait à une concentration égal à 1mg/ml (à partir de la quelle une gamme de concentration allant de 1mg/ml jusqu'à 0,1mg/ml) ajouté à 2 ml de la solution DPPH (0,0394g/l).

L'acide ascorbique était utilisé comme un standard positif. Toutes les expériences ont été répétées 3 fois.

L'absorbance a été mesurée par un spectrophotomètre à 517 nm après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

**% d'activité antioxydante = [(Abs contrôle - Abs échantillon)/Abs contrôle] ×100.**

La valeur d'IC 50 a été déduite à partir des résultats obtenus, dont 50% de radicaux libres ont été piégés. Une faible valeur de l'IC50 indique une forte capacité à neutraliser le radical libre DPPH.

### III.5.2. Etude microbiologique

L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée en utilisant les souches suivantes: Staphylococus aureuse, Escherichia coli, pseudomona aeruginosa, Bacilus subtilus, Levure (saccharomyces cerevisiae), Aspargillus .

Les solutions savonneuses préparées ont été testés pour leur activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en disques, en utilisant 100 µl de suspension des microorganismes testés. Les milieux Mueller-Hinton et Sabouraud gélosés, stériles et refroidis jusqu'à 45-50 °C, ont été distribués dans des boîtes de Pétri stériles de 9 cm de diamètre (15 ml). Les disques de papier filtre (9 mm de diamètre) ont été individuellement imprégnés avec 5 µl de solution de l'extrait et ensuite placés sur la surface des milieux gélosés déjà inoculés avec les microorganismes testés.

Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24h pour les bactéries, à 30 °C pendant 24 h pour les bactéries et 48 h pour les souches de champignons. Les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés, y compris le diamètre des disques.

# Résultats et Discussion

## IV.1. Screening phytochimique

Les tests de caractérisation réalisés sur les quatre extraits ont donné les résultats illustrés dans le tableau suivant :

***Tab6 :*** *Profil phytochimiques des différents extraits Asparagus Acutifolius L*

| Métabolites Secondaires | Observation | Extrait d'eau | Extrait de Méthanol | Extrait traditionel | Extrait de sonicateur |
|---|---|---|---|---|---|
| Alcaloïdes | Formation d'un précipité rougreâtre | ++ | ++ | +++ | +++ |
| Flavonoïdes | Coloration Jaune intense | ++ | + | ++ | +++ |
| Tanins | Coloration Brune noire | ++ | +++ | ++ | ++ |
| Saponines | Apparition d'un mousse crémeuse de petite bulles | ++ | ++++ | ++ | +++ |
| Terpenoïdes | Interface brun Rougretâre | + | + | ++ | +++ |
| Stéroïdes | Formation d'anneau brun | +++ | ++ | ++ | ++ |
| Protéines | coloration bleue | - | - | - | - |

**+++ : Présence confirmée ; ++ : présence modérée ; + : présence en tant que trace ;**
**- : absence.**

Les résultats présentés dans le tableau 6 montrent une richesse relative en métabolites secondaires analysés dans les quatre extraits préparés.

## IV.2. Dosage spectrophotométrique

Les résultats du dosage des phénols totaux, flavonoïdes et des tanins (condensé et hydrolysable) dans les quatre extrait de la plante sont illustré dans le tableau 7.

L'estimation du contenu en phénols totaux d'extrait a été faite par rapport à l'acide gallique. La courbe d'étalonnage est illustrée dans la (Figure 23) et la teneur en phénols totaux est exprimée en mg équivalent acide gallique (EAG) par g d'extrait sec.

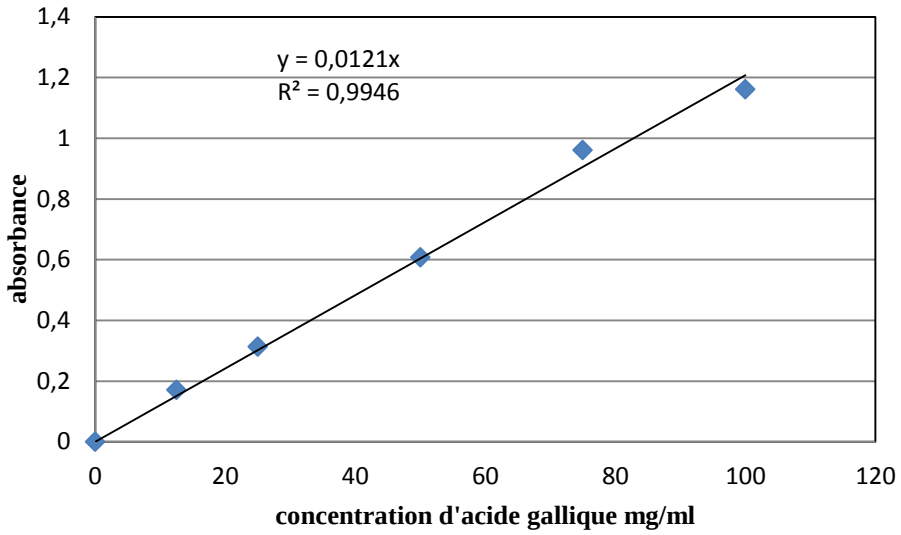



***Fig 23:*** *Courbe d'étalonnage des acides phénols totaux*

L'évaluation des contenus en flavonoïdes dans l'extrait a été réalisée par rapport à la Quercitine. La courbe d'étalonnage est illustrée dans la (Figure 24) et la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent Quercitine par g d'extrait sec.

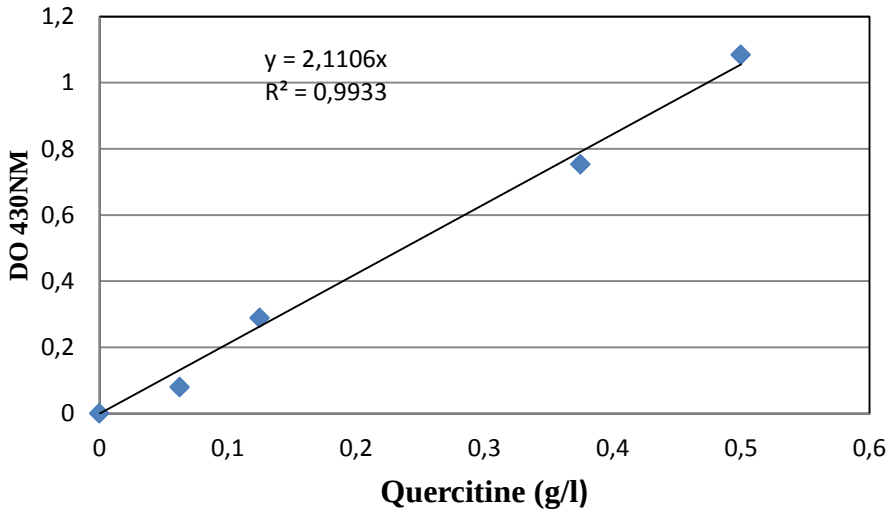



***Fig 24:*** *Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes*

L'estimation quantitative des différents extraits révèle que l'extrait Extrait d'eau présente la quantité la plus importante en phénols totaux en flavonoïdes et aussi en tannins gallique (40,02 ± 0,01 mg EAG/g d'extrait, et 28,04 ± 0,03mg ER/g d'extrait et7, 22 ± 0,02 mg EC/g d'ext) avec une quantité plus au moins modérée en proanthocyanidines (7.05± 0,04 mg EC/g d'éxtrait).

Les proanthocyanindines et les tanins galliques ont été quantifie par La méthode de **Vermerris et Nicholson., (2006)** respectivment dans l'extrait.

Les teneurs en proanthocyanidines et tanins galliques sont exprimés en mg équivalent cyanidine par g d'extrait sec.

Le taux estimé des proanthocyanidines dans l'extrait de sonicateur est plus élevé (8,05± 0,04 mg EC/g d'extrait) en le comparant avec l'extrait d'eau, traditionel et méthanol alors que le taux des phenols totaux, flavonoides et tannins gallique sont estimés à 35,17±0,01 mg EAG/g d'extrait, 20.25±0,05mg ER/g d'extrait et 5.28 ± 0,01(mg EC/g d'ext) respectivement.

L'extrait traditionel révèle les quantités les plus faibles en phénols totaux, flavonoïdes, tannins gallique et aussi proanthocyanidines avec des taux égales à 7,35 ± 0,01 mg EAG/g d'extrait, 9,38 ± 0,01mg ER/g d'extrait, 3,05 ± 0,05mg EC/g d'extrait et 3.22 ± 0,02 mg EC/g d'extrait respectivement.

***Tab7**: Quantification des phénols totaux, flavonoïdes, et proanthocyanidines.*

| Extrait | Phenols totaux [B,*](mg ER/gd'ext) | Flavonoides [B,*](mg ER/gd'ext) | Tannins gallique [C,*](mg EC/g d'ext) | Proanthocyanidines [C,*](mg EC/g d'ext) |
|---|---|---|---|---|
| Extrait d'eau | 40.02 ± 0,01 | 28.04± 0,03 | 7,22 ± 0,02 | 7,05 ± 0,04 |
| Extrait de méthanol | 11,35 ± 0,01 | 10,35 ± 0,01 | 4,15 ± 0,04 | 5,35 ± 0,01 |
| Extrait traditionnel | 7,35 ± 0,01 | 9,38 ± 0,01 | 3,05 ± 0,05 | 3.22 ± 0,02 |
| Extrait de sonicateur | 35,17 ± 0,01 | 20.25± 0,05 | 5.28 ± 0,01 | 8,05 ± 0,03 |

**A: Polyphenols exprimés en mg equivalent acide gallique /g d'extrait; B:Flavonoides exprimés en mg equivalent Rutine/g d'extrait; C:Proanthocyanidines exprimés en mg cyanidine/g d'extrait; *: valeurs exprimées en moyennes ± Ecartype (n=3).**

## IV.3. Activité antioxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)

Les valeurs d'IC50 sont déterminées graphiquement à partir de la courbe réalisée en fonction des concentrations des extraits et leurs pourcentages d'inhibition respectifs (Figure 25).

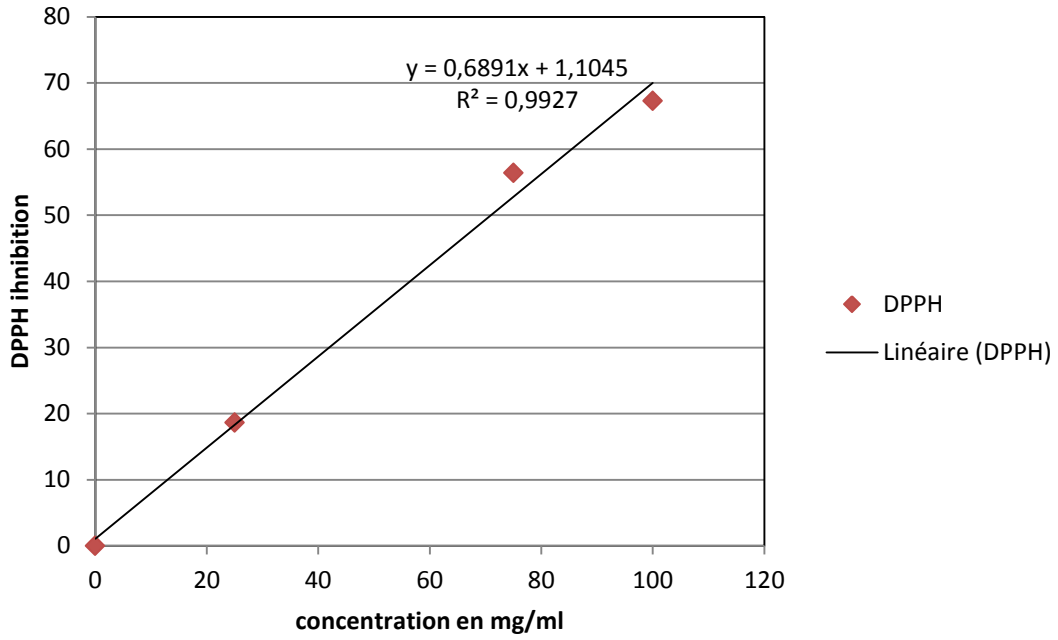



***Fig25 :*** *Pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux d'Asparagus Acutifolius L*

En général, toutes les parties de la plante *Asparagus Acutifolius L* ont provoqué une décoloration plus au moins différente de la solution DPPH, ceci prouve leur capacités antioxydantes qui est exprimée par les valeurs IC50.

Selon **Kasangana *et al*., (2015),** la capacité antioxydante du piégeur du radical libre DPPH est attribué à sa capacité à fournir de l'hydrogène à ce radical afin de le stabiliser.

En général, les feuilles de la plante *Asparagus Acutifolius L* ont provoqué une décoloration de la solution DPPH, ceci prouve leurs capacités antioxydantes qui sont exprimée par les valeurs IC50. L'extrait d'eau possède une activité antiradicalaire importante vis-à-vis du radical libre DPPH de 0,56 ± 0,003$^{+}$, par rapport les trois autres extraits : extrait méthanol, tradionnelle et sonicateur qui possèdent une capacité antioxydante de 0,80 ± 0,005 mg/ml, de 0,77± 0,002 mg/ml, et de 0,65 ± 0,001 mg/ml respectivement.

L'activité antiradicalaire de l'acide ascorbique est significativement supérieure à celle obtenues par la plante de *Asparagus Acutifolius L* 0,019 ± 0,001 mg/ml.

### IV.4. Activité antimicrobienne :

La lecture des résultats est effectuée en fonction de l'existence ou non des zones d'inhibition. La sensibilité des espèces est estimée par la mesure du diamètre de zone d'inhibition autour des disques imprégné de différentes des extraits de la plante **(Bonnet et al , 2011).**

***Tab8:*** *Les résultats des tests antimicrobiennes*

| Souche | Activité Antimicrobiennes | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Extrait d'eau | Extrait de méthanol | Extrait traditionel | Extrait de sonicateur |
| *Staphilococcus épidermique* | +++ | ++ | ++ | ++ |
| *Micrococcus flavus* | +++ | ++ | / | ++ |
| *Staphylococcus aureus* | ++ | / | + | ++ |
| *Bacillus subtilis* | ++ | / | / | / |
| *Sacharomyces cerevisiae* | +++ | + | / | + |
| *Escherichia coli* | +++ | / | / | / |
| *Pseudomonas aeruginosa* | ++ | / | / | / |
| *Aspergillus brasiliensis* | ++ | + | + | ++ |
| *Condida albicans* | / | / | / | / |

Le résultat des tests d'activités antibactériennes montre que l'extrait d'eau de la plante étudier possède une activité antibactériennes **importante** vis-à-vis les majorités des souches étudier. Les trois autres extrait possedent une activité **Moyenne et Faible** vis-à-vis les souches etudier : *Staphylococcus épidermique, Micrococcus flavus, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Eacherichia coli, Sacharomyces cerevisiae, Pseudomonas aeruginosa, Aspergillus brasiliensis.* Tandis que *Condida albicans* a montré une résistance aux ces quatre extraits.

# Conclusion et Perspectives

## *Conclusion*

Dans le présent travail, nous nous somme intéressé à l'évaluation de l'activité biologique des extraits aqueux et méthanoïque d'une plante algérienne appartienne au genre *Asparagus (Asparagaceae)*

Dans ce travail, différents aspects de *Asparagus Acutifolius L* ont été étudiés: quelques propriétés phytochimique et activités antibactérienne et antifongique d'extraits brut.

Les résultats de screening phytochimique des extraits aqueux et méthanoïque de «*Asparagus Acutifolius* L» obtenus montrent la présence massive des stéroïdes, des tanins, des tanins galliques, des alcaloïdes, des saponosides, des terpenoïdes et des flavonoïdes.

L'extrait d'eau d'*Asparagus Acutifolius L* présente une activité antioxydant importante En revanche, elle est inférieure à celle de l'acide ascorbique.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur neuf souches, selon la méthode de diffusion de disque. Les résultats indiquent que l'extrait d'eau possède une activité antibactérienne vis-à-vis les majorités des souches étudier. L'activité antifongique a été déterminée sur deux champignons : *Aspergillus brasiliensis* et *condida albicans* les résultats montrent que les quarte extraits prépares de l'espèce *Asparagus Acutifolius L* à une activité moyenne et faible contre la souche fongique *Aspergillus brasiliensis* une activité nulle contre *condida albicans.*

L'extrait d'eau possède une activité antiradicalaire importante vis-à-vis du radical libre DPPH de $0,56 \pm 0,003^{+}$, par raport les trois autres extraits : extrait méthanol, tradionnel et sonicateur qui possèdent une capacité antioxydante de 0,80 ± 0,005 mg/ml, de 0,77± 0,002 mg/ml, et de 0,65 ± 0,001 mg/ml respectivement.

En perspectives plusieurs travaux peuvent être envisagés dans la continuité des travaux entamés :

- Déterminer les molécules responsables des activités biologiques, et approfondir l'étude photochimique en utilisant des techniques plus performantes.
- De développer le spectre des activités biologiques ciblées en incluant les activités anti-inflammatoires insecticides ou autres.

Des essais complémentaires seront nécessaires afin de pouvoir confirmer les activités mises en évidence.

# References Bibliographiques

**-A-**

- **Adossides, A. (2003).** La filière plantes aromatiques & médicnales, FAO Projet. Assistance au recensement agricole. P. 70.
- **Aharoni, A., Galili, G. (2011).** Metabolic engineering of the plant primary–secondary metabolism interface. Current Opinion in Biotechnology, 22, 239–244.
- **Ali-Delille, L. (2010).** Les plantes médicinales d'Algérie. Edition: BERTI. Alger. Page 6, 7, 11, 74, 198, 218, 226.
- **Alkhatib, R. (2010).** Étude phytochimique et activité cytotoxique des métabolites secondaires de *Ferula elaeochytris Korovin* et *Ferula lycia Boiss*. (Apiacées). Thèse de Doctorat. Université Lille nord de France.

**-B-**

- **Bahorun, T., Grinier, B., Trotin, F., Brunet, G., Pin, T., Luncky, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, C., Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from *Hawthorn fresh* plant organs and pharmaceutical preparations. Arzneimittel-forschung, 46(11), 1086-1089.
- **Barnes, J., Anderson, L.A., Phillipson J.D. (2007).** Herbal Medicines, Ed 3: Pharmaceutical Press; p: 3- 233.
- **Bénard, C. (2009).** Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de Doctorat : Université de Nancy.
- **Ben sakhria, A. (2016).** Méthodes séparatives : Toxicité des substances chimiques. analytical toxicology, 1- 9.
- **Beta, T., Nam, S., Dexter, J-E., Sapirstein, H.D. (2005)**. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. [en ligne]. vol. 82,p. 390-393.
- **Borrel, T. (2000).** Les infections nosocomiales, cours Maladie. L'homme et son environnement. Université Lumière Lyon II.
- **Boumendjel, A., Pietro, A.D., Dumontet, C., Barron, D. (2002).** Recent Advances in the discovery of Flavonoïds and analogs with high-Affinity binding to P-Glycoprotein responsible for cancer cell multidrug resistance. Medicinal Research Reviews, 22, 512-529.
- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinale. Edition Technique et documentation, 233.

- ✓ **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée, Éditions médicales internationales, Tec et Doc, Paris, France.
- ✓ **Brzozowska J., Hanower, P. (1976).** Recherches sur les composes phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers. *Annales de l'université d'Abijan, série C (Science),* tome XII: 65 - 80.

**-C-**

- ✓ **Cao, G., Prior, R.L. (1998).** Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. Clinical Chemistry, 44(6), 1309-1315.
- ✓ **Chanforan, C. (2010).** Stabilité de micro-constituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Thèse de Doctorat : Université d'Avignon et des pays de vaucluse.
- ✓ **Cheruvanky, H. (2004).** Method for treating hypercholesterolemia, hyperlipidemia and artherosclerosis. United States Pathol, 6(4), 733-99.
- ✓ **Christophe, P., & Christophe, S. (2011).** Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. Edition Springer, 84.
- ✓ **Cowan, M.M. (1999).** Plant products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4) : p564-582.
- ✓ **Cragg, G.M., Newman, D.J. (2010).** Comprehensive Natural Products II. Chemistry and Biology, 2, 5 - 39.
- ✓ **Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. (2000).** Natural Products (Secondary Metabolites). Biochemistry and molecular biology of plants, 24, 1250-1319.

**-D-**

- ✓ **Dai, J., Mumper, R- J. (2010).**Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. [en ligne]. vol.15, n°10, p.52-7313.
- ✓ **Dangles, O., Stoeckel, C., Wigand, M.C., Brouillard, R. (1992).** Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. Tetrahedron letters, 33(36), 5227- 5230.
- ✓ **Decaux, I. (2002).***Phytothérapie : Mode d'emploi*. Ed : Le bien public. Pp 6.
- ✓ **Del Bubba, M., Giordanie, E., Pippucci, L., Cincinelli, A., Checchini, L., Galvan, L. (2009).**Changes in tannins, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on-tree growth 104 and ripening and in response to different postharvest treatments. Journal of Food Composition and Analysis, 22(7), 668-677.

- ✓ **Derek, B., Small, E., conseil national de recherche Canada., Ebrary., INC. (1998).** Les Légumes de Canada. Edt. N.R.C. 436p.
- ✓ **Diallo, D. (2000).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them : *Glinus oppositifolius* (*Aizoaceae*),*Diospyros*Thèse de doctorat, Lausanne, 148-176.
- ✓ **Dicko, M.H., Gruppen, H., Traoré, A.S., Voragen, A.G.J., Van Berkel, W. J.H. (2006).** Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. Biotechnology and Molecular Biology Review, 1 (1), 21-38.
- ✓ **Dohou, N., Gmiran, Y., Idrissi Hassani, L.M. (2003).** Etude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro Marocaine, Thymelaea lychroides. Acta Botanica Malacitana, 29, 233-239.
- ✓ **Dykes, L., & Rooney, L.W. (2006).** Sorghum and millet phenols and antioxidants. Journal of cereal Sciences, 44, 236 - 241.

**-E-**

- ✓ **Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., Curini M. (2007).** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. Phytochemistry; 68: 939-953.

**-F-**

- ✓ **Fleurette, J., Freney, J. (1995).** Antiseptie et désinfection.
- ✓ **Formica, J.V., & Regelson, W. (1995).** Review of the biology of quercetin and related bioflavonoïds. Food & Chemical Toxicology, 33, 1061-1080.
- ✓ **Fukudat Ashizawa, H., Suzuki, R., Ochiaï, T., Nakamura, T., Kanno, A., Kameya T., Yokoyama, J. (2005).** Molecular Phylogeny of The Genus *Asparagus (*Asparagaceae) Inferred From Plastid pet B Intron And pet D- rpoa Intergenic. *Plant Species Biology*. 20:121 - 132.

**-G-**

- ✓ **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique.Phytotherapie3(4) ,162-169.

- ✓ **Gosse,F.,Guyot,S.,Roussi,S.,Labstein,A.,Fisher,B.,Seiler,N.,Raul,F.(2005).**Chemopr oventive properties of apple procyanidins of human colon cancer-derived metastatic SW620 cells and in a rat model of edon carcinogenesis.Carcinogenesis,26(7), 1291-5.
- ✓ **Grosmond, G., (2001).** La phytothérapie Bulletin des GTV, HS : Elevage et agriculture biologique,143 -145 Métabolites des plantes.
- ✓ **Gumowski,P.I.,Grange,F.(1987).**Asthmes intrinsèques et réactivité aspécifique aux moisissures. *Médecineet Hygiène*.45:153–157.

**-H-**

- ✓ **Harborne, J. B., & Williams, C.A. (2000).** Advances in flavonoïd research since 1992. Phytochemistry, 55, 481-504.
- ✓ **Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals: Fifty years research ofplant secondary metabolism, Review. Phytochemistry 68 2831– 2846.
- ✓ **Haxhe, J.J., Zumofen, M. (1999).** Notions d'hygiène hospitalière. Faculté de Médecine. Université Catholique de Louvain.
- ✓ **Hayes PH., Jahidin Aisuah, H., Reg-Lehmann, K., Penman, W., Kitching, J., Devoss, J. (2008).**Steroidal saponins from the roots of *Asparagus racemosus*. Phytochemistry, 69: 796-804.
- ✓ **Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002).** Flavonoïd antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry, 13, 572- 584.
- ✓ **Hemingway, R.W., Karchesy, J.J. (2012).** Chemistry and significance of condensed tannins. Springer Science & Business Media.
- ✓ **Horn, J., Hayes, J., Lawless, H.T. (2002).** Turbidity as a measure of salivary protein reactions with astringent substances. Chemical Senses, 27(7), 653- 659.
- ✓ **Hurst, C. J. (1997).** Manuel of environmental microbiology. Aerobiology. Washington, *D.C., ASM PRESS*.

**-I-**

- ✓ **Iqbal, M., Bibi, y., Iqbal Raja, N., Ejaz, M., Hussain, M., Yasmeen, F., Saira, H., Imran, M. (2017).**Review on Therapeutic and Pharmaceutically Important Medicinal Plant *Asparagus officinalis* L. Plant Biochem Physiol 5: an open access journal.

- ✓ **Iserin, P.M. (2001).** Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition ed.). (T. D.-F. Edith Ybert, Ed., & P. Vican, Trans.) Larousse-Bordas (1997). ISBN: 2- 03-560252-1. P. 6-16, 18-53, 335p.

**-J-**

- ✓ **Jaramillo-Carmona, S., Rodriguez-Arcos, R., Jimènez-Araujo, A., Lopez, S., Gil, J., Moreno, R., Guillén- Bejarano, R. (2017).** Saponin Profile of Wild *Asparagus* Species. Journal of Food Science, 82 (3).
- ✓ **Jarrige, R., & Ruckebusch, Y. (1995).** Nutrition des ruminants domestiques : Ingestion et digestion. Editions Quae, 57.

**-K-**

- ✓ **Karumi, Y., Onyeyili, P.A., Oyugbuaja, V.O. (2004).** Identification of active principals of M.Balsamia (Balsam Apple) leaf extract. Journal of Medicinal Science, 4(3),179-182.
- ✓ **Kasture, S., Kasture, A., Ballero, M., Maxia, A. (2009).** Antioxidant, anti-inflammatory, and adaptogenic activity of *Asparagus acutifolius* extract. Oriental Pharmacy and Experimental Medicine, 9 (1): 83-89.
- ✓ **Kone, F. (1998).** Etude ethnobotanique, tri phytochimique et évaluation del'activité antiplasmodiale de deux plantes ivoiriennes: Mitragyna inermis et Terminalia glaucescens. Thèse de doctorat en pharmacie–UFR de Pharmacie d'Abidjan.N°358/98.p110.
- ✓ **Konig, M., Seholz, E., Hartmann, R., Lehmann, W., Rimpler, H. (1994).** Ellagitannins and complex tannins from *Quercus patroae* bark. Journal of Natural Product, 57,1411-15.
- ✓ **Kramer, K., Kubitzki, K., Huber, H., Green, P. S. (2008).** The families and genera ofvascularplants.Edt. springer197p.
- ✓ **Kumar,M.,KumarNaik,P.S.,Chhocar,V.(2015).**Genetic variations in Asparagus racemosus, an endangered medicinal herbendemic to Indiausing RADP Markers. Br Biotechnol J 10(2):1-11.

**-L-**

- ✓ **Lacaille- Dubois, M. A., Sautour, M., Miyamoto, T. (2006).**New steroidal saponins from *Asparagus acutifolius*. Planta Med 72-125.
- ✓ **Latte, L.P., & Kolodziej, H. (2000).** Antifungal effects of hydrolysable tannins and related compounds on dermatophytes, mould fungi and yeasts. Zeitschrift für Naturforschung C,55(5-6),467-472.
- ✓ **Lee Young-Ok., Kanno, A., Kameya, T. (1997).** Phylogenetic Ralationships In The Genus *Asparagus* Based On The Restriction Enzyme Analysis Of The Chloroplast DNA. *Breeding Science*.47: 375-378.
- ✓ **Leitao,D.P.,Polizello,A.C.,Ito,I.Y.,Spadaro,A.C.(2005).**Antibacterial screening of anthocyanic and proanthocyanic fractions from cramberry juice. Journal of Medicinal Food, 8(1), 36-40.
- ✓ **Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Tian, Y. (2007).**Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. Food Chimestry,102(3),771-776.

**-M-**

- ✓ **Macheix, J. J., Fleuriet, F. & JayAllemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polythechniques, 134.
- ✓ **Maire, R. (1958).** Flore de l'Afrique du nord. Vol. 5. Paris, France: P. Le chevalier (in French).
- ✓ **Maire, R. (1958).** Flore de l'Afrique du nord. Edition. Le Chevalier. Paris. Vol I.
- ✓ **Markham,K.R.(1982).**Technics of flavonoids identification. Edition Academic press (London), 113.
- ✓ **Maw. g., tanr. x., fuzzatin., liq. s., wolfenderj. l. (1997).** hostettmann K., Natural occurring and synthetic polyyne glycosides. vol.45, n°2, p.411-415.
- ✓ **MC Neill, J. (1981).** Flora Europea. Vol5. Cambridge Univ. Press: méridionales. Edt. CNRS. France. Tome I.
- ✓ **Mole, S., Waterman P.G.(1987).** A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies II, Techniques for biochemically defining tannins. Oecologia, 72, 148-156.

- ✓ **Morin, L., Bacthelor, K. L., Scott, J. K. (2006).**The Biology of Australian Weeds. 44. *Asparagus*. Asparagoïdes (L.) Druce. *Plant Protection Quarterly*. 21: 46-59.
- ✓ **Munby, G. (1855).** Notice sur quelques plantes d'Algérie. B Soc Bot Fr 2: 282-289 (in French).

**-N-**

- ✓ **Nagendran, B., Kalyana, S., Samir, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agriindustrialby-products : Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food chemitry, 99, 191–203.
- ✓ **Naidu, M.T., Kumar, O.A., Venkaiah, M. (2014).**Taxonomic Diversity of Lianas in Tropical Forests of Northern Eastern Ghats of Andhra Pradesh, India. Not Sci Biol 6(1): 59-65.
- ✓ **Ncube, B., Finnie, J. F., VanStaden, J.( 2012).** Quality from the field: The impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants. South African Journal of Botany, 2,11–20.
- ✓ **Négre, R. (1961).**Petite flore des regions arides du Maroc occidental. Edt CNRS. Paris. Tome.
- ✓ **Nkhili, Ez-zohra. (2009).** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec lesions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. These doctorat en co-tutelle.Université Cadi Ayyad et université D'Avignon et Des Pays De Vaucluse, 08.
- ✓ **Norup, M. F., Petersen, G., Burrows, S., Bouchenak-Khelladi, Y., Leebens-Mack, J., Pires, J.C., Peter Linder, H., Seberg, O. (2015).** Evolution of *Asparagus* L. (Asparagaceae): Out-of-South-Africa and multiple origins of sexual dimorphism. Mol Phylogenet Evol92: 25-44.
- ✓ **Notomo, H., Ligo, M., Hamada, H., Kojima, S., Isuda, H. (2004).** Chemoprevention of colorectal cancer by grape seed proanthocyanidin is accompanied by a decrease in proliferation and increase in apoptosis. Nutrition and cancer, 49(1), 81-88.

**-O-**

- ✓ **OMS. (2004).** Questions fréquemment posées à propos de l'utilisation du DDT pour la lutte antivectorielle. WHO/CDS/WHOPES/2002.5Rev.1.
- ✓ **Ozenda, P. (1977).** Flore du Sahara. Edt du C.N.R.S. Paris. Deuxiéme edition: 622p.

**-P-**

- ✓ **Papazian, L., & Roch, A. (2008).** Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, Edition Springer, 153.
- ✓ **Peynet, J., Beaudeux, J., Legrand, A. (2005).** Stress oxydant et athérosclérose. Radicaux libres et stress oxydant, paris 311-351. In: Delattre J., Beaudeux J. L., Bonnefont-Rousselot. D. Aspects biologiques et pathologiques, 45-86.
- ✓ **Pibiri, M. C. (2006).** Assainissement Microbiologique de l'Air et des Systèmes de Ventilation au Moyen d'Huiles Essentielles, Thèse pour l'obtention du grade de docteur ès sciences. Lausanne, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL).
- ✓ **Pitrat, M., Foury, C. (2003).**Histoires De Légumes. Edt Quae. France.410p.
- ✓ **Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. (2005).** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(10), 4290-4302.

**-Q-**

- ✓ **Quezel, P., Santa, M. S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edt du C.N.R.S. Paris. Tome I. 1170p.
- ✓ **Quézel, P., Santa, S. (1962).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Paris, France: Edition Centre National de la Recherche Scientifique.

**-R-**

- ✓ **Robert, D., & Catesson, A. M. (2000).** Biologie végétale: caractéristiques et stratégie évolutives des plantes. Organisation végétative. Wolters Kluwer France Edition, 2, 320.
- ✓ **Roux, D., & Catier, O. (2007).** Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie. Wolters Kluwer France Edition,74.
- ✓ **Rudall, P., Englemanj, E. M., Henson L., Chase, M. W. (1998).** Embryology, Cytology And Systematic Of *Hemiphylacus*, *Asparagus* And *Anemarrhena* (Asparagale). *PlantSystematic And Evolution*. 211: 181-199.
- ✓ **Rylander, R. (1998).** Microbial celle wall constituents in Indoor Air and their relation to disease Indoor Air Supplement.4:59–65.

**-S-**

- ✓ **Salthammer, T. (1999).** Organic indoor air pollutants: occurence - measurement – evaluation. Wiley-VCH.
- ✓ **Sanago, R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako (Mali): 53.
- ✓ **Santos-buelga, C., & scalbert, A. (2000).** proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, accurence, dietary intake and effects on nutrition health. Journal of the science of foodandagriculture, 80 (7), 1094-1117.
- ✓ **Sarmi, M. P., Cheymer, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. 2-10.
- ✓ **Schnitzler, A., Arnold, C. (2010).** Contribution of vines to forest biodiversity in the Mediterranean basin. Ecologia mediterranea, 36(1):7-23.
- ✓ **Serag, M. S., Khedr, A. A., Abo El Naga, A.Z., Abo Moustapha, R. A. (2011).** An ecological study on two geophytes: *Asparagus stipularis* Forssk. And *Asphodelu saestivus* Brot in the Mediterranean Coast of Egypt. Cartiva, 6(1):47-58.
- ✓ **Sharma, P. C., Yelne, M. B., Dennis, T. J. (2000).** Data based on medicinal plants used in Ayurveda. Delhi: Documentation and pub lication division: Central council for research in Ayurveda and Sidha 1:418-430.
- ✓ **Sofowora, A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Edition Karthala p. 22.
- ✓ **Stajner, N., Bohanec, B., Jakse, M. (2002).** In Vitro Propagation of *Asparagus Maritimus*-Arare Mediterranean Salt Resistant Species. *PlantCell, Tissue and Organ Culture*. 70: 269-274.
- ✓ **Stajner, N., Bohance, B., Javornik, B. (2002).** Genetic variability of economically important *Asparagus* species as revealed by genome size analysis and rDNA ITS polymorphisms. Plant Science, 162:931-937.

**-T-**

- ✓ **Tandon, M., Shukla, Y. N., Thakur, R. S. (1990).** Steroid glycosides from *Asparagus adscendens* Phytochem29:2957-2959.
- ✓ **Thomson, M. (2002).** Herbal Monograph–*Asparagus racemosus*, Phytomedicine, NSW, Australia.

**-U-**

- **Urquiaga,I.,Leighton,F.(2000).**Plant polypheno lantioxidants and oxidative stress. vol. 33, n°22, p.55-64.

**-V-**

- **Visioli, F., Borsani, L., & Galli, C. (2000).** Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. Cardiovascular Research, 47, 419-425.

**-W-**

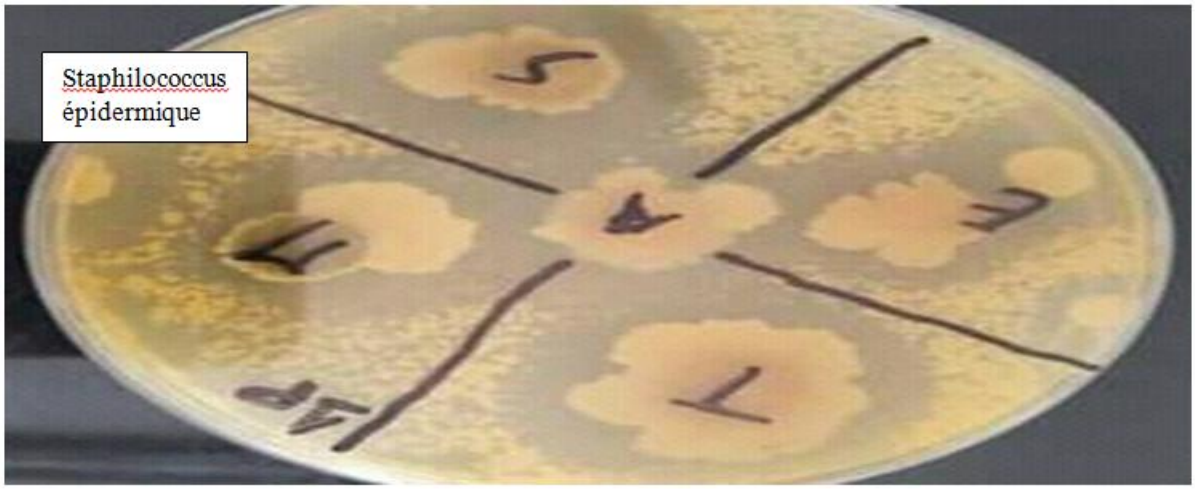
- **Wink, M. (2003).** Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. Phytochemistry, 64, 3-19.
- **Wollgast, J., & Anklam, E. (2000).** Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. Food Research International, 33,423-447.

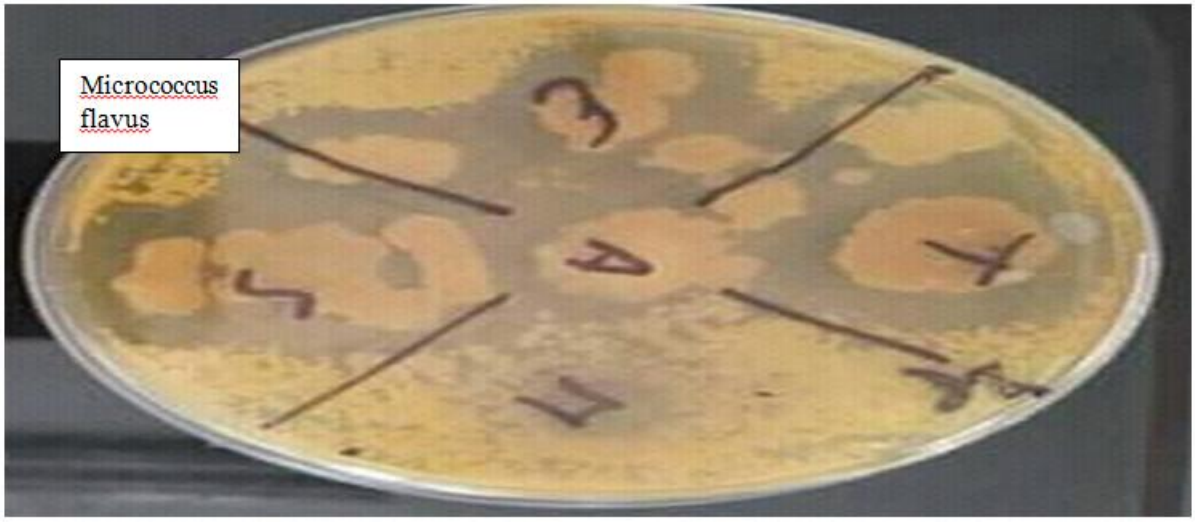
**-Y-**

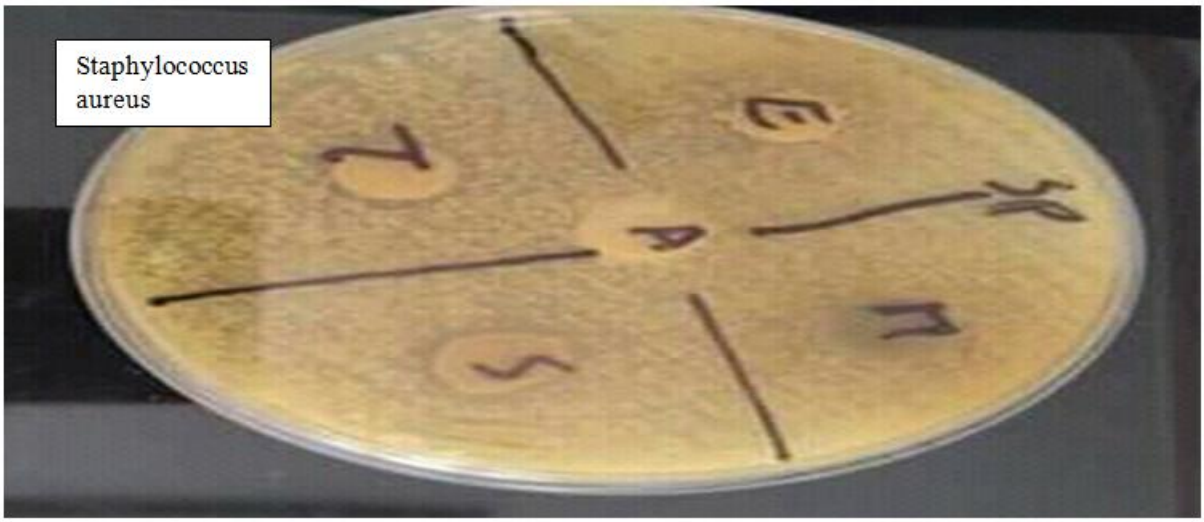
- **Yamanaka, N., Samu, O., Nagao, S. (1996).** Green tea catechins such as (-) epicatechin and (-) epigallocatechin accelerate $Cu^{+2}$ induced low density lipoprotein oxidation in propagation phase. FEBS Lett ,401, 230-4.

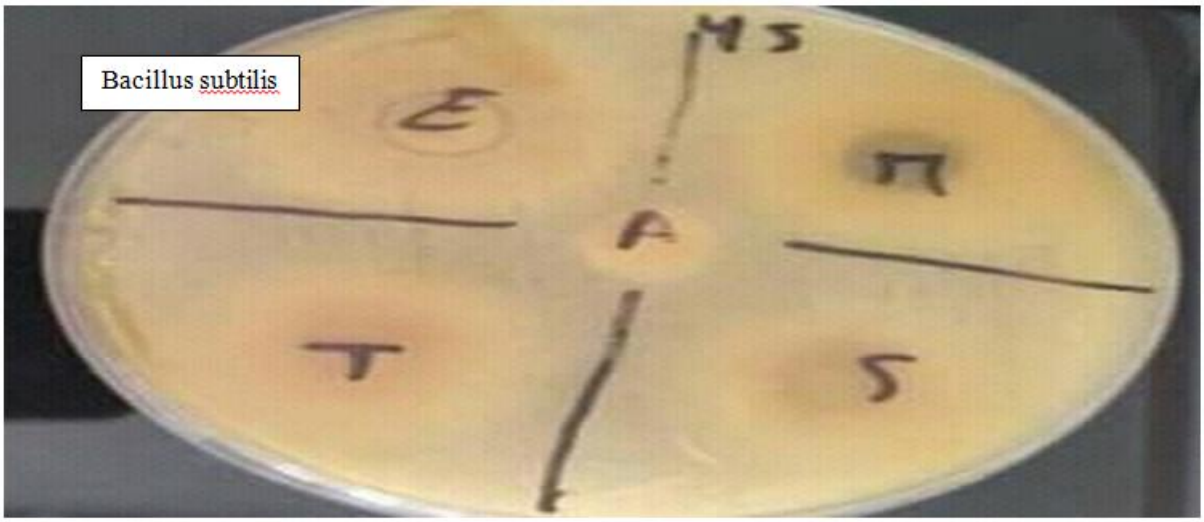
# *Annexes*

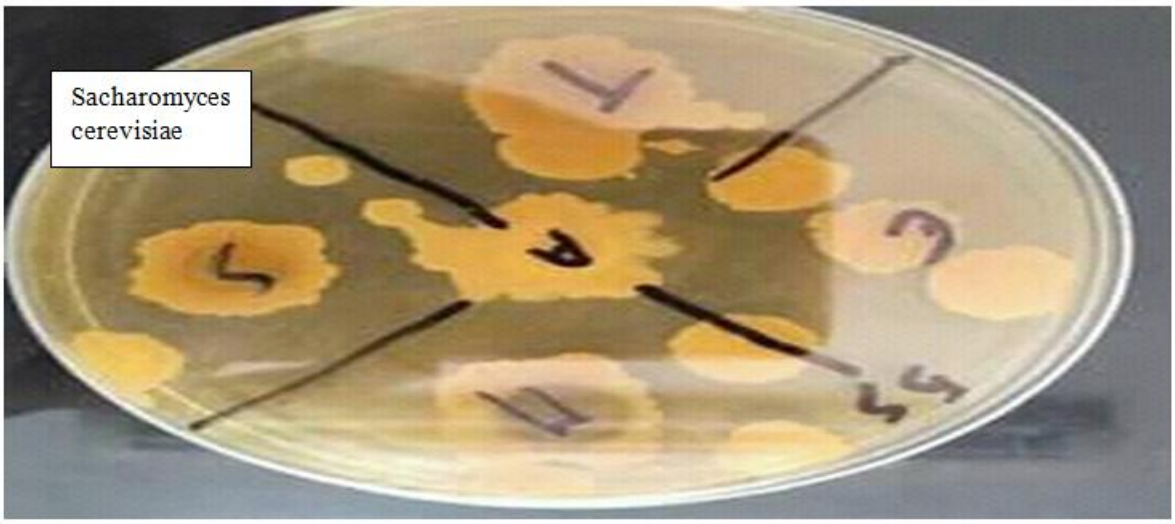
**Annexe:** les résultats des tests antimicrobiennes

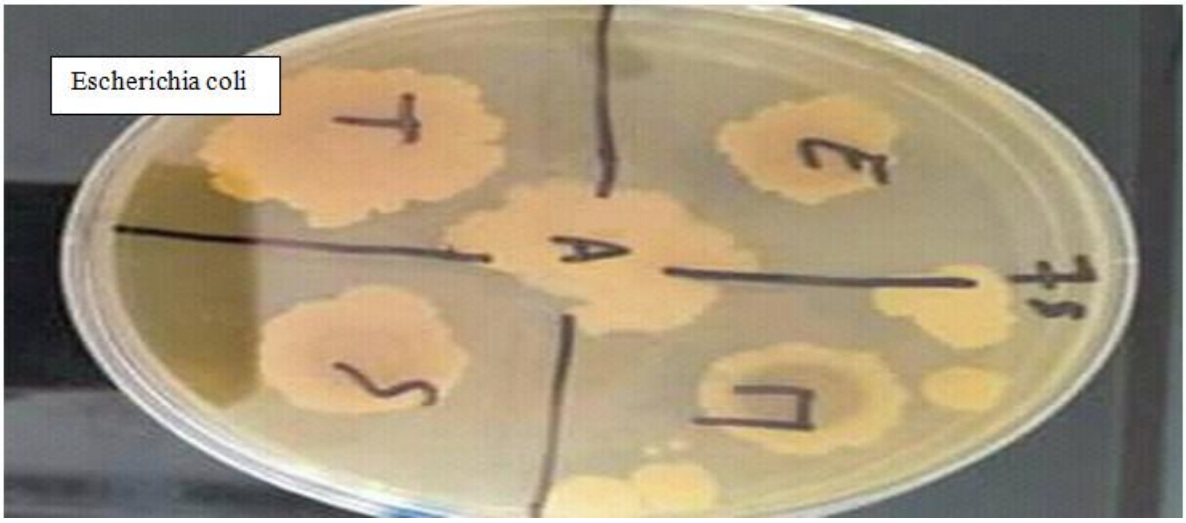


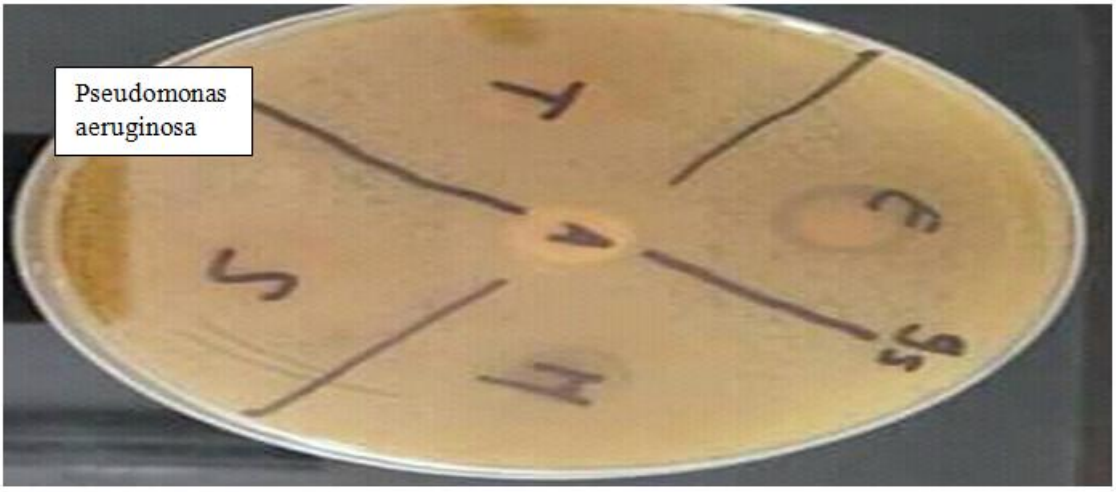



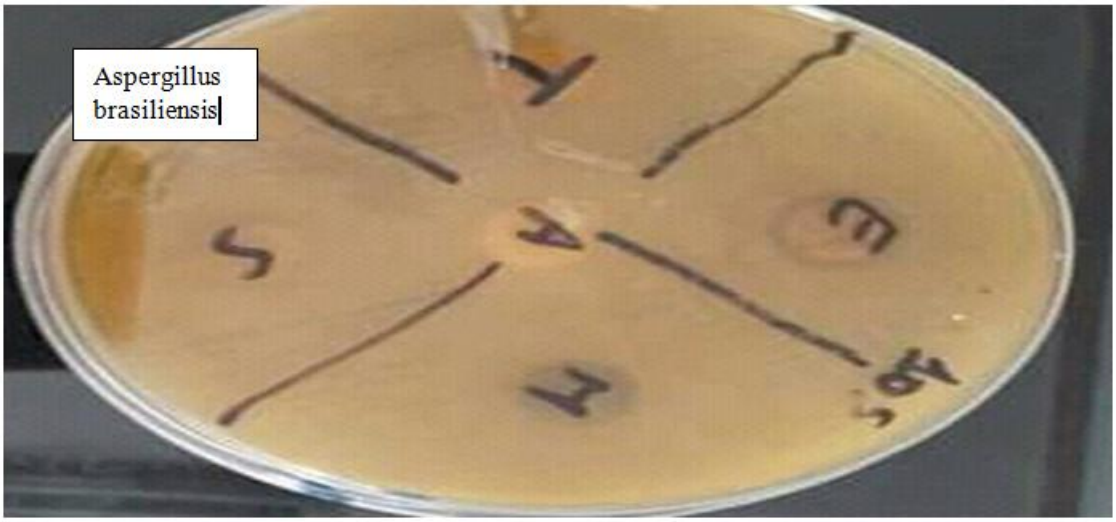




Bacillus subtilis


Sacharomyces
cerevisiae


Escherichia coli


Pseudomonas
aeruginosa


Aspergillus
brasiliensis