الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ Dr. YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

MEMOIRE DE MASTER

En vue de l'obtention du Diplôme de

Master en Biologie

Spécialité : Microbiologie appliquée

THEME

Évaluation de l'activité biologique des extraits de *Globularia alypum* et *d'Asparagus officinalis* récoltées de la wilaya de Médéa

Présenté par :

Mr. Terreghla Abdelkader **Mr. Ouldmaamar Abdelmalek** **Mr. Remili Salah**

Soutenue le 15 juillet 2021 Devant l'honorable jury composé de :

Encadreur	**HOCEINI Amina**	**MCB**	**Université de Médéa**
Co promotrice	**CHAAOUATI Karima**	**MAA**	**Université de Médéa**
Président	**AINAS Mahfoud**	**MCB**	**Université de Médéa**
Examinatrice	**BOUMEDIENE Farida**	**MCB**	**Université de Médéa**

Année Universitaire 2020/2021

بسم الله الرحمن الرحيم

وقُل رَبّ ادْخِلْنِي مُدْخَلَ صِدْقٍ و اخْرِجْنِيَ مُخْرَجَ صِدْقٍ وَاجْعَلْ لِي مِنْ لَدُنْكَ سُلْطَانا نَصيرًا

(سورة الإسراء)

REMERCIMENT

Le travail de ce mémoire s'inscrit dans le cadre d'un projet de fin d'études réalisé à l'université YAHIA FARES de Médéa.

En premier lieu, nous remercions Dieu « الله » le tout puissant de nous avoir donné la volonté et le courage pour réaliser ce travail.

Nous tenons à adresser nos plus sincères remerciements à notre promotrice Docteur HOCEINI Amina et à notre Co-promotrice Mme CHAOUATI Karima pour leurs temps précieux qu'ils nous ont consacré, qui ont dirigé et suivi nos travaux et qui ont toujours su nous faire confiance et nous apporter l'aide nécessaire, tant sur le plan scientifique que moral.

Nous tenons à remercier sincèrement Dr. AINAS Mahfoud enseignant à l'université de Médéa, pour l'honneur qu'il nous a fait en présidant notre jury de soutenance.

On remercie, également, M.me BOUMEDIENE Farida pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire et ainsi d'apporter ses contributions à ce travail.

Nous présentons aussi nos sincères remerciements à tous les enseignants du département des sciences de la nature et de la vie qui ont contribué à notre formation.

Enfin, à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, vous trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements.

Dédicaces

Je voudrais dédier cet humble travail a mes premiers professeurs dans la vie, mes très chers parents qui m'ont toujours soutenu, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction. Puisse Dieu, vous accorder santé, bonheur et longue vie

À la mémoire de mon frère
Terreghla Badreddine
«رحمه الله»
Qui me manque énormément que dieu tout puissant l'accueillir dans son vaste paradis.

A tous mes cousins et cousines

A tous mes AMIS particulièrement « KASYSMEN »

A ceux qui m'ont soutenu pour la réalisation de ce travail

Et à tous ceux qui m'aiment

Abdelkader

Dédicaces

A mon très cher ***Père,*** *qui a travaillé dur pour ma réussite*
Que Dieu te protège et t'accorde santé et longue vie Je t'aime tellement …

A ma très chère ***mère****, Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études*
Qu'ALLAH te protège et te donne la santé, le bonheur et longue vie.

A ma grand-mère et mon grand père
رحمهما الله واسكنهما فسيح جنانه
qui m'ont donné des conseils et des prières toute ma vie .

A tous mes frères et mes sœurs, je vous souhaite le bon succès …

A mes amis sans exception ,à tous ceux qui me sont chers et a toutes les personnes qui nous ont aidé et nous ont encouragé durant la réalisation de ce travail

ABDELMALEK

Dédicaces

Je dédie ce travail

A toute ma famille, à ma chère mère et mon cher père qui ne m'ont jamais quitté, Qui ont veillé à ce que je sois ce que je suis devenu maintenant.

A mes chers frères

A mes chères sœurs

A tous mes collègues de la promotion 2021

A tous les amis que j'ai connu dans ma vie

Salah

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Exemples de quelques monoterpènes	8
02	Structures de quelques alcaloïdes	8
03	Structure de quelques huiles essentielles	9
04	Structures de quelques de polyphénols	10
05	Structure chimique générale des flavonoïdes	10
06	Illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de Pétri	11
07	*Globularia alypum*	14
08	*Asparagus officinalis*.	20
09	Photo du dispositif d'extraction (évaporation relative).	29
10	Schéma d'extraction	30
11	Protocole expérimental du dosage des phénols totaux	32
12	Les teneurs en polyphénols totaux des extraits de *Globularia alypum* et *d'asparagus officanalis*	32
13	Protocole expérimental du dosage des flavonoïdes.	33
14	La teneur en flavonoïdes des extraits de *Globularia alypum* et *d'asparagus officinalis*.	34
15	Structure de 2.2 - Diphényl-1picrylhydrazyl libre et sa forme reduite	36
16	Préparation de la solution de DPPH	36
17	Préparation des extraits de *Globularia alypum* et *d'asparagus officinalis*.	37
18	Protocole expérimental de l'activité scavenger du DPPH	37

19	La détermination du pouvoir antioxydant	**38**
20	Préparation de l'inoculum	**39**
21	Ensemencement par écouvillonnage	**40**
22	Préparation des disques	**41**
23	Préparation des extraits éthanoliques du gel antibactérien	**42**
24	Préparation des dilutions des solutions hydroalcoolique	**43**
25	Ensemencement des solutions	**44**
26	Protocole expérimentale d'activité anti-inflammatoire	**46**
27	Présentation du rendement des extraits de *Globularia alypum* et *d'Asparagus officinalis*.	**47**
28	Teneurs en polyphénols totaux des extraits de *Globularia alypum* et *d'Asparagus officinalis*.	**49**
29	Teneurs en flavonoïdes des extraits de *Globularia alypum* et *d'Asparagus officinalis*.	**51**
30	Histogramme représentent les valeurs d'IC50 des extraits étudiés.	**53**
31	Résultat de l'effet antibactérienne des entraits *d'Asparagus officinalis*.	**58**
32	Résultat de l'effet antibactérienne des entraits de *Globularia alypum.*	**60**
33.A	Boites contenant la solution bactérienne et le gel hydro alcoolique**.**	**62**
33.B	Bactéries prélevées des mains	**62**
34	Pourcentage de réduction d'œdème par l'extrait de *Globularia alypum*	**67**

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
01	La Taxonomie de *Globularia alypum*	12
02	La Taxonomie de *Asparagus officinalis*	15
03	Plantes étudiées, leur date et région de récolte	28
04	Préparation des différentes dilutions d'extrait dans le DMSO	41
05	Les taux d'extraction de *Globularia alypum* et *d'Asparagus officinalis*.	47
06	Activité antiradicalaire des extraits de *Globularia alypum et d'asparagus officinalis*.	52
07	Résultat d'antibiogramme sur les souches référentielles	57
08	Activité antibactérienne des extraits d'*Asparagus officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm,	57
09	Activité synergique des extraits de *Globularia alypum* exprimée par les diamètres des zones d'inhibition en mm.	59
10	Pourcentage de reduction d'oedeme	67

Liste des abréviations

AA : Acide Ascorbique.

AlCl3 : Chlorure d'aluminium.

ATB : Antibiotique...

DPPH : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.

EAG/g d'extrait : équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

EETi : Extrait éthanolique tige de *Globularia Alypum.*

EEFe : Extrait éthanolique feuille de *Globularia Alypum*

EEFl : Extrait éthanolique fleure de *Globularia Alypum*

EETf : Extrait éthanolique tige feuillée *de Asparagus officinalis*

EETh : Extrait éthanolique tige herbacé *de Asparagus officinalis*

EERc : Extrait éthanolique racine *de Asparagus officinalis*

EQ/g d'extrait : équivalent quercétine par gramme d'extrait..

GA: *Globularia Alypum.*

ASP: *Asparagus officinalis*

.**IC50 : Concentration** Inhibitrice de 50 %.

MH : Mueller Hinton.

Na2CO3: Carbonate de Sodium.

WO4-2: Phosphotungstic

Table des matières

Résumé

Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux

Introduction générale.....1

Partie bibliographique

Chapitre I : Caractéristique générales des plantes médicinale

I. CARACTERESTIQUE GENERALES DES PLANTES MEDICINALE.....6

I.1. Les plantes médicinales 6
I.1.1. Conservation et stockage des plantes médicinales 6
I.1.2.Parties utilisés 6
I.1.3. Les types de préparation 7
I.2. Importance des plantes médicinales 7
I.3. La Phytothérapie 8
I.4. Différents types de la Phytothérapie 9
I.5. Les éléments actifs des plantes médicinales..... 9
I.5.1. Les Terpènes: 10
I.5.2. Les Alcaloïdes : 10
I.5.3. Les Huiles essentielles :.....11
I.5.4. Les composés phénoliques : 12

II. Les activités biologique.....13

II.1 Activité antibactérienne 13
II.1.1. Effet bactéricide et bactériostatique 13
II.1.2. Activités liés à la composition chimique des plantes médicinales 13
II.1.3. Le mode d'action..... 13
II.1.4. Méthodes de détermination d'activité antimicrobienne 14
II.1.4.1. Techniques en milieu liquide 14
II.1.4.2. Techniques en milieu solide..... 15
II.2. Activités antioxydantes.....**16**
II.2.1. Le stress oxydatif 16
II.2.2. Conséquence biologique du stress oxydatif 16
II.2.3. Les antioxydants 16

II.2.4. Classification des antioxydants 17
II.2.4.1.Classification en fonction de type d'action 17
II.2.4.2. Classification par voie d'obtention 17
II.2.5. Les sources d'antioxydants 17
II.2.5.1. Les polyphénols 17
II.2.5.2. La vitamine C ou acide ascorbique 18
II.2.5.3. La vitamine E ou tocophérol 18
II.2.5.4. Le B-carotène 18
II.2.6. Antioxydants naturels 18
II.2.6.1. Les flavonoïdes 18
II.2.6.2. Les phénols 18
II.2.6.3. Les coumarines 19
II.2.6.4. Les tanins 19
II.3. Activités anti-inflammatoire 19
II.3.1. Définition de l'inflammation 19
II.3.2. Les anti-inflammatoires 19
III.3.2.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens 20
III.3.2.2 Les anti-inflammatoires stéroïdiens 20
III.3.2.3 Les anti-inflammatoires naturelles 20
III. Description des plantes médicinales choisies 21
III.1. *Globulaire alypum* 21
III.1.1. Description botanique et systématique 21
III.1.2. Répartition géographique de *Globularia alypum* 22
III.1.3. La Taxonomie de *Globularia alypum* 22
III.1.4. Principes actifs majeurs 22
III.1.5. Usage traditionnel et courant 23
III.1.6. La composition chimique et Activités biologiques 23
III.2. *Asparagus officinalis* 24
III.2.1. Description botanique et systématique 24
III.2.2. Répartition géographique *d'Asparagus officinalis* 24
III.2.3. La Taxonomie *d'Asparagus officinalis* 25
III.2.4. Principes actifs majeurs 25
III.2.5. Usage traditionnel et courant 26

III.2.6. La composition chimique et Activités biologique.....26

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Matériel.....30

I.1. Souches microbiennes..... 30

I.2. Matériel Végétal..... 30

II. Méthodes.....31

II.1. Période et lieu d'étude..... 31

II.2. Objectif d'étude..... 33

II.3. Enquête..... 34

II.4. La récolte des plantes :..... 33

II.5. Préparation des échantillons..... 34

II.5.1. Séchage et broyage..... 34

II.5.2. Extraction des plantes par des solvants :..... 34

II.5.3. Le dosage des composés phénoliques des deux plantes..... 37

II.5.3.1. Dosage des polyphénols totaux..... 37

A/ Principe..... 37

B/ Protocole..... 37

C/ Expression des résultats..... 38

II.5.3.2. Dosage des flavonoïdes..... 39

A/ Principe..... 39

B/ Protocole..... 39

C/ Expression des résultats..... 39

II.5.4. Pouvoir antioxydant des extraits des parties aériennes et souterraine des plantes étudies..... 40

II.5.4.1. Méthodes d'étude du pouvoir antioxydant..... 40

A/ Piégeage du radical libre DPPH•(2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)..... 41

II.5.5. Evaluation de l'activité antibactérienne..... 44

II.5.5.1. préparation de l'inoculum..... 45

II.5.5.2. Préparation des disques..... 46

II.5.5.3. Aromatogramme..... 47

II.5.5.4. Incubation et lecture..... 47

II.5.6. Effet du gel antibactérien..... 48

II.5.6.1. Préparation des extraits éthanoliques..... 48

II.5.6.2. Préparation du gel antibactérien..... 46

II.5.6.3. Préparation des dilutions et ensemencement 46
II.5.7. Activité anti-inflammatoire.....50
II.5.7.1 Principe..... 50
II.5.7.2 Protocole expérimentales 50
II.5.7.3 Expression des résultats 51
II.6. Les analyses statistiques..... 52

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Les taux d'extraction.....54
II. Teneurs en composés phénoliques.....57
II.1. Teneurs en polyphénols totaux..... 57
II.2. Teneurs en flavonoïdes..... 58
III. L'activité antioxydante *in vitro*.....60
III.1. L'effet scavenger du radical DPPH..... 60
IV. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits.....64
IV.1. Antibiogramme 64
IV.2. L'inhibition de la croissance bactérienne 66
IV.3. L'activité antibactérienne du gel hydro alcoolique..... 71
V. Activité anti-inflammatoire *in vitro* 72
Conclusion.....74

Références bibliographiques
Annexes

Résumé

Notre travail porte sur l'étude des activités antioxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires des extraits provenant de deux plantes médicinales de la région de Médéa : *Globularia alypum* et *Asparagus officinalis* et l'étude de la phytochimie de ces plantes. Les extraits ont été préparés, par deux solvants, eau distillée à l'état pur et éthanol+eau (70%+30%) afin de varier la polarité du solvant.

Les résultats indiquent que, les meilleurs rendements pour les deux plantes sont obtenus par l'extrait Ethanol+eau (70%+30%) de Tige herbacée d'Asparagus, et l'extrait Ethanol+eau (70%+30%) des fleurs globulaire.

L'effet antibactérien des extraits est évalué par la technique de diffusion sur l'agar vis-à-vis six souches référentiels ATCC, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa,Bacillus subtilus, Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus Epidermidus* . Les extraits de *Globularia alypum* et d*'Asparagus officinalis* ont montré une activité antimicrobienne contre la plupart des souches testées, la meilleure activité inhibitrice était contre *Enterococcus faecalis* par les racines d'asperge, et par les feuilles de globulaire contre *Escherichia coli.*

L'évaluation quantitative des composés phénoliques par la méthode de Folin à montré que la quantité de polyphénols dans l'extrait de *Globularia alypum* est proche à celle *d'Asparagus officinalis*.

Le dosage des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium a révélé des bons teneurs pour *Globularia alypum* et *Asparagus officinalis*.

Les extraits de *Globularia alypum et d'Asparagus officinalis* ont présenté une importante activité anti-radicalaire envers le DPPH. L'EE-Fe, l'EE-Tf et l'EE-Ti présentent les extraits les plus actifs.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait de Globularia alypum (38,97%) est importante et qui est proche de la valeur trouvé en utilisent Ibuprofène comme référence (54,88%).

Mots clés : activité antimicrobienne, activités antioxydantes, polyphénols, flavonoïdes, Globularia alypum, *Asparagus officinalis*, DPPH

Abstract

Our work focuses on the study of antioxidant and antibacterial activities of extracts from medicinal plants, *Globularia alypum* and *Asparagus officinalis* and the study of the phytochemistry of these plants. The extracts were prepared, by two solvents, distilled water in pure state and ethanole water at 70% and 30% in order to vary the polarity of the solvent.

The results indicate that, the best yields for both plants are obtained by the extract Ethanol+water (70%+30%) of the buds of Asparagus and by the extract Ethanol+water (70%+30%) of the globular flowers

The antibacterial effect of the extracts is evaluated by the agar diffusion technique against six ATCC reference strains, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilus, Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus Epidermidus*. The extracts of *Globularia alypum* and *Asparagus officinalis* showed antimicrobial activity against most of the tested microorganisms, the best inhibitory activity was against *Enterococcus faecalis* by the asparagus roots, and also by the globularia leaves against Escherichia coli.

Quantitative evaluation of phenolic compounds by Folin method showed that the amount of polyphenols in *Globularia alypum* extract is close to that of *Asparagus officanalis* .

Flavonoid determination by aluminum trichloride method revealed good contents extract for Globularia alypum and Asparagus officinalis.

Globularia alypum and *Asparagus officanalis* extracts presented significant anti-free radical activity towards DPPH. EE-Fe, EE-Tf and EE-Ti presented the most active extracts which had significant anti-free radical activity towards DPPH .

The anti-inflammatory activity of Globularia alypum extract (38.97%) is significant and which is close to the value found using Ibuprofen as a reference (54.88%).

Keywords: antimicrobial activity , anti-free radical activity, polyphénols , flavonoïdes, Globularia alypum , *Asparagus officinalis,* DPPH

الملخص

الهدف من هذه المذكرة دراسة فعالية مستخلصات النباتات الطبية *Globularia alypum* و *Asparagus officinalis* كمضادات للميكروبات و للأكسدة. ودراسة الكيمياء النباتية لهاتين النبتتين. تم تحضير المستخلصات بمذيبين ، ماء مقطر نقي فقط و 70٪ إيثانول , 30٪ ماء من أجل تغيير قطبية المذيب.

تشير النتائج إلى أن أفضل مردودية للنبتين يتم الحصول عليها من مستخلص الإيثانول + الماء (70٪ + 30٪) ل EE TH، ومستخلص الإيثانول + الماء (70٪ + 30٪) ل EE FL.

يتم دراسة تأثير المستخلصات كمضادة للبكتيريا بواسطة طريقة انتشار الاقراص في الوسط الصلب ضد ستة سلالات مرجعية *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli* ، Pseudomonas aeruginosa ، *Bacillus sibtilus* ، *Staphylococcus Epidermidus* ، *Enterococcus faecalis*. حيث أظهرت مستخلصات *Globularia alypum* و *Asparagus officinalis* نشاطًا مضادًا للبكتيريا ضد معظم الكائنات الحية الدقيقة التي تم اختبارها ، وكان أفضل نشاط مثبط ضد *Enterococcus faecalis* بواسطة EE RC d'*Asparagus officinalis* ،و نشاط EE FE de Globularia alypum ضد بكتيريا *Escherichia coli* .

أظهر التقييم الكمي للمركبات الفينولية بطريقة Folin أن كمية polyphenol في مستخلص *Globularia alypum* قريبة من القيمة المحصلة من مستخلص *Asparagus officinalis*.

كشف تحديد مركبات الفلافونويد بواسطة طريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم عن قيم جيدة لمستخلصات *Globularia alypum* و *Asparagus officinalis*.

أظهرت مستخلصات *Globularia alypum* و *Asparagus officinalis* نشاطا مهما كمضادات للأكسدة تجاه *DPPH* و EE-Tiو EE-Fe , EE-Tf هي من أكثر المستخلصات نشاطا .

أظهر مستخلص Globularia alypum نشاط مضاد للالتهاب مهم بقيمة 38.97٪وهو قريب من القيمة التي تم العثور عليها باستخدام Ibuprofen كمرجع (54.88٪).

الكلمات المفتاحية : DPPH, *Asparagus officinalis*, Globularia alypum , flavonoïdes, polyphénols , نشاط مضاد للأكسدة , نشاط مضاد للجراثيم .

Introduction générale

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent un très large éventail d'activité biologique. Cependant, l'évaluation de ces activités demeure une tache très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études. Dans la lutte perpétuelle contre les infections microbiennes, les antibiotiques ont été considérés comme l'arme absolu. Mais le phénomène de l'antibiorésistance à travers les différents genres et espèces et les effets secondaires des médicaments de synthèse, sous-estimé ont remis d'actualité la phytophiliéres **(Mazari et *al.*, 2010)**.

L'Algérie de part sa grande superficie et la variation du climat en partant du nord au sud et de l'est à l'ouest, la diversité des espèces se trouve confronté à des variations de différentes natures ce qui entraine une variation même au sein d'une même espèce des lors qu'elle occupe des biotopes différents.

Les plantes médicinales sont largement utilisées en médecine traditionnelle dans les traitements des diverses pathologies et infections grâce à leurs propriétés biologiques intéressantes, représentées essentiellement par les activités anti-oxydantes et antimicrobiennes dus à leur richesse en composés phénoliques **(Hennebelle et *al.*, 2004).**

Les plantes ne sont pas seulement utilisées comme nourriture, mais grâce à leurs avantages médicaux, elles peuvent également être utilisées pour le traitement de diverses maladies. L'évaluation de l'importance de leur potentiel peut donc aider à mieux comprendre la valeur médicinale de ces plantes **(Pandey et *al.*, 2006).** Pour cette raison, les plantes médicinales ou comestibles ont été intensivement étudiées ces dernières années afin de trouver des composés ayant des capacités antioxydantes, capables de protéger contre un certain nombre de maladies **(Kindl et *al.*, 2015).**

Le développement des techniques d'analyse chimique a permis de révéler qu'une espèce végétale peut synthétiser des milliers de constituants chimiques différents, ceux-ci appartiennent à deux types de métabolismes : primaire et secondaire. Le métabolisme secondaire, modelé par le temps et l'évolution, caractérise le profil chimique original de chaque espèce végétale, conduisant à une grande biodiversité moléculaire **(Wichtel et *al.*, 1999).**

Un intérêt considérable a été suscité aux huiles essentielles extraites à partir de plantes aromatiques et dotées d'activités antimicrobiennes vis-à-vis des microorganismes pathogènes **(Alzoreky et Nakahava, 2003)**.

Globularia alypum est une plante riche en minéraux et antioxydants telles que les composés phénoliques. Cette fameuse espèce est dotée d'un pouvoir anti-inflammatoire, antidiabétique, antibactérien, et utilisée pour le traitement des maladies gastro-intestinales **(Khlifi et *al.*, 2011).**

Le genre *Asparagus* présente un intérêt notamment pour leur utilisation nutritionnelle et médicinale. Asparagus est une source précieuse de composés importants et de nutriments essentiels, d'oligosaccharides **(Fukushi et *al.*, 2000).** En outre, ces plantes contiennent des flavonoïdes (principalement de la rutine) et des composés phénoliques, qui ont tous deux de puissantes propriétés antioxydantes **(Makris et *al.*, 2001).**

Quelles sont les plantes médicinales dans notre région ? Et quels sont les caractéristiques de ces plantes ?

Dans cette optique, notre travail porte sur l'évaluation des activités biologiques de l'extrait aqueux et éthanol+eau (70%+30%) d'*Asparagus officinalis et de Globulaire alypum* de la région de Médéa, ainsi que la détermination de leur activité antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire.

Notre mémoire est composé alors de deux grandes parties:

La première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est divisée en deux chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude des plantes médicinales. Le second chapitre traite la valorisation des ressources végétales par une meilleure connaissance de la composition chimique et de l'activité biologique des extraits des plantes.

la seconde partie expérimentale est divisée en :

- une partie qui décrit en détail le matériel végétal et le matériel de laboratoire utilisées ainsi que la démarche pratique adoptée pour la réalisation de ce travail à savoir :

1. L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de chaque plante selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH.
2. L'evaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits vis-à-vis six souche bactérienne (*Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidus, Escherichia coli, Enterococcus faecalis , Bacillus sibtilus et Pseudomonas aeruginos*).

3. L'évaluation de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans l'extrait éthanolique des deux plantes.

4. L'evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de la tige de *Globularia alypum*.

- Une deuxième partie consacrée aux résultats obtenus et leur discussion.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale et des perspectives.

Partie bibliographique

« Le don d'une plante utile me parait plus précieux que la découverte d'une mine d'or et d'un monument plus durable qu'une pyramide » Bernardin de Saint-Pierre.

Chapitre I : Caractéristique générales des plantes médicinales

I. CARACTERESTIQUE GENERALES DES PLANTES MEDECINALES

I.1. Les plantes médicinales

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Elles sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses **(Farnsworth *et al.*, 1986).**

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj *et al.*, 2007)**

Une plante médicinale est un végétal doué d'un effet thérapeutique sur l'organisme sans être toxique à dose normale (**Debuigne et *al.*, 2009).**

Les effets des plantes médicinales sont traditionnellement connus mais leurs vertus thérapeutiques peuvent varier en fonction de la partie utilisée de la plante **(Colette, 2004)**

I.1.1.Conservation et stockage des plantes médicinales

Des conditions de stockage sont indispensable pour garantir la qualité des plantes médicinales, ce stockage s'effectuera dans un locale aéré, sec, obscur à une température comprise entre 15 et18°C ; cet endroit sera maintenu en excellent état de propreté **(Ghestem et *al.*, 2008).**

Les durés limites de bonne conservation sont les suivantes :

- ✓ 1 à 2 ans pour les organes fragiles les fleurs, feuilles, sommités fleuries
- ✓ 2 à 4 ans pour les organes résistant les racines, écorces

Un soin particulier devra être apporté à l'emballage en préférant le métal, le carton **(Catier et *al.*, 2007).**

I.1.2.Parties utilisés

Les différentes parties des plantes utilisée dans la pharmacopée traditionnelles, sont de véritables usines chimiques, qui produisent des substances naturelles biologiquement actives. la récolte des plantes se fait au moment ou la teneur en substances actives est à son point optimal **(Schauenberg et *al.*, 2010).**

Nous pouvons citer comme exemples de parties utilisées, les racines, les écorces, les sommités fleuries, les feuilles, les fleurs, les fruits ou encore les graines et elles peuvent être gardées entières ou fragmentées, Dans certain cas en peut utiliser la plante entière **(Chabrier, 2010).**

I.1.3.Les types de préparation

L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement s'effectue par plusieurs méthodes :

- **Infusion :** elle consiste à verser de l'eau bouillante sur les plantes (ou encore à déposer les plantes dans le récipient contenant l'eau bouillante) au moment précis où l'eau entre en ébullition. On couvre le récipient et en laisse infuser le temps nécessaire, le temps d'infusion est variable suivant la nature de la plante de dix minute a une heure **(Debuigne et *al.*, 2009).**
- **Décoction :** Elle consiste à maintenir la drogue avec de l'eau à ébullition pendant une durée de 15 à 30 minutes. Elle convient aux plantes "dures " (écorces, racines, fruits et certaines feuilles). **(Sebai et Boudali, 2012)**
- **Macération :** solution obtenus en traitant pendant un temps plus au moins long une plante par immersion dans l'eau froide, de l'huile pour extraire les principes solubles **(Beloued ,2009).**
- **Cataplasme :** consiste à faire chauffer la plante pendant 2min, la presser pour en extraire le liquide ensuite appliqué sur la peau**.(Isrin , 2008).**

I.2.Importance des plantes médicinales

L'organisation Mondiale de la Santé **(OMS, 2002)**, estime qu'environ 80% de la population mondiale dépend de la médecine traditionnelle pour les soins de santé primaires. Plus de la moitié de la population mondiale utilise principalement des plantes médicinales pour se soigner **(Sheng-Ji, 2001).**

Les plantes médicinales servent pour la production de produits pharmaceutiques, thés, onguents, crèmes et autres produits naturels **(Farnsworth et Soejarto, 1991).**

Environ 90 espèces servent à la production des médicaments industriels les plus importants et les remèdes traditionnels utilisés dans les pays en développement sont généralement élaborés à partir de mélanges d'herbes issus de collectes sauvages **(Farnsworth et Soejarto, 1991).** Les plantes sont donc la source principale de substances actives, et pas uniquement dans la médecine traditionnelle.

I.3.La Phytothérapie

La phytothérapie **(En grec, *Python* = végétal et *Therapein* = soigner)** peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou

certain états pathologique au moyen de plantes, de partie de plantes ou de préparation à base de plantes, qu'elles soient consommés ou utilisé en voie externe **(Wichtl et *al.*, 2003).**

Seules les plantes ayant fait preuve de leurs vertus médicinales ont un intérêt en phytothérapie.

Les parties les plus concentrées en principes actifs seront choisies donc il peut s'agir de la plante entière, des feuilles, de la tige, des rameaux, des sommités fleuries, de l'écorce, des racines, des fruits ou des fleurs, utilisées fraîches ou sèches. **(Bourry, 2013)**.

Une telle définition devrait inclure, d'après **(Sofowora, 2010)** les cas suivants :

- Plantes ou parties de plantes à usage médicinal dans des préparations Galéniques (Décoctions, infusions, etc. . .) comme l'écorce de bourdaine.
- Plantes utilisées pour l'extraction des substances pures soit pour usage médicinal direct ou pour l'hémi synthèse de composés médicinaux.
- Aliments, épices et plantes de parfumerie à usage médicinal, comme le Gingembre.
- Plantes microscopique (Champignons, actinomycètes) employées pour l'isolement de produit pharmaceutiques, en particulier d'antibiotiques.

On peut citer l'ergot du seigle (*Claviceps purpurea*) ou (*Streptomyces guseus*).

-Plantes à fibres (comme le coton, le lin, le jute) utilisées pour la préparation des pansements chirurgicaux.

La phytothérapie est profonde, douce et respectueuse du corps : Tout cela est vrai mais pourquoi ?

L'action de la plante selon Scimeca en **(2006)** est :

- **Pharmacologie** et **rationnelle** : Car c'est la présence de molécules très complexes (les principes actifs) que la plante agit.
- **Systématique** et **holistique** : Car une plante n'agit pas sur un seul organe ou une seule cellule mais sur un organisme entier, c'est un système complexe de millions de molécules (la plante) qui entre en résonances avec un autre système complexe de molécules (L'être humain).
- **Globale :** Par cette notion de **Totum** qui est le terme propre à la Phytothérapie pour indiquer que dans une plante, tout agit. La plante entière a toujours une action plus douce, plus large et plus profonde que la substance dite active ou isolée (**Tètau, 2005).**

I.4.Différents types de la Phytothérapie

Selon Strang **(2006).** La phytothérapie est devisée en cinq types différents selon leur mode d'utilisation.

- **L'Aromathérapie :** Est une thérapeutique qui utilise les essences des Plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.
- **La Gemmothérapie :** Elle fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicelles.

Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plantesèche que le sujet avale.

- **L'Homéopathie :** Cette dernière a recours aux plantes d'une façon prépondérante mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.
- **La Phytothérapie pharmaceutique :** Ce type base essentiellement sur des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats…etc.

I.5.Les éléments actifs des plantes médicinales

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (Acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires. De nos jours, un grand nombre de ces composés sont utilisés en médecine moderne et une majorité de ceux-ci le sont selon leur usage traditionnel.

I.5.1.Les Terpènes:

Contient une unité à cinq atomes de carbones appelé isoprène (Figure 2) de formule C5H8 , (Cité par Girouard et *al*2000). Plusieurs sont isolés a partir des fleurs, des tiges, des racines et différent partie des plantes **(Hartwig et *al.*, 2006).**

Les terpènes sont classés en fonction du nombre d'unité isoprène qui les composent (monoterpène , diterpène ..ect) **(Mc Murry et *al.*, 2009).**

De nombreux composé terpénique sont employé en parfumerie et cosmétique ou dans divers ses autre industrie (alimentaire comme aditifs), plusieurs d'entre eux jouent des rôles biologiques importants (antimicrobien, insecticide …ect) **(Jamart et *al.*, 2009 ; Ayad, 2008).**

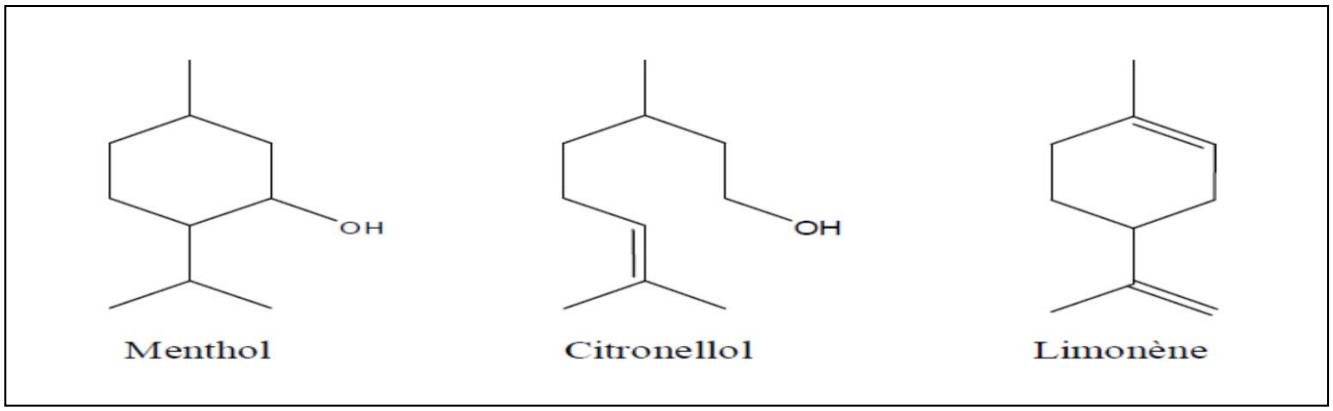


Figure 1 : exemples de quelques monoterpènes **(Ayad , 2008)**

I.5.2.Les Alcaloïdes :

Les Alcaloïdes forment un groupe important de substances naturelles d'intérêt thérapeutique par leur diversité structurale et l'éventail de leurs activités pharmacologiques. Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques et présentant une forte activité antioxydante, ils ont une structure complexe, leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique (Figure 2) (Bruneton, 1999 ; Diallo, 2005).

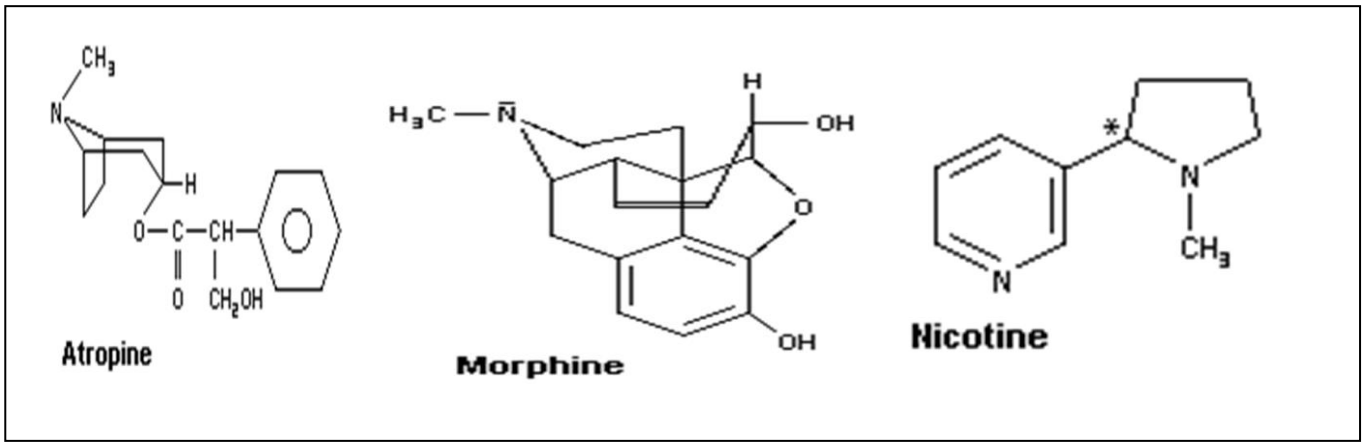


Figure 2: Structures de quelques alcaloïdes **(Bouchelta *et al*, 2005).**

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin, et de structure complexe (Noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes,

la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un gout amer et certains sont fortement toxiques **(Wichil et Anton, 2009).**

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (Nicotine, caféine, morphine, lupinine) **(Hopkins, 2003).**

I.5.3. Les Huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés aromatiques des plantes. Ce sont des extraits volatils et odorants que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, solvant, pressage ou incision des végétaux qui les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Les végétaux sont plus riches en essences dans une période chaude et ensoleillée: ce sera donc le meilleur moment pour les cueillir **(Mohammedi, 2006).**

La composition des huiles essentielle est très complexe, il existe deux type chimique : les composés terpéniques et Les composés aromatiques dérivés du phényl propane (**Charpentier et *al.*, 2004).**

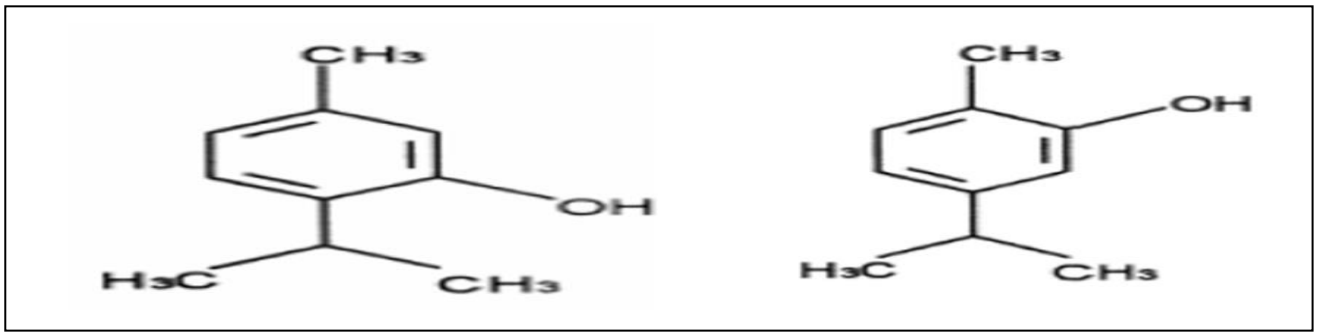


Figure 3: structure de quelques huiles essentielles **(Schwämmele, 2001)**

I.5.4.Les composés phénoliques :

I.5.4.1. Polyphénols

Les polyphénols, groupe de molécules de structures variées, trouvent d'ores et déjà une large utilisation en phytothérapie **(Hennebelle et *al.*, 2004).**

Ce sont des métabolites secondaires qui se trouvent dans toutes plantes et dont vertus thérapeutique des plantes médicinales sont attribués. **(Balasundram et *al.*, 2006).**

Les composée phénoliques ont tous en commun la présence d'un cycle benzénique ou plusieurs portant une ou plusieurs fonction hydroxyles libre ou engagés dans une autre fonction chimique (ester, osidique). leur poids moléculaire varie 500 à 3000 Dalton **(Macheix et *al*., 2006).**

Les composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qu'on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés photochimiques poly hydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à six carbones. Ils subdivisent en sous classe principales ; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins **(Sarni-Manchado et Cheyiner, 2006).**

Comme ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes, elles ont un rôle principale à la vie de plante, à la défense contre les pathogènes ; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et la protection contre les rayonnements UV ; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires **(Sarni-Manchado et Cheyiner, 2006).**

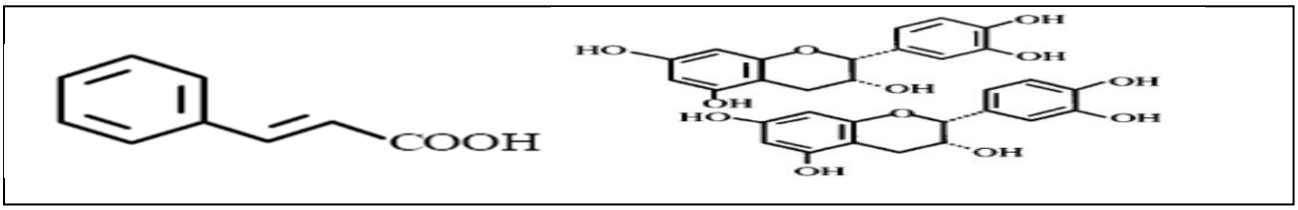


Figure 4 : structures de quelques de polyphénols (Bruneton, 1999).

I.5.4.2.Flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) C'est le groupe le plus répandu des composés phénoliques dans le règne végétal, ont un squelette de base de quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 (Figure 8), constitués de 2 cycles aromatiques A et B reliés par une chaine en C3 qui forme un hétérocycle oxygéné C **(Guignard, 2001),**

Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments universels des végétaux, où sont responsables des couleurs vives des fleurs, fruits et feuilles, les anthocyanes pigments rouge ou bleu, les flavones et les flavonols de couleur crème ou jaune clair **(Marfak, 2003**).

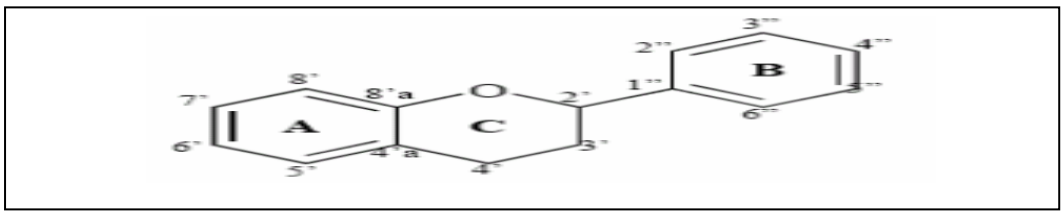


Figure 5 : Structure chimique générale des flavonoïdes **(Havsteen, 2002).**

II. Les activités biologique

II.1.Activité antibactérienne

II.1.1.Effet bactéricide et bactériostatique

Les vertus antimicrobiennes des plantes médicinales sont connues et utilisés depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises (**Hala, 2000).**

À la manière des agents chimiques, on distingue deux sortes d'effets de ces plantes sur les microorganismes : une activité létale dite bactéricide et fongicide et une inhibition de la croissance dite bactériostatique **(Carson et Riley, 1995).**

II.1.2.Activités liés à la composition chimique des plantes médicinales

L'activité antimicrobienne des extraits des plantes médicinales est principalement liée à leur composition chimique et en particulier à la nature de leurs composés majoritaires.

En effet, il est admis que l'activité antimicrobienne de ces plante se classe dans l'ordre décroissant suivant la nature de leurs composés majoritaires : Phénol > alcool > aldéhyde >cétone > oxyde > hydrocarbure > ester **(Lee et *al*., 1971, Franchomme, 1981).**

II.1.3.Le mode d'action

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des plantes, il est probable que leurs activités antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire **(Carson et *al.*, 2002).**

Le mode d'action est dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leurs propriétés hydrophobe qui leurs permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions K+ : ce mécanisme a été observé avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries Gram+ (*S. aureus*) et Gram- (*E. coli*) et levure (*Candida albicans*) *in vitro* **(Cox et *al*, 2000, Carson et *al*, 2002, Ultée et *al*, 1999).** Ont montré que le carvacol provoque un effet inhibiteur chez *Bacillus cereus,* cet effet réside dans une forte diminution de l'ATP intracellulaire, une réduction du potentiel membranaire et du pH intracellulaire et aussi une influence sur le flux de potassium (intra et extracellulaire). Ceci témoigne de l'endommagement de la membrane cytoplasmique.

Le mode d'action des extaits des plantes médicinales dépend aussi du type de microorganismes : en général, les bactéries Gram- sont plus résistantes que les Gram+ à cause de la structure de leurs membranes externes. La membrane extérieure des Gram- est plus riche en lipo-polysaccharides (LPS) et en protéines que celle des Gram+ qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux LPS membranaires grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable **(Dorman et Deans, 2000).**

II.1.4. Méthodes de détermination d'activité antimicrobienne

A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide **(Rhayour, 2002).**

II.1.4.1. Techniques en milieu liquide

A/ Méthode des disques de Sarbach

L'essence est déposée à différentes concentrations sur des disques en papier filtre de 9 mm de diamètre, l'ensemble est placé dans des tubes à essai, dans chaque tube est réparti un certain volume de bouillon nutritif ensemencé. Une agitation mécanique est assurée pendant toute la durée de l'incubation. L'action bactéricide totale est confirmée par repiquage en milieu liquide d'une anse prélevée sur le milieu liquide de subculture. Le pouvoir bactéricide partiel est apprécié par l'évaluation du pourcentage de survivants par repiquage en milieu solide **(Rhayour, 2002).**

B/ Méthode de Maruzuella

Elle permet l'étude du pouvoir bactéricide en bouillon. Les solutions mères sont préparées dans l'éthanol 95%, la solution alcoolique est ensuite répartie à différentes doses dans le milieu liquide préalablement ensemencé. Après la durée d'incubation, on effectue des subcultures qui permettent d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) (**Rhayour, 2002).**

II.1.4.2. Techniques en milieu solide

A/ Méthode de diffusion en puits ou en cylindre

La méthode consistait à découper un trou circulaire vertical dans la gélose et à y verser une solution d'extraits de concentration connue. L'extrait diffus radialement créait une zone d'inhibition circulaire

à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne **(Dorman et Deans, 2000).**

B/ Aromatogramme

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés d'une quantité variable de l'extaits de plante sélectionnée. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, l'absence de la croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque (zone d'inhibition) dont le diamètre est mesuré par cm ou mm. **(Fauchère et Avril, 2002)**

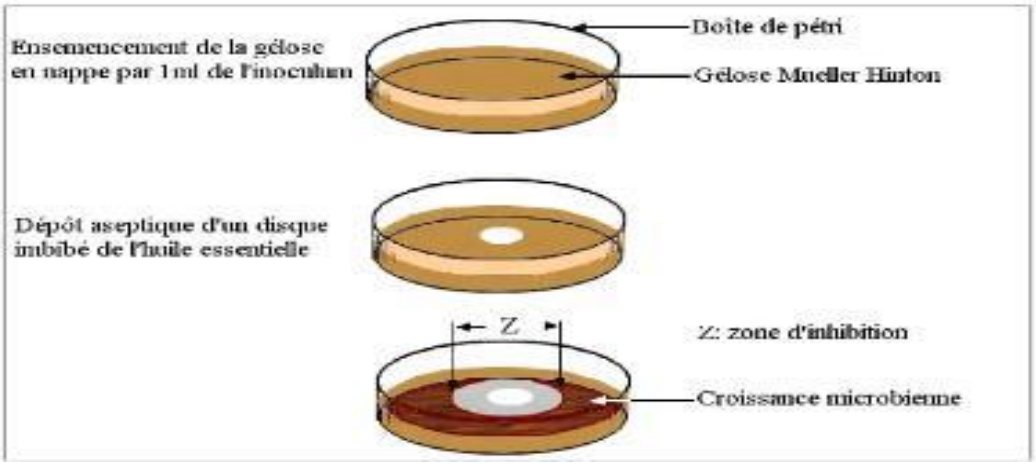


Figure 6 : Illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de Pétri **(Zaika, 1988).**

II.2.Activités antioxydantes

II.2.1.Le stress oxydatif

Le stress oxydatif corresponds au déséquilibre entre la génération des espèces réactives de L oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs, c-à-d un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants impliquant la production d'espèces réactives de l'oxygène **(Pincemail et *al.*, 1999, Boyd et *al.*, 2003, Pelletier et *al.*, 2004).**

Ces espèces sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés **(Jacques et *al.*, 2004)**,

Cette molécule est très instable et réagie rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaine débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre **(Martinez-Cayuela, 1995).**

Acquérir la stabilité, une réaction en chaine débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre **(Martinez-Cayuela, 1995).**

Les principales espèces réactives de l'oxygène sont : l'anion superoxyde (O2), le peroxyde d'hydrogène (H2O2) ou le radical hydroxyle (OH°) et le monoxyde d'azote (NO).**(Gutteridge et *al.*, 1993. Jacques et *al.*, 2004).**

II.2.2. Conséquences biologiques du stress oxydant

Elles seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogénèse, malformation. Des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression **(Favier, 2003).**

II.2.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances permettant de prévenir ou de retarder l'oxydation catalytique et le rancissement naturel **(Madrid Vicente, 2000).** Ces propriétés expliquent le grand intérêt pour leur utilisation comme additif dans les domaines alimentaires, cosmétique et pharmaceutique. Ces molécules sont capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres avant que les molécules vitales ne soient endommagées.

Chaque molécule antioxydante ne peut réagir qu'avec un seul radical libre et par conséquent, il faut constamment refaire le plein de ressources antioxydants **(Pelli et *al.*, 2003).**

Elles sont présentes dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire **(Tanguy et *al.*, 2009).**

II.2.4.Classification des antioxydants

II.2.4.1.Classification en fonction de type d'action

Les antioxydants primaires sont les molécules qui permettent le piégeage des radicaux libres et celles qui n'impliquent pas directement la captation des radicaux libre sont considérées comme antioxydants secondaires, elles agissent comme chélateurs d'ions capables de catalyser l'oxydation, en transformant les hydro peroxydes en espèces non radicalaires. Il existe aussi des antioxydants montrant une activité antioxydante uniquement en présence d'autres antioxydants comme l'acide citrique par exemple **(Pokorný, 2007).**

II.2.4.2.Classification par voie d'obtention

Elles peuvent être obtenues par : Synthèse chimique, on parle des antioxydants synthétiques, ou par extraction à partir des sources naturelles, on parle des antioxydants naturels.

II.2.5. Les sources d'antioxydants

En plus des substances propres à l'organisme, les médicaments, l'alimentation et les plantes peuvent être également des sources d'antioxydants.

II.2.5.1. Les polyphénols

Sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal, ont des propriétés antioxydantes. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition comme le fer (empêchant ainsi la réaction de Fenton) ou par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des ERO comme la xanthine oxydase **(Charles, 2013).**

II.2.5.2. La vitamine C ou acide ascorbique

C'est un puissant réducteur. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. Il est présent dans les légumes, le choux, le poivron, les agrumes **(Ekoumou, 2003).**

II.2.5.3. La vitamine E ou tocophérol

Prévient la peroxydation des lipides membranaires in vivo en capturant les radicaux peroxyles. Elle est présente dans les huiles végétales, les noix, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes **(Ahamet, 2003).**

II.2.5.4. Le B-carotène

En outre l'activité pro vitaminique A, possède la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est retrouvé dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, la papaye et d'autres fruits jaunes **(Ahamet, 2003).**

II.2.6. Antioxydants naturels

En ce qui concerne les plantes médicinales bien connues et économiquement importants, nous pouvons citer l'ail et le ginkgo qui sont utilisés dans le traitement des maladies cardio-vasculaires et circulatoires dues au vieillissement **(Igor Passi, 2002).**

II.2.6.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui sont responsable dans la plupart des colorations des fleurs et des fruits. Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques Des flavonoïdes comme l'hespéridine et la rutine, présentes dans plusieurs plantes. Les relations structure activités antioxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité antioxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation **(Igor Passi, 2002).**

II.2.6.2. Les phénols

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques rattachés les glucosides. Les plantes produisent le phénol pour prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales. Parmi les dérivés phénoliques, le resvératrol possède de fortes propriétés anti oxydantes **(Igor Passi, 2002).**

II.2.6.3. Les coumarines

Les coumarines se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxyles.Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes **(Igor Passi, 2002).**

II.2.6.4. Les tanins

Toutes les plantes en contiennent à des degrés différents. Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, pour drainer les sécrétions excessives, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques donc des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides **(Cavin, 1999).**

II.3. Activités anti-inflammatoire

II.3.1. Définition de l'inflammation

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité. L'inflammation est un processus habituellement bénéfique : Son but est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, ou encore de régulations anormales du processus inflammatoire.

II.3.2. Les anti-inflammatoires

La thérapeutique anti-inflammatoire est généralement menée par des molécules de synthèses du type anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) ou stéroïdien (corticoïdes), médicaments largement utilisés mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le système rénal et digestif (irritations digestives pouvant aller jusqu'à l'ulcération gastrique) **(Das, 2011).**

II.3.2.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments à propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Ils présentent une grande hétérogénéité chimique mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme cyclooxygénase (COX) **(Bidaut-Russel, 2001)**. Les AINS traditionnels inhibent les deux enzymes capables de synthétiser des prostaglandines : la COX-1 et la COX-2. Les prostaglandines produites par la COX-1 jouent surtout un rôle physiologique (en particulier la protection gastrique), alors que celles produites par la COX-2 sont surtout produites dans des conditions inflammatoires **(Vonkeman *et al.* 2008).**

III.3.2.2 Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes se sont des dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tel que l'arthrite rhumatoïde et les maladies auto-immune **(Payne et Adcock, 2001).**

L'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables, le risque d'apparition de ces effets s'accroît avec le prolongement de la durée du traitement. Conduisant à des troubles aigus tels que l'hypertension artérielle et d'ulcères gastro-duodénaux **(Henzen, 2003).**

II.3.2.3.Les anti-inflammatoires naturelles

Les effets anti-inflammatoires des polyphénols, qui peuvent être exercées au niveau moléculaire, sont dépendants de la structure spécifique des composés polyphénoliques. Les fonctions de macrophage, y compris la production de cytokines, peut également être affectée par certains flavonoïdes par la modulation de la cyclo-oxygénase inductible (COX-2) et l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS). Plusieurs études expérimentales ont rapporté les effets immunomodulateur des composés polyphénoliques sur l'immunité humorale et cellulaire **(Neyestani, 2008 ; Madhuri *et al.*, 2008).**

III. Description des plantes médicinales choisies

III.1.*Globularia alypum*

III.1.1.Description botanique et systématique

La plante *Globularia alypum* autrement appelée Globularia est une plante classique appartenant à la famille des Globulariacées comprend deux genres dont *Globularia* et *Poskea* et d'environ trente espèces répandus en Europe et en Afrique du nord **(Quezel et Santa, 1963).**

Les plantes du genre *Globularia* sont vivaces arbustes rameux d'environ 60 cm de hauteur (30-60cm), à feuilles alternes, dont les fleurs groupées en capitules plus ou moins globuleux entourés de bractées. Les fleures ont une corolle à deux lèvres, la supérieure bilobée souvent atrophiée, l'inferieure trilobée. Elles sont en général bleues, à quatre étamines **(Leporatti et Ghedira, 2009).**

Les feuilles toutes éparses sur les rameaux, coriaces, persistantes, glauques, de forme ovale ou oblongue, atténuées en court pétiole et disposées le long et au sommet des tiges très rameuses en buisson et ordinairement dressées **(Beniston et Beniston, 1984).**

La période de la floraison se situe en hiver au début du printemps (janvier à mars/avril). Son nom *Globularia* fait référence à la forme globuleuse de l'inflorescence et le terme *alypum* vient du grec alypon qui signifie calmer la douleur. ***Globularia alypum*** appelée communément Tasselgha **(Boutiti, 2007),** « Chebra », « Chelr'a », « Zerga », « zeriga », « zouitna », « alk », « haselra », « oulbarda » **(Chograni *et al*., 2011).**



Figure 7 : *Globularia alypum* [Prise Personnelle2021].

III.1.2. Répartition géographique de *Globularia alypum*

Cette plante originaire de sud de l'Europe sur le pourtour méditerranéen jusqu'en Grèce, Afrique du nord (Algérie, Maroc jusqu'au Sahara) et Asie mineure (Egypte) en forets, dans les terrains rocailleux **(Boutiti, 2007).**

III.1.3.La Taxonomie de *Globularia alypum*

La Taxonomie de *Globularia alypum*, est donnée selon **Quezel et Santa (1963):**

Tableau 1 : La Taxonomie de *Globularia alypum* **(Quezel et Santa., 1963).**

Règne	*Plantae*
Sous-règne	*Trachebeonta*
Division	*Magnoliopsida*
Classe	*Dicotyledone*
Sous classe	*Asteridae*
Ordre	*Scrophulariales*
Famille	*Globulariaceae*
Genre	*Globularia*
Espèce	*Globularia alypum L.*

III.1.4. Principes actifs majeurs

L'étude de la composition chimique de la plante a été réalisée dans un but de découvrir les principaux produits naturels responsables de ces différentes activités thérapeutiques. Plusieurs métabolites secondaires ont été mis en évidence **:**

- **Des acides phénols:** acide p-hydroxybenzoïque, acide vanillique, acide syringique,acide cafeïque, acide 3-résorcylique, acide sinapique, acide p-coumarique et acide férulique. **(Ben Hassine et *al*., 1982).**
- **Des flavonoïdes:** La 4',7-dihydroxyflavone , l'apigénine-7-glucoside, le quercétol, le lutéoline-7-glucoside, la bayine et le rutoside. **(Ben Hassine et *al*., 1982).**
- **Des iridoïdes:** la globularine **(Maio et Panizzi, 1966)**, la Globularimine , *la* globularinine **(Chaudhuri et Sticher, 1979)** , la globularicisine, la globularidine **(Chaudhuri et Sticher, 1981),** le globulanoside. **(Es-Safi et *al.*, 2006).**
- **Un aryle glucoside:** la Syringine, un ***lignane diglucos*** :liriodendrine. **(Chaudhuri et Sticher, 1981)**
- **Des anthocyanes:** la cyanidine et la paéonidine.
- **Des phenyl ethanoïdes, (Es-Safi et *al.*, 2007).**

III.1.5. Usage traditionnel et courant

Les feuilles de *Globularia alypum* pourraient être utilisées comme une source potentielle d'antioxydants naturels. **(Khlifi *et al.*, 2005; Ben Mansour *et al.*, 2012).**

Elles sont utilisées aussi dans le traitement des maladies de la peau, et des troubles digestifs, y compris, l'estomac, douleur intestinales **(Ben Mansour et *al.* 2012)**.

Ses feuilles traditionnellement utilisées comme agent hypoglycémiant, laxatif, cholagogue, stomachique, sudorifique et purgative. **(Merghache et *al.*, 2013).**

Elle est utilisée en médecine populaire pour le traitement des rhumatismes, la goutte, la typhoïde, la fièvre intermittente et le diabète. **(Ferhi et Aiache, 2010).**

II.1.6. La composition chimique et Activités biologiques

La littérature mentionne l'isolement et la caractérisation de plusieurs composés de genre *Globularia*. Ce sont essentiellement des flavonoïdes, des polyphénols, des tannins, des anthocyanines **(Khlifi *et al*., 2011),** Glucoside (globularine), résine, mucilages, tanin, choline, chlorophylle, acide-cinnamique, acide globularique **(Chograni *et al*., 2011).**

Les iridoides glycosides constituent également des métabolites secondaires du genre *Globularia*. Ils comprennent un cyclopentane et des cycles pyranique. Ces structures sont connues pour leurs diverses activités biologiques **(Es-safi *et al*, 2006).**

Les études montrent que la Globulaire est indiquée comme purgative, sudorifique, dépurative, antiseptique, antimycosique, cicatrisante, astringente et diurétique **(Bellakhdar et *al,* 1991, Fehri et Aiache, 2010).**

Des études bibliographiques confirment que les espèces du genre *Globularia* présentent des activités: antituberculose, cytotoxiques, antioxydantes et antidiabétique **(Skim *et al,* 1999 ; Jouad *et al,* 2002; Es-safi *et al.,* 2006 ; Harzellah *et al.,* 2010).**

III.2. *Asparagus officinalis*

III.2.1. Description botanique et systématique

C'est une plante herbacée vivace. Porte-greffes rampant, épais, tubéreusement enflé, à jointures courtes. Hauteur : 60 à 150 cm. Tiges à ramifications multiples, 2 à 6 tiges en forme d'aiguille dans les verticilles. Fleur : Périanthe ordinaire (actinomorphe), jaune blanchâtre-verdâtre, large de 4 à 6 mm, fusionnée, à 6 lobes. Fleurs mâles périanthe étroitement campanulée, fleurs femelles et bisexuelles presque sphérique. Étamines 6. Gynoecium fusionné, style unique. Fleurs solitaires ou en paires – verticilles de quelques fleurs à l'aisselle des feuilles. Feuilles : Rudimentaires, écailles. Tiges axillaires en forme d'aiguille, verticillées. Fruit : Fruit rond, d'abord vert, de 6 à 10 mm (0,24 à 0,4 po) de largeur lorsqu'il est d'orange mûre **(Anonyme, 2012, Grubben, 2004).**



Figure 8 : *Asparagus officinalis*. [Prise Personnelle 2021].

III.2.2.Répartition géographique de *Asparagus officinalis*

La plante a été distribuée en Europe centrale et méridionale, au Moyen-Orient, en Sibérie occidentale et en Afrique du Nord. Elle a été cultivée dans de nombreux endroits. Elle a été distribuée en : Algérie, Maroc, Tunisie (Afrique); Afghanistan, Iran, Irak, Liban, Syrie, Turquie, Arménie, Azerbaïdjan, Géorgie, Fédération de Russie, Kazakhstan, Mongolie et Chine (Asie); Danemark, Autriche, Belgique, Tchécoslovaquie, Allemagne, Hongrie, Pays-Bas, Pologne, Suisse, Bélarus, Moldavie, Ukraine, Albanie, Bulgarie, ex-Yougoslavie, Grèce, Italie, Roumanie, France, Portugal, Espagne, Finlande, Norvège, Suède, Estonie, Lettonie et Lituanie (Europe); États-Unis et Canada (Amérique du Nord); Bolivie, Équateur, Argentine et Uruguay (Amérique du Sud) ; ainsi que l'Australie et la Nouvelle-Zélande **(Anonyme, 2012).**

III.2.3. La Taxonomie *d'Asparagus officinalis*

La Taxonomie de *Asparagus officinalis*, est donnée selon **Al-Snafi (2013)**

Tableau 2 : La Taxonomie de *Asparagus officinalis* **(Al-Snafi, 2013)**

Règne	*Plantae*
Division	*Trachéophytie*
Subdivision	*spermatophytina*
Classe	*Magnoliopsida*
Ordre	*Asperges*
Superordre	*Lilianae*
Famille	*asperges (également placées dans : lamiacées)*
Sous-famille	*asparagoideae*
Genre	*Asperges*
Espèce	*Asparagus officinalis*

III.2.4. Principes actifs majeurs

Asparagus officinalis contient des saponines stéroïdes, notamment des asparagosides A, B, D, F, G, H, I, des saponines stéroïdes amères, des acides aminés, des fructanes (asparagose et asparagosine), de l'acide férulique et des flavonoïdes (quercétine, rutine hyperoside et isoquercitrine) [Germplasm Resources Information Network, Al-Snafi AE, Nature Gate, *Asparagus officinalis*]. Parmi 23 légumes couramment consommés, l'activité antioxydante la plus élevée par rapport au poids sec a été observée dans les asperges **(Vinson *et al.*, 1998).**

Le flavonoïde connu le plus abondant dans les asperges est la rutine **(Tsushida *et al.*, 1994).** Qui représente 60-80% du contenu phénolique total des extraits d'asperges violettes et vertes. Il a été observé que la rutine dans les turions verts de 12 lignées hybrides d'asperges, allant de 0,015 à 0,45% du poids frais. Le niveau de rutine varie en fonction du génotype de l'asperge ainsi que de la localisation des tissus. Par exemple, on a constaté que la rutine était plus abondante dans la partie supérieure des turions, tandis que la partie inférieure des asperges contient une très faible quantité de rutine (moins de 0,01 % du poids frais de trois lignées d'asperges échantillonnées) **(Anonyme, 2012).** Deux anthocyanines principales (A1 et A2) ont également été isolées à partir de l'écorce des tiges *d'Asparagus officinalis.* L'A1 a été identifiée comme étant la cyanidine 3-[3"-(O-beta-d-gluco pyranosyl)-6"-(O-alpha-l-rhamnopyranosyl)-O-beta-d-glucopyranoside], tandis que l'A2 était la cyanidine 3-rutinoside, qui est largement distribuée dans les plantes supérieures. Les tests de capacité d'absorption des radicaux d'oxygène ont prouvé leurs activités antioxydantes élevées **(Sakaguchi *et al.*, 2008).**

Une étude antécédente a révélé l'isolement d'une nouvelle saponine stéroïdienne, la yamogénine II, avec une partie aglycone unique, et une structure de (25S)-spirostan-5-ène-3β-ol-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1,2)-[α-L-rhamno pyranosyl- (1,4)]-β-D-glucopyranoside à partir des tiges séchées *d'Asparagus officinalis* **(Sun *et al,* 2010).** En outre, De nombreux pigments caroténoïdes ont été isolés des fruits mûrs et non mûrs d'Asparagus officinalis, il s'agit notamment de la capsanthine, de la capsorubine, de la capsanthine 5, 6-époxyde, de l'anthéraxanthine, de la violaxanthine, de la néoxanthine, des épimères de mutatoxanthine, de la zéaxanthine, de la lutéine, de la β-cryptoxanthine, du β-carotène et de certains cis **(Deli *et al.*, 2010).**

III.2.5. Usage traditionnel et courant

Traditionnellement, les racines étaient utilisées pour les maladies inflammatoires non spécifiques des voies urinaires efférentes et pour la prévention des calculs rénaux et vésicaux (thérapie par irrigation), l'hydropisie, les affections rhumatismales, les maladies du foie, l'asthme bronchique et la

goutte. En médecine chinoise, la racine était également utilisée pour traiter la toux irritable, la toux avec du sang, la sécheresse de la bouche et de la gorge, et la constipation. L'herbe, le rhizome et la racine étaient utilisés en médecine **(Anonyme, 2012).**

III.2.6. La composition chimique et Activités biologiques

III.2.6.1. Effets antimicrobiens

On désigne par agent antimicrobien tout agent chimique, physique ou biologique empêchant la croissance et/ou la survie des micro-organismes. **(Asada et *al*., 1998)** Ces substances ayant une attirance pour les cellules des parasites et le pouvoir de les tuer plus fort que les dommages qu'elles causent à l'organisme ; ce qui rendra possible la destruction des parasites sans perturbation sérieuse de l'organisme. **(Perry et *al*., 2002)**

Les agents antimicrobiens agissent par différents mécanismes, selon les objectifs recherchés et leur spécificité d'action qui peut être germicide ou germistatique

III.2.6.2. Effets anticancéreux, antioxydants et hypolipidémiques

L'activité anticancéreuse *d'Asparagus officinalis* peut se produire via : (1) un effet antimutagène - empêchant les mutations génétiques qui peuvent précéder directement les premiers stades du développement du cancer.(2) la promotion des (enzymes de détoxification de la phase II cellulaire) qui (facilitent l'élimination des médicaments et des composés xénobiotiques) qui sont cancérigène et en soutenant la fonction hépatique globale. (3) l'amélioration synergique de l'activité antioxydante d'autres aliments végétaux. (4) l'inhibition de l'inflammation chronique (suppression de la cyco-oxygénase-2) qui jouerait un rôle dans le développement des tumeurs. (5) la promotion d'une digestion et d'une fonction immunitaire plus saines **(Anonyme I).**

Le traitement avec les saponines d'Asparagus pendant 24 heures a augmenté le niveau intracellulaire d'espèces réactives de l'oxygène et de Ca2+, a abaissé le pH, a activé le pore de transition de perméabilité mitochondriale intracellulaire et a diminué le potentiel de la membrane d'une manière dose-dépendante. Le traitement a également augmenté l'activité de la caspase-9 et de la caspase-3, diminué l'expression de Bcl2, augmenté l'expression de Bax, et induit la libération de CytC et l'activation de la caspase-3 **(Ji *et al*., 2010).**

III.2.6.3. Effets antidiabétiques

Le traitement des rats diabétiques avec l'extrait *d'Asparagus officinalis* aux doses de 250 et 500 mg/kg a supprimé l'élévation de la glycémie de manière dose-dépendante et en fonction du temps. La dose de 500 mg/kg a amélioré de manière significative les taux d'insuline sérique chez les rats diabétiques.

Des améliorations qualitatives et quantitatives de la fonction des cellules β ont été trouvées dans les îlots des rats traités par *Asparagus officinalis*. Dans la plupart des cas, l'efficacité de *Asparagus officinalis* (500 mg/kg) était très similaire à celle d'un médicament antidiabétique standard, le glibenclamide. Également amélioré le statut antioxydant total in vivo. Dans la plupart des cas, l'efficacité de *Aspragus officinalis* (500 mg/kg) était très similaire à celle d'un médicament antidiabétique standard, le glibenclamide **(Hafizur *et al.*, 2008).**

L'effet hypoglycémique de l'extrait aqueux du sous-produit de l'asperge a également été évalué dans un modèle de rat diabétique induit par la streptozotocine . L'administration continue d'AEA pendant 21 jours a réduit de manière significative les niveaux de glucose et de triglycérides sériques à jeun mais a augmenté de manière significative le poids corporel et le niveau de glycogène hépatique chez les rats diabétiques.

Partie expérimentale

« Ce que voient les yeux n'est pas le remède, lorsque la distillation aura transformé le végétal, alors le remède deviendra manifeste »
Paracelse (1493 – 1541)

Chapitre II : Matériel et méthode

I. Matériel

I.1. Matériel Végétal

- La partie aérienne de la plante *Globularia alypum* .Les feuilles, les fleurs et les tiges ont été séparées.
- La partie aérienne et souterraine de *l'Asparagus officinalis* . Coupée en tige feuillée, bourgeon et les racines.

I.2. Souches microbiennes

L'activité antimicrobienne de l'extrait d'*Asparagus et de Globulaire* a été évaluée sur plusieurs souches bactériennes qui proviennent de l'American Type Culture Collection ATCC:

Escherichia coli ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 , *Enterococcus feacalis ATCC*6569, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidus ATCC 12228 et Bacillus subtilis ATCC* 6631.

Ces souches nous ont été fournies par le Laboratoire de Microbiologie de l'université de Médéa.

II. Méthodes

II.1. Période et lieu d'étude

Notre travail a été réalisé au laboratoire de la faculté des sciences -Université de Médéa, au bloc de microbiologie de l'unité SAIDAL-Médéa et au niveau du laboratoire de Pharmaco-toxicologie unité SAIDAL d'Alger durant la période allant de Février à Mai 2021.

II.2. Objectifs d'étude

Les objectifs de cette étude sont :

- L'évaluation de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits éthanolique des deux plantes.
- L'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'extrait éthanolique de chaque plante selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH.
- L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de la tige de *Globularia alypum.*
- L'evaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits vis-à-vis six souche bactériennes de réference (*Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidus, Escherichia coli, Enterococcus faecalis , Bacillus sibtilus et Pseudomonas aeruginos*).

II.3. Enquête

La première étape de cette étude consiste une enquête effectuée auprès des herboristes et des personnes savantes dans la région. Ainsi, les données concernant les noms des plantes latin, arabe et français ont été enregistrées. Ce qui nous a permis de sélectionner deux plantes pour les étapes ultérieures**.**

II.4. La récolte des plantes

Le matériel végétal utilisé dans cette étude a été collecté le mois de février dans des régions de la wilaya de Médéa au nord d'Algérie **(Tableau 3),** la récolte concerne plusieurs parties des deux plantes choisies :

- Echantillon 1: La partie aérienne de la plante *Globularia alypum.* Les feuilles, les fleurs et les tiges ont été séparées.

- Echantillon 2: La partie aérienne et souterraine de *l'Asparagus officinalis*, coupée en tige feuillée, bourgeon et les racines.

Tableau 3 : Plantes étudiées, leur date et région de récolte

Plante	**Partie utilise**	**Région et date de récolte**	**Présentation morphologique**
Globularia alypum	Les feuilles les Fleurs Les tiges	Médéa (Ouamri) Médéa (Temezguida) Février 2021	
Asparagus officinalis	Tige feuillée Les bourgeons Les racines.	Médéa (Ben chicaou) Février 2021	

II.5. Préparation des échantillons

II.5.1. Séchage et broyage

Les deux échantillons ont été cueillis, nettoyés et débarrassés de la poussière et d'autre impurtés, puis séchées pendant 2 semaines dans un lieu relativement sec et à l'abri de la lumière.

Après séchage, les deux échantillons sont broyés à l'aide d'un mixeur de cuisine et un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, la poudre ainsi obtenue, est mis dans des boites et conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité pour la préparation des extrais aqueux.

II.5.2. Extraction des plantes par des solvants :

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs contenus dans *l'Asparagus officinalis* et *Globularia alypum* on a opté pour l'utilisation d'une méthode décrite par **(Sultana et *al.*, 2009)**.

Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

Cette méthode sera réalisée par usage de deux systèmes de solvants séparément, eau distillée pure et ce même solvant à 30% et 70% de l'éthanol dans le but de variée la polarité du solvant, donc on a fait une macération de 50 g de plante dans 500 ml de solvant pendant 24h dans un récipient fermé et

à température ambiante avec agitation. La durée de l'extraction favorisera ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante.

Après 24 h, la solution est filtrée en utilisant un compresse et du coton, les extraits hydro alcooliques obtenus seront filtrées par la suite en utilisant un papier filtre Whatman à une porosité de 0,2µm**.**

La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide d'un appareil appelé Rota- vapeur « évaporateur rotatif », l'évaporation sous vide est réalisée en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon de récupération de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande permettant donc d'effectuer une évaporation rapide.

Pour l'extrait alcoolique, l'évaporation est faite à température 45°C, et une température de 70°C pour l'extrait aqueux.

Enfin, les extraits sont récupérés dans des creusés et puis séchés à l'aide de l'étuve ou bien à l'air libre, le produit de séchage a été conservé à l'obscurité pour les analyses ultérieures.

A chaque étape, des pesés de poid des différents extraits ont été réalisés dans le but de calculer le rendement de l'extraction.

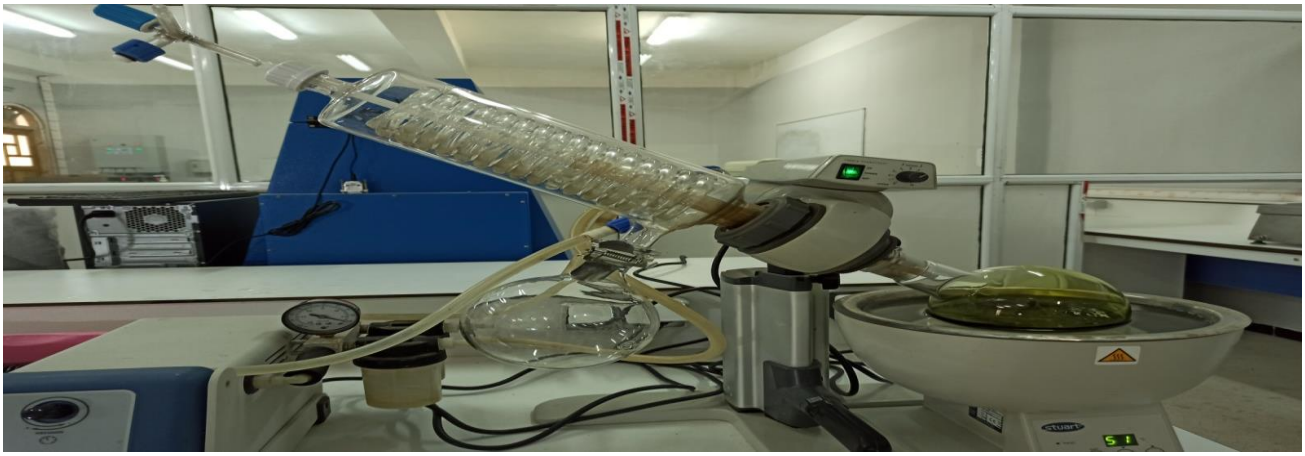


Figure 9 : Photo du dispositif d'extraction (évaporation relative). [Prise Personnelle2021].

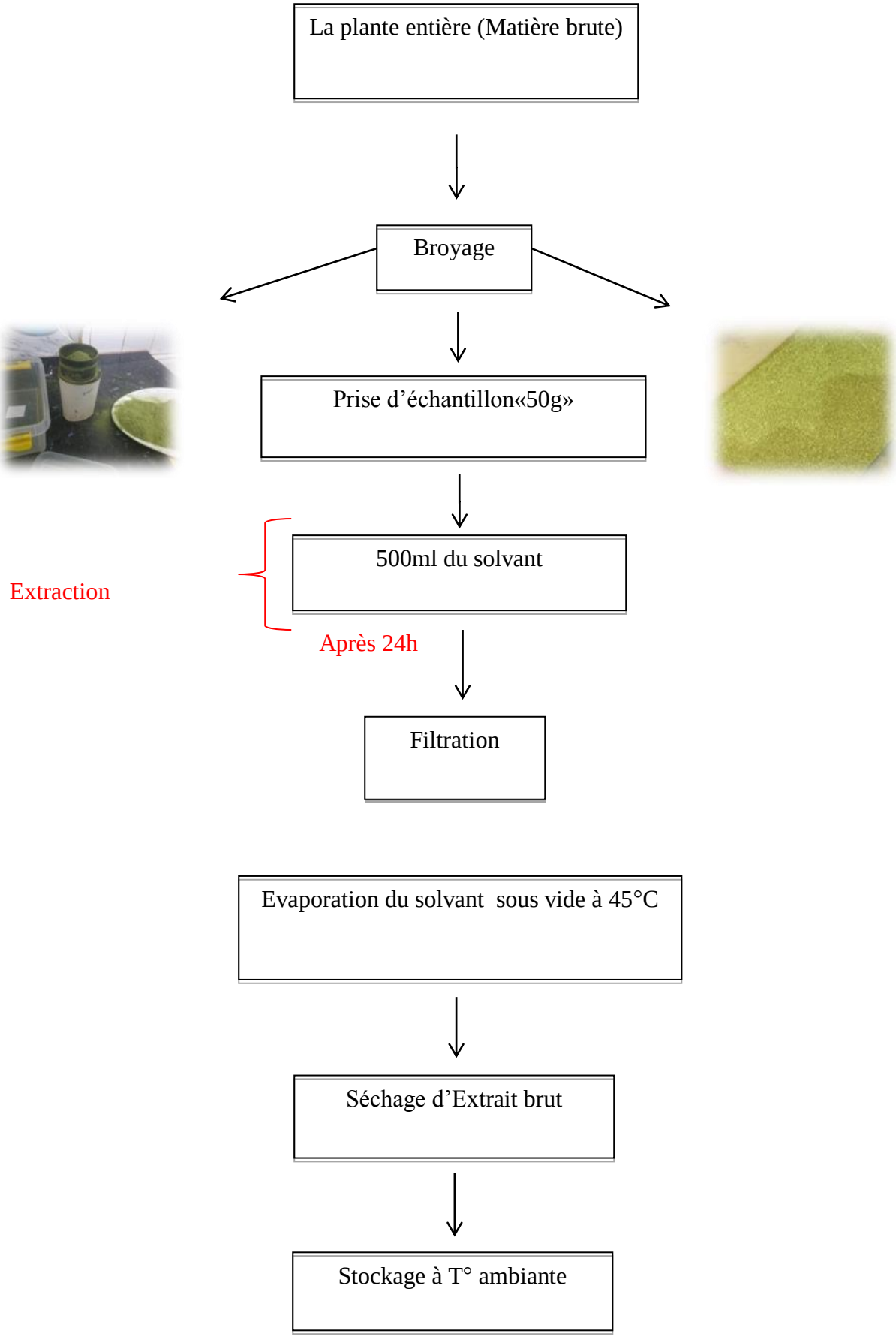


Figure 10 : Schéma d'extraction par macération **(Sultana et *al.*, 2009)**.

II.5.3. Le dosage des composés phénoliques des deux plantes

II.5.3.1. Dosage des phénols totaux

A/ Principe

La teneur phénolique totale est généralement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre selon la méthode de **Folin-Ciocalteu** où les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif utilisé est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et d'acide phosphomolybdique (H3PMO12O40) de couleur jaune.

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques, le réactif entraine la formation d'un nouveau complexe de tungstène (W8O23) et molybdène (MO8O23) de couleur bleue, la coloration produite dont l'absorption maximale est comprise entre **725 et 750 nm** est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux **(Boizot et Charpentier, 2006).**

B/ Protocole

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé avec le réactif colorimétrique **Folin- Ciocalteu** selon la méthode cité par **Skerget et ses collaborateurs en 2005,** le protocole appliqué comporte les étapes suivantes :

Un volume de **500 µl** pour chaque extrait est introduit dans un tube à essai, après on ajoute **2500 µl** de folin-ciocalteu dilué (1/10). Les tubes sont agités à l'aide d'un vortex et incubés pendant 3 min à température ambiante, ensuite **2000 µl** de Na2CO3 (7 ,5%) sont additionnés au mélange.

Les tubes sont ensuite passés dans un bain marie à 50°c pendant 5mn. Après le refroidissement, L'absorbance est ensuite lue à **760 nm** par un spectrophotomètre.

Le témoin est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par **500µl** de solvant d'extraction (éthanol/ eau distillée)

\

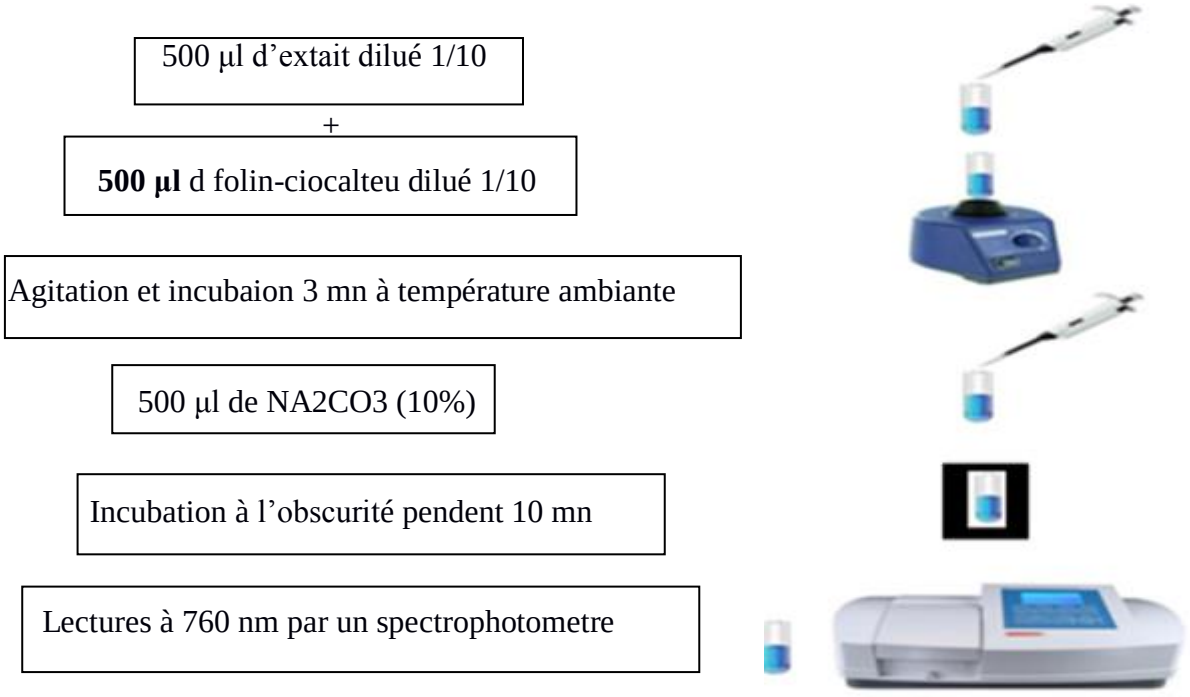


Figure 11 : Protocole expérimental du dosage des phénols totaux.

C/ Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage. Voire courbe d'étalonnage (figure c8 annexe c), celle-ci est établie avec le standard étalon d'acide gallique qui est le standard le plus souvent utilisé dans la méthode au Folin- Ciocalteu (**Maisuhisakul et *al.*, 2008).**

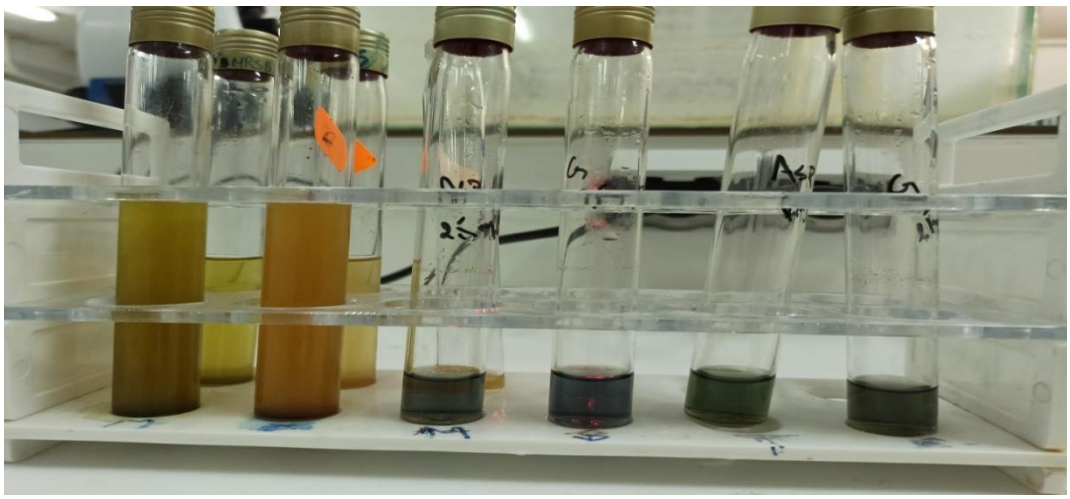


Figure 12 : Les teneurs en polyphénols totaux des extraits de *Globularia alypum* et *d'Asparagus officinalis.*

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g).

II.5.3.2. Dosage des flavonoïdes

A/ Principe

Lors de l'ajout du chlorure d'aluminium y'aura la formation d'un complexe de couleur jaune due à la fixation des ions Al3+ sur les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes**,** à fin de déterminer la quantité des flavonoïdes dans un extrait on utilise le flavonoïde prédominant, cependant la quércétine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon **(Bahorun et *al.*,1996).**

B/ Protocole

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl3) décrite par **Chang et *al* (2002) et Djeridane et *al.* en 2006** est employée pour quantifier la teneur en flavonoïdes totaux de nos extraits.

Les échantillons sont préparés par la dissolution de **1000 µl** de chaque extrait dilué à 1/10 dans **1000 µl** de la solution d'AlCl3 (10 %, dans le méthanol). **(Zhishen et *al.*, 1999).** Après dix minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm par un spectrophotomètre**.**

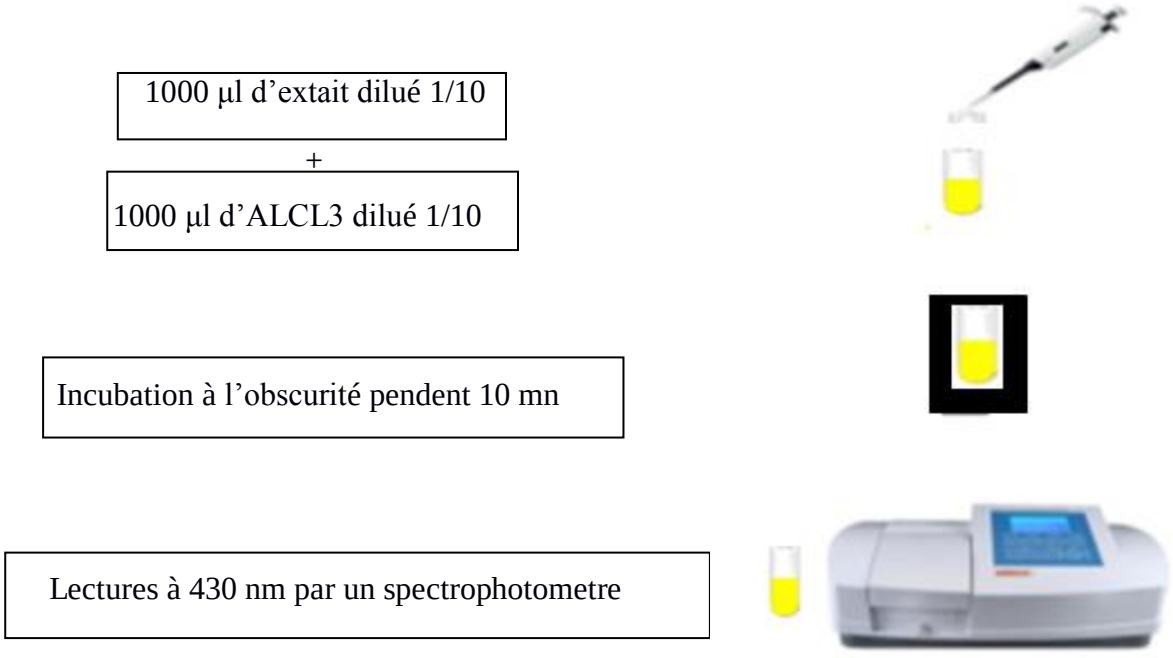


Figure 13 : Protocole expérimental du dosage des flavonoïdes.

C/ Expression des résultats

La concentration des flavonoïdes des extraits est déduite à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la Quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon.

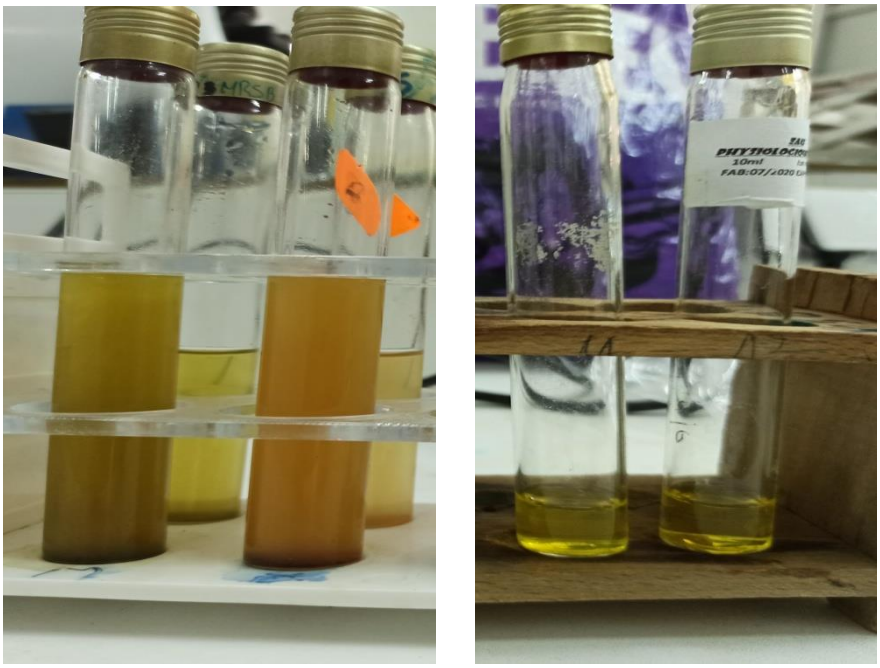


Figure 14 : La teneur en flavonoïdes des extraits de *Globularia alypum* et *d'asparagus officinalis*.

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g).

II.5.4. Pouvoir antioxydant des extraits des parties aériennes et souterraine des plantes étudiées

Dans cette partie, nous avons déterminé le pouvoir antioxydant des extraits des parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges) de *Globularia alypum* et des parties aériennes et souterraine (racines, tige feuillée et tige herbacé) *d'Asparagus officinalis*. Les six extraits de nos plantes sont les suivants :

- Extrait de les feuilles, fleurs et tiges de *Globularia alypum* de la station de Temezguida et Ouamri.
- Extrait des racines, tige feuillée et tige herbacé *d'Asparagus officanalis*. la station de Benchikaou.

II.5.4.1. Méthodes d'étude du pouvoir antioxydant.

Même si les antioxydants de synthèse sont efficaces et bon marché et que leurs doses autorisées sont largement limitées pour éviter tout problème de toxicité, on a assisté depuis les années 1980 à un engouement pour les produits naturels, et au développement d'extraits végétaux à usage antioxydant, qui auraient des propriétés biologiques pouvant contribuer à réduire le risque de certaines pathologies **(De-Reynal et Multon, 2009)**.

Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* d'extraits naturels, différentes méthodes ont été développées. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que les radicaux libres

ou les complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération de radicaux

Le principe de ceux-ci repose sur un changement de couleur qui a été suivi par la lecture de l'absorbance à des longueurs d'ondes spécifiques.

A/ Piégeage du radical libre DPPH•(2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

- ✓ **Principe du test de DPPH:**

Le DPPH est un radical stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm **(Bandoniene *et al.*, 2002 ; Pavlov *et al.*, 2002 ; Gazi *et al.*, 2004)**

L'activité antiradicalaire des extraits a été testée par l'utilisation du radical DPPH (méthode de Blois (1958) avec quelques modifications). Le DPPH, 2.2 - Diphényl-1picrylhydrazyl (Sigma, C18H12N506; PM=394.33), est un radical libre stable soluble dans le méthanol (ou l'éthanol). D'une couleur violette intense, il présente un maximum d'absorbance à 517 nm. Lorsque une molécule antioxydante réduit le radical DPPH, la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pale), selon la réaction suivante **(Pokorny et al., 2001; Roginsky).**

$$DPPH® + (AH)\,n \longrightarrow DPPH\text{-}H + (A\ )\,n$$

Où (AH) n : représente une molécule capable de réduire céder un atome d'hydrogène au radical DPPH) le radical DPPH violet au DPPH-H (DPPH réduit) d'une couleur jaune pale.

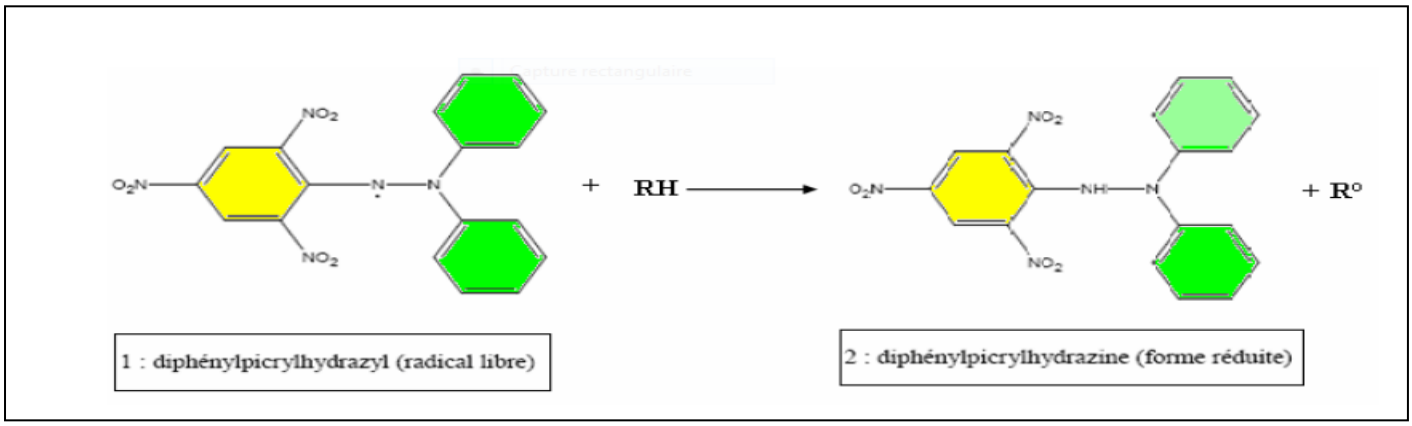


Figure 15 : structure de 2.2 - Diphényl-1picrylhydrazyl libre et sa forme reduite **(Dangles et *al.*, 2000).**

Le test peut s'effectuer par bio autographie sur des plaques CCM en utilisant le DPPH comme pulvérisateur (identification qualitative), Ou par un dosage spectrophotométrie (test quantitatif).

✓ **Réduction du radical libre DPPH par dosage spectrophotométrie:**

Cette méthode conceme uniquement les extraits ayant montré une activité antiradicalaire par bioautographie. L'activité antioxydante des extraits in vitro a été testée selon la méthode de **Blois, (1958)** avec quelques modifications. Le test est effectué selon les étapes suivantes :

►Préparation de la solution de DPPH :

2 mg de DPPH a été solubilisé dans 50 ml d'éthanol absolu pour avoir une solution mère de DPPH d'une concentration de 6.10^6 M.



Figure 16 : Préparation de la solution de DPPH.

► Préparation des extraits :

Les extraits éthanolique lyophilisés dissous dans une solution de éthanol/eau (70% éthanol et 30% eau) à une concentration de 2 mg/ml pour Globulaire alypum et de 5 mg/ml pour Asparagus, ont été dilués à différentes concentrations croissantes (10-20-30-40-50 ug/ml).

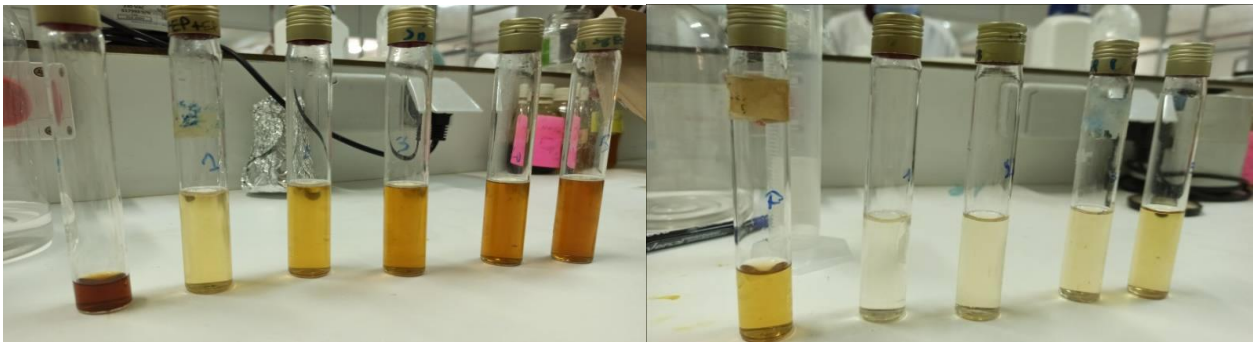


Figure 17 : Préparation des extraits de *Globulaire alypum* et *d'asparagus officanalis*.

►Détermination du potentiel antioxydant:

La détermination du pouvoir antioxydant est basée sur la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant. Le spectrophotomètre est calibré à l'aide d'un blanc constitué d'éthanol pur à une longueur d'onde de 517 nm.

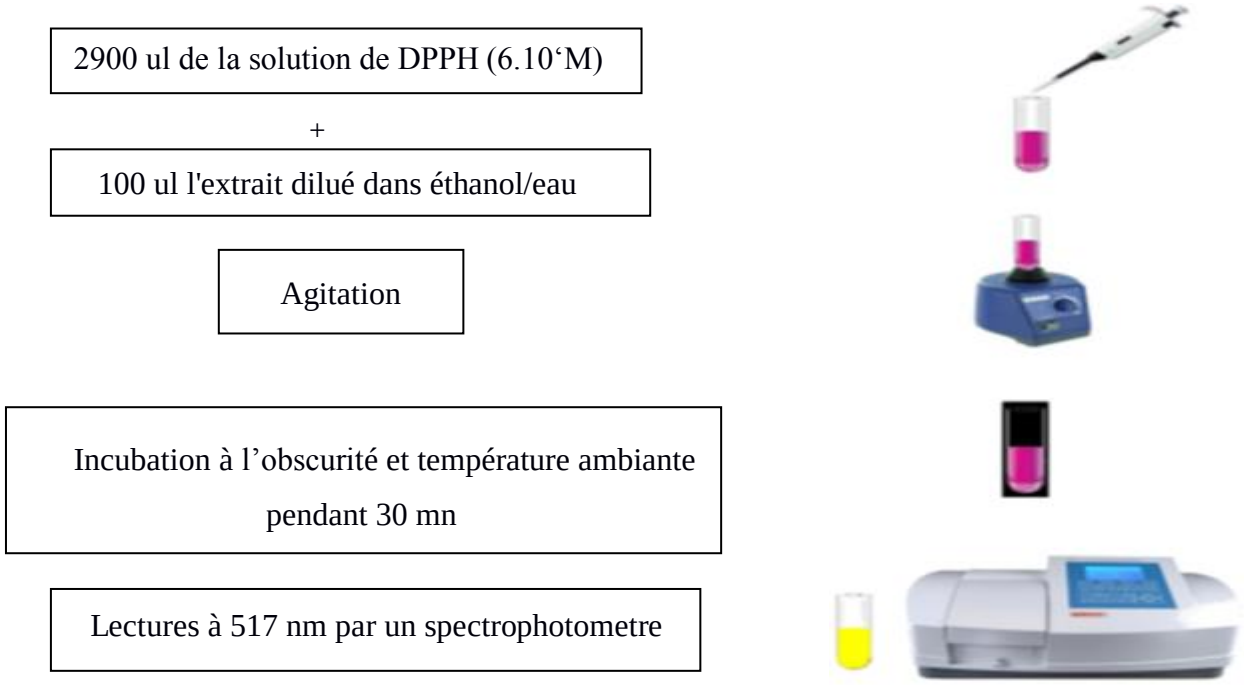


Figure 18 : Protocole expérimental de l’activité scavenger du DPPH.

Le pourcentage d'inhibition de l'extrait est calculé selon l'équation suivante :

$$(\mathbf{I\ \%}) = \left(\frac{\mathbf{A_b - A_e}}{\mathbf{A_b}}\right) \mathbf{x\ 100}$$

Où

A (b) : Absorbance du témoin négatif, ce dernier contient du DPPH et de l’éthanol sans extrait.

A (e): Absorbance en présence de l'extrait.

Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures ± standard de déviation.

Le pourcentage d'inhibition est finalement exprimé sous forme d'IC 50 (concentration permettant d'obtenir 50 % d'inhibition). Celle-ci est calculée à partir d'une droite de régression établie à l'aide des pourcentages d'inhibition (I%) enregistrés en fonction de la concentration de l'extrait.

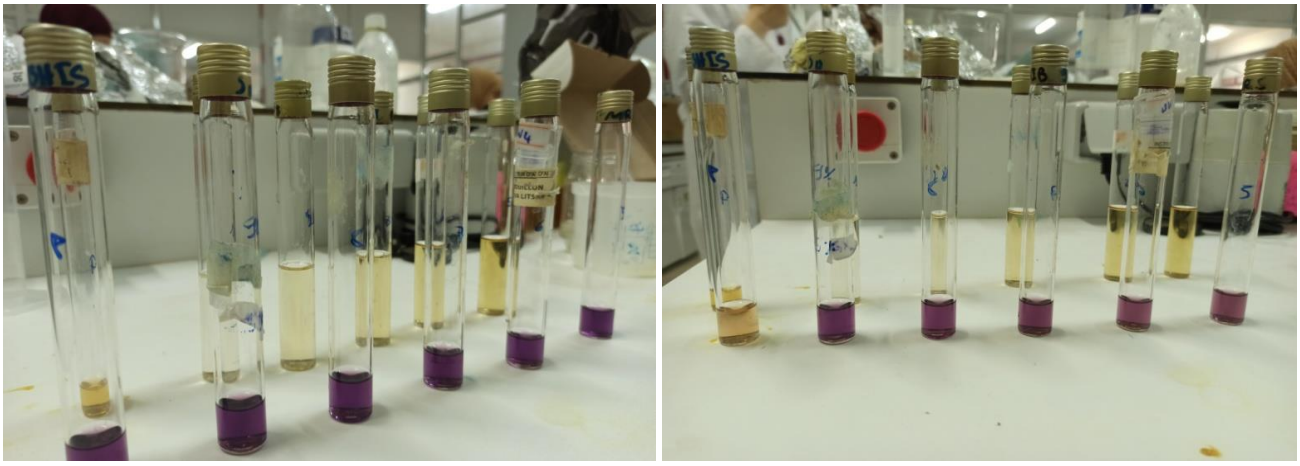


Figure 19 : La détermination du pouvoir antioxydant.

L'acide ascorbique est utilisés comme témoins positifs, est les résultats sont calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, celle-ci est établie avec le standard étalon d'acide ascorbique (0,01-0,1 mg/ml).

II.5.5. Evaluation de l'activité antibactérienne

Cette partie vise à évaluer le potentiel antibactérien des extraits. L'étude est réalisée par la méthode de diffusion, qui est initialement conçue pour les antibiotiques (antibiogramme), mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par de l'extrait des plantes. Inspiré d'une vieille méthode de Shroeder et Messing datant de 1949, l'aromatogramme consiste à déposer des disques de papiers filtres imprégnés d'extrait sur la surface des géloses ensemencées par le germe à tester et de mesurer les diamètres d'inhibition en millimètre (mm) après incubation.

L'action antimicrobienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné des extraites étudiés. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une action antimicrobienne si son diamètre d'inhibition est supérieur à 10 mm **(Liu *et al.*, 2017).**

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par **Mutai *et al.* (2009),** ils ont classé les zones d'inhibitions de la croissance en 5 classes :

- ✓ D≥30mm : Très fortement inhibitrice.
- ✓ 21mm≤D≤29mm : Fortement inhibitrice.
- ✓ 16mm≤D≤20mm : Modérément inhibitrice.
- ✓ 11mm≤D≤16mm : Légèrement inhibitrice.
- ✓ D<10mm : Non inhibitrice.

II.5.5.1. préparation de l'inoculum

En premier lieu, une suspension bactérienne d'une opacité de 0.5 Mc Farland est préparée à partir d'une culture pure et jeune (âgée de 18 heures). Cette opacité, équivalente à une densité optique de 0.08 – 0.1 à 625 nm,



Figure 20 : préparation de l'inoculum.

Cet inoculum sert à ensemencer des géloses de Mueller Hinton préalablement coulées dans des boites de Pétri puis séchées à l'étuve à 37°C avant emploi.

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage, à partir de l'inoculum fraîchement préparé. Il consiste à tremper un écouvillon de coton stérile dans la suspension puis le frotter, après l'avoir essoré à l'intérieur du tube, à trois reprises sur la totalité de la surface gélosée de façon à former des stries serrées, en tournant la boite à environ 60° après chaque application et en tournant l'écouvillon sur lui-même pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.



Figure 21 : Ensemencement par écouvillonnage.

II.5.5.2. Préparation des disques

Des disques de papier filtre, de 9 mm de diamètre, préalablement stérilisés dans une boite en verre recouverte du papier aluminium a l'autoclave sont déposés à la surface de gélose ensemencée après avoir été chargé de 15 µl de chaque extrait testé (extraits préparés à partir de chaque partie d'*Asparagus officinalis* et de *Globularia alypum*) diluée dans du DMSO (dimethylsulfoxide) à 1/2, 1/5 et 1/10 (v/v). D'autres disques, chargés de 15 µl de DMSO sont utilisés comme témoins.

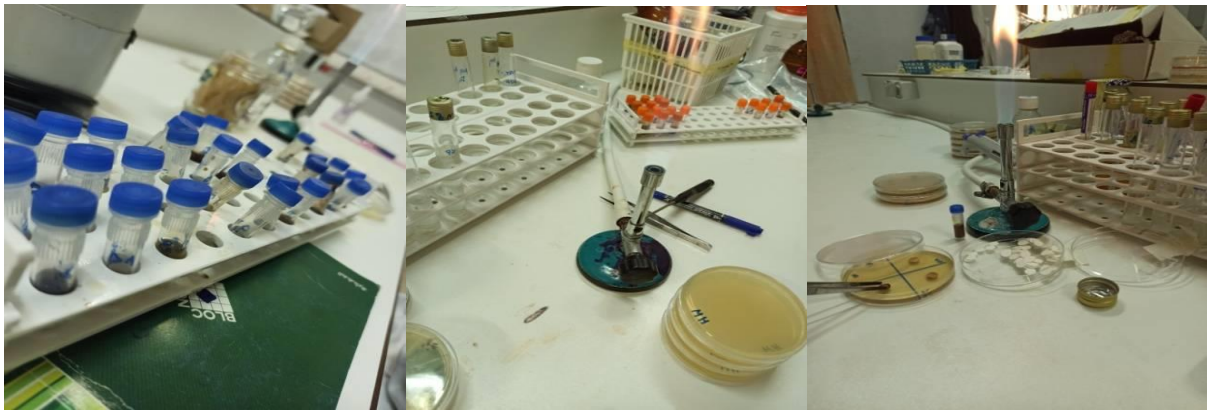


Figure 22 : Préparation des disques.

Tableau 4 : Préparation des différentes dilutions d'extrait dans le DMSO

Les dilutions	Pure	1er dilution	2éme dilution
Concentration d'extrait de *Gloubularia alypum*	125 mg/ml	62 mg/ml	31mg/ml
Concentration d'extrait *d'Asparagus officinalis*	125 mg/ml	62 mg/ml	31mg/ml

II.5.5.3. Aromatogramme

Des antibiogrammes sont effectués en parallèle avec les aromatogrammes. Le choix des antibiotiques pour chaque souche microbienne est basé sur les directives du National Commitee for Clinical Laboratory Standars (NCCLS). Afin de garantir des conditions expérimentales comparables, les trois dilutions de chaque extrait ont été placées dans la même boite.

II.5.5.4. Incubation et lecture

Après 24 h d'incubation à 37°C. La lecture de l'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de croissance en millimètres formée autour du disque (y a compris le diamètre du disque de 9 mm)**.** L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par **(Mutai *et al*. 2009)** a été suivi.

II.5.6. Effet du gel antibactérien

II.5.6.1. Préparation des extraits éthanoliques

On a prélevé 3,4g de la poudre de *Globularia alypum* et d'*Asparagus officinalis*, auquel on a ajouté 100 ml d'éthanol. Le mélange est agité pendant 15minutes par l'agitateur puis centrifugé à 3000 tours pendant 10 minutes. L'extrait obtenu est conservé au réfrigérateur afin de l'utiliser pour la préparation du gel antibactérien.



Figure 23 : Préparation des extraits éthanoliques du gel antibactérien.

II.5.6.2. Préparation du gel antibactérien

La préparation du gel antibactérien est effectuée selon la méthode décrite par le guide de la production locale, formulation des produits hydro-alcoolique recommandés par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé).

On verse 83,4ml d'alcool nécessaire à la préparation du produit dans une bouteille. On ajoute 4,17ml du peroxyde d'hydrogène (H2O2), puis on ajoute 1,45 ml du glycérol, Le glycérol étant une substance visqueuse adhérant aux parois puis verser le contenu dans la bouteille servant au mélange

II.5.6.3. Préparation des dilutions et ensemencement

A l'aide d'un écouvillon stérile, on a frotté la paume des mains pour prélever les micro-organismes qui y sont présents, l'écouvillon est ensuite transféré dans l'eau physiologique. Pour ce faire, à partir de la solution mère (extraits éthanoliques+glycérol+peroxyde d'hydrogène), on prélève 1 ml auquel on ajoute 9 ml d'eau physiologique (suspension bactérienne) afin d'avoir une dilution 10^{-1}.



Figure 24 : Préparation des dilutions des solutions hydro alcoolique.

Afin de testé l'efficacité du notre solution hydro alcoolique on opte pour le protocole suivant, une fois le milieu de culture est refroidi on ensemence à l'aide d'un râteau à la surface un volume de 0.1ml d'un mélange de solution bactérienne et la solution hydro alcoolique. Les boites sont incubées dans une étuve pendant 48h à 37°c.



Figure 25 : Ensemencement des solutions

II.5.7. Activité anti inflammatoire

A fin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire des extraits éthanolique de nos plantes. On a suivi le protocole du **TEST DE LEVY.** L'activité a eu lieu au niveau du laboratoire de Pharmaco-toxicologie du Saidal d'Alger.

II.5.7.1 Principe

L'injection de la carragéenine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration des doses égales d'extrait éthanolique de la tige de *Globularia alypum* et du produit de référence utilisé (Ibuprofène) **(MO.C.I.P.022 SAIDAL).**

II.5.7.2 Protocole expérimentales

Le TEST DE LEVY est une méthode employée pour quantifier l'activité anti inflammatoire de nos extraits, pour cella on opte sur le protocole suivant.

- ✓ Préparation des extraits :
  - ➢ 1g d'extraits est ajouté dans 3 ml d'eau physiologique avec une agitation jusqu'à dissolution totale.
- ✓ On constitue 03 lots de 05 souris chacun :
  - Un lot témoin
  - Un lot essai 1
  - Un lot essai 2

➢ **Au temps T0**

On administre aux trois lots les suspensions suivantes :

- ➢ Lots témoin : chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau distillée.
- ➢ Lots essai 1 : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'extrait à tester
- ➢ Lots essai 2 : chaque souris reçoit 0,5 ml du produit de référence (Ibuprofène).

➢ **Au temps T0+30min**

On injecte la solution de carragéenine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0,025 ml à tous les animaux mis en expérience.

➢ **Au temps T0+4h**

On sacrifie les souris par rupture de la nuque et on coupe les pattes postérieure a hauteur de l'articulation et puis on les pèse sur une balance analytique.

On calcule la moyenne arithmétique des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot pour trouver le pourcentage d'œdème et le pourcentage de réduction d'œdème **(MO.C.I.P.022 SAIDAL).**

II.5.7.3 Expression des résultats

A fin de savoir si l'activité anti inflammatoire est présente dans nos extraits il y'a deux paramètres à calculer :

- Pourcentage d'œdème : c'est le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) par la formule suivante.

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{moyenne des poids de la patte gauche - moyenne des poids de la patte droite}}{\text{moyenne des poids de la patte droite}} \times 100$$

- Pourcentage de réduction d'œdème chez les souris traités par rapport au témoin.

$$\% \text{ de réduction d'œdème} = \frac{\% \text{ de d'œdème témoin - \% de d'œdème essai}}{\% \text{ de d'œdème essai}} \times 100$$

Préparation des extraits

1g d'extraits est ajouter dans 3 ml d'eau physiologie

+

Administration de 0,5 ml d'extraits pour chaque lot



↓ Apres 30 mn

Injection de 0,025 ml de la solution de carragéenine



↓ Apres 4 heures

Sacrifie les souris par rupture de la nuque



On coupe les pattes postérieure et on les pèse sur une balance analytique



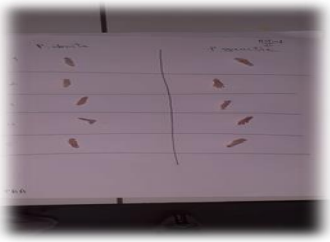


Figure 26 : Protocole expérimentale d'activité anti-inflammatoire **(MO.C.I.P.022 SAIDAL).**

II.6. Les analyses statistiques

Les résultats des différents tests sont analysés par Excel 2007 pour les comparaisons simples, et les valeurs ont été exprimées en moyenne ± ET pour l'activité anti-oxydante.

Résultats et discussion

« Savoir s'étonner à propos est le premier pas fait sur la route de la découverte »
Louis Pasteur (1822-1895)

I. Les taux d'extraction

Les procédés d'extraction des antioxydants phytochimiques à partir des plantes médicinales constituent une étape cruciale, car elle est déterminante de la qualité et de la quantité de principes actifs recherchés, qui reflètent directement leurs activités pharmacologiques **(Ben Sghaier et *al.*, 2011).** Plusieurs facteurs peuvent influencer les taux d'extraction : la structure chimique des composés, la granulométrie, le temps de macération, la température, la nature du solvant et les conditions de stockage **(Wu et *al.*, 2011).**

Donc, avant de procéder à l'extraction des deux plantes, elles ont été d'abord séchées à l'air libre dans un milieu ombragé afin de préserver les polyphénols de la dégradation par les hydrolases **(Bruneton, 2008, Gulcin et *al.*, 2010).**

De plus, le broyage et le tamisage ont été réalisés de façon à pouvoir récupérer le maximum de poudre fine ayant un diamètre inférieur à 63µm, car ce diamètre augmente la surface de contact du solvant avec la poudre pour un meilleur rendement **(Chen et *al.*, 2012).**

La teneur en humidité correspond a la différence de poids appréciée après dessiccation de la matière végétale. Les rendements moyens des extraits préparés ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la plante en utilisant la formule suivante :

$$R(\%) = Q_{ME} / Q_{MVS} * 100$$

Ou : R **(%)**: rendement de l'extraction.

Q_{ME} : quantité de la matière extraite en gramme.

Q_{MVS} : quantité de la matière végétale sèche en gramme.

Le tableau suivant illustre ces résultats.

Tableau 5 : Les taux d'extraction de *Globularia alypum* et *d'Asparagus officinalis*

Plante	Partie	Solvant	Poids initiale	Poids finale	Rendement
Asparagus officinalis	Tiges feuillées	Eau pure	50 g	23.09	46.18
		Ethanol+eau (70%+30%)	50 g	11.95 g	23.9
	Racines	Eau pure	25 g	10.2 g	40.8
		Ethanol+eau (70%+30%)	20 g	9.35 g	46.75
	Bourgeons (tige herbacé)	Eau pure	25 g	14.95 g	59.8
		Ethanol+eau (70%+30%)	25 g	33.93 g	67.86
	Tiges	Eau pure	25 g	6.07 g	24.28
Globularia alypum		Ethanol+eau (70%+30%)	50 g	13.03 g	26.06
	Feuilles	Eau pure	25 g	15.36 g	61.44
		Ethanol+eau (70%+30%)	25 g	20.86 g	83.44
		Eau pure	25 g	18.20	72.8
	Fleurs	Ethanol+eau (70%+30%)	25g	22.10 g	88.4

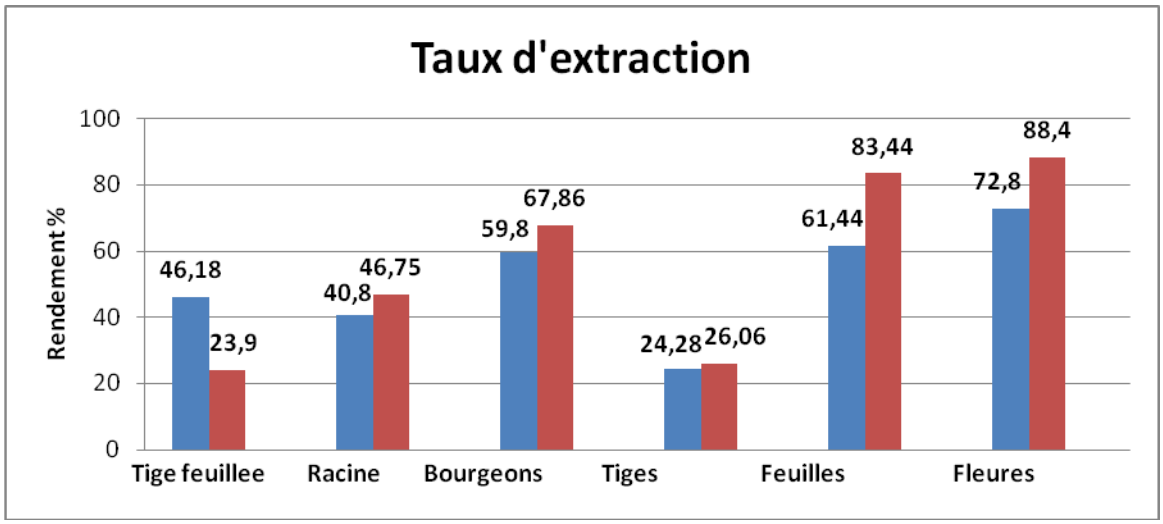


Figure 27 : Présentation du rendement des extraits de *Globulaire alypum* et *d'Asparagus officanalis*

Les échantillons d'*Asparagus* et exactement la partie tige feuillée fourni un taux de rendement de 46.18 %, 23.9 % lors de l'utilisation de l'eau pur et Ethanol+eau (70%+30%) comme solvant successivement, ainsi que le rendement de la partie racine des extraits de l'eau pur et d'éthanol+eau (70%+30%) sont 40.8 % et 46.75 % respectivement. la partie bourgeons de cette plante donne un taux de rendement de 59.8 % dans le cas de l'eau pure , et de 67.86 % lors de l'utilisation d'éthanol+eau (70%+30%). Par contre, les échantillons de *Globularia alypum* ont montré un taux plus élevé par rapport à celui obtenu à partir de *l'Asparagus* , vu que le rendement des feuilles globulaire par le solvant eau pur et éthanol+eau (70%+30%) est 61.44 % , 83.44 % respectivement , alors que le rendement des fleurs est de 72.8 % à l'eau pure et 88.4 % à l'extrait d'éthanol+eau (70%+30%).

Les parties des plantes *Globularia alypum* et *Asparagus officinalis* ont été soumis à des extractions par macération (pendant 24 h) en utilisant deux solvants de polarité différente, donc de nos résultats on constate que les extraits de l'eau pur ont un rendement plus faible que celui obtenu par les extraits de l'éthanol/eau (70%+30%).

La composition, ainsi que la quantité des métabolites secondaires d'un extrait, peuvent être influencées par plusieurs facteurs tel que le mode et le temps d'extraction, la température, la nature du solvant ainsi que sa polarité qui permet de solubiliser et extraire les composés de polarité similaire au solvant (**Green, 2004, Ncube *et al.*, 2008).**

De même, le choix d'un solvant pour l'extraction de la matière végétale, doit répondre à un certains nombres de critères dont la faible toxicité et la facilité de l'évaporation à basse température **(Hughes, 2002, Ncube *et al.*,2008).**

Par ailleurs, dans une étude comparative entre différents solvants utilisés dans l'extraction de la matière végétale, l'éthanol s'est révélé être un meilleur solvant pour l'extraction de substances antimicrobiennes à partir des plantes médicinales par rapport à d'autres solvants **(Abu-Shanab *et al.*, 2004).**

De plus**, Wisam *et al.*(2017)** ont démontré que les teneurs phénoliques déterminés dans l'extrait éthanolique sont beaucoup plus élevées que dans l'extrait aqueux. D'autre part**Kristina *et al.* (2007)** ont montré que les solvants éthanol et acétone sont les meilleurs solvants pour l'extraction des composés phénoliques non volatiles, y compris les flavonoïdes et les phénols, qu'ayant une activité antibactérienne contre diverses bactéries pathogènes.

Ces résultats ont pu montrer que les rendements des extractions par des solvants polaires, sont plus importants par rapport aux solvants moins polaires, qui ont la capacité de délipider et dépigmenter la matière végétale **(Bruneton, 2009).**

II. Teneurs en composés phénoliques

II.1. Teneurs en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits éthanolique des tige de Globulaires alypum et des tiges feulées d'Asparagus ont été obtenues a partir d'une courbe d'étalonnage établie avec des concentrations croissantes en acide gallique qui suit une équation de type y=0,0263 x-0,1436 sachant que R^2 = 0,9932. Les valeurs sont exprimées en mg d'équivalents d'acide gallique par gramme de l'extrait lyophilisé. La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Voire courbe d'étalonnage (figure c7 annexe c).

L'évaluation quantitative de ces composés phénoliques montre que la quantité de polyphénols dans l'extrait éthanolique de *Globularia alypum* (24,54 mg EAG/g extrait) est proche à celle *d'Asparagus officinalis* (24,31 mg EAG/g extrait).

Les résultats obtenus viennent confirmer les travaux de **Daycem et *al. En* 2011** qui ont estimé la richesse de *Globularia Alypum* en polyphénoles totaux avec une valeur de (116,89 ± 2,8 mg EAG/g extrait), qu'il est nettement supérieure à celle obtenue dans notre étude.

Une étude menée par **Belhamel (2017)** montre que l'extrait éthanolique *de Globularia alypum a* une valeur de (44,16± 6,39 mg équivalent de catéchine/g de matière sèche (mg EC/g M.S)).qu'il est aussi supérieur à celle obtenue dans notre étude.

En comparant aussi avec les travaux effectués par **Djeridane et *al.*, (2006)**, en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction, les résultats montrent que la teneur des polyphénols totaux dans *Globularia alypum* est de (21,54 ± 0,81 mg Eq AG/g M.S) qu'il est inferieur a notre résultat .

Tandis que le contenu en composés phénoliques chez *Asparagus officinalis* est inferieure a celle obtenue par **(Kaska et al., 2018)** avec une valeur de (54.10 ± 0.67 mgEAG/g extrait).

II.2. Teneurs en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl3) et l'étalon été la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait). Les taux des flavonoïdes des deux extraits ont été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type y = 0,0287x-0,1574 sachant que R^2 = 0,9875. Voire courbe d'étalonnage (figure c8 annexe c).

Les teneurs en flavonoïdes des extraits éthanolique sont représentées dans la figure ci-dessous.

Les concentrations des flavonoïdes **(Fig.33)** sont relativement importantes dans les extraits dans leur majorité, les teneurs en flavonoïdes sont de (36,14 mg EQ /g de d'extrait) dans l'extrait de

Globularia alypum suivie de celles de l'extraits d'*Asparagus officinalis* avec (31,19 mg EQ/g d'extrait).

Diverses variations des paramètres inhérents aux conditions d'extraction et aux proportions (solvant / soluté) utilisés rendent difficile la comparaison de ces résultats à la littérature. Néanmoins, les résultats obtenus sont nettement supérieurs au résultat trouvé par **Chograni et *al* (2012)** (8,35 mg EQ/g d'extrait**).** ainsi que les travaux de **Daycem et *al* (2011)** qui ont montré que la teneur en flavonoïdes de *Globularia alypum* (19,29 ± 0,04mg EQ/g d'extrait**)** est inferieure à celle trouvé dans notre étude**.**

Les résultats obtenus par **Zeghada en (2009)** (66,828±6,568 mg EQ/g d'extrait**)** sur la même espèce ont révélées une tenneur nettement supérieure par rapport à nos résultats. De plus, une autre étude menée par **(Belhamel, 2017)** a montré que l'extrait éthanolique *de Globularia alypum* a une valeur (257,17 ± 3,42 mg EQ/g de matière sèche) hautement supérieure par rapport à notre valeur (36,14 mg EQ /g de d'extrait).

Tandis que le contenu en flavonoïdes chez Asparagus est inferieure a celle obtenue par **(Kaska et *al,* 2018)** avec une valeur de (92,70±0,21 mg EQ/g extrait).

Cette variation peut être expliquée que la teneur en composés phénolique est influencée par différents paramètres telle que la période et le lieu de récolte, le climat, les conditions géographiques, la méthode et le temps d'extraction, la solubilité et le type du solvant utilisé.

III. L'activité anti-oxydante *in vitro*

III.1. L'effet scavenger du radical DPPH

L'activité anti-radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée **(Bortolomeazzi et *al*, 2007).**

Le test de réduction du radical DPPH est largement utilisé pour l'évaluation des activités anti oxydantes. La capacité de réduire ce radical est déterminée par la diminution de l'absorbance à 517 nm induite par la substance étudiée.

L'activité anti oxydante des extraits est exprimée en CI50, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats **(Abdulmajed et *al.*, 2005; Ahmad et *al.*, 2012; Ranga et *al.*, 2009),** il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH**.** (Couleur). Ces CI50 sont déterminées à partir des graphes dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonné l'activité anti-oxydante en pourcentage.

Les profiles d'activité anti radicalaire obtenus révèlent que les extraits de *Globularia alypum et d'asparagus officinalis* possèdent une activité anti-radicalaire dose dépendante. Les IC50 de chacun des différents extraits ont été déterminées (Tableau 6).

Les résultats sont exprime en moyenne ± écart-type, n=3 pour chaque concentration.

EETi : extrait éthanolique tige (GLB) , **EEFe :** extrait éthanolique feuille(GLB),**EEFl :** extrait éthanolique fleur(GLB), **EETf :** extrait éthanolique tige-feuillée(ASP), **EETh :** extrait éthanolique tige herbacée(ASP),**EERc :** extrait éthanolique racine(ASP).

NB : tous les extraits ont été obtenu par extraction éthanolique lyophilisé.

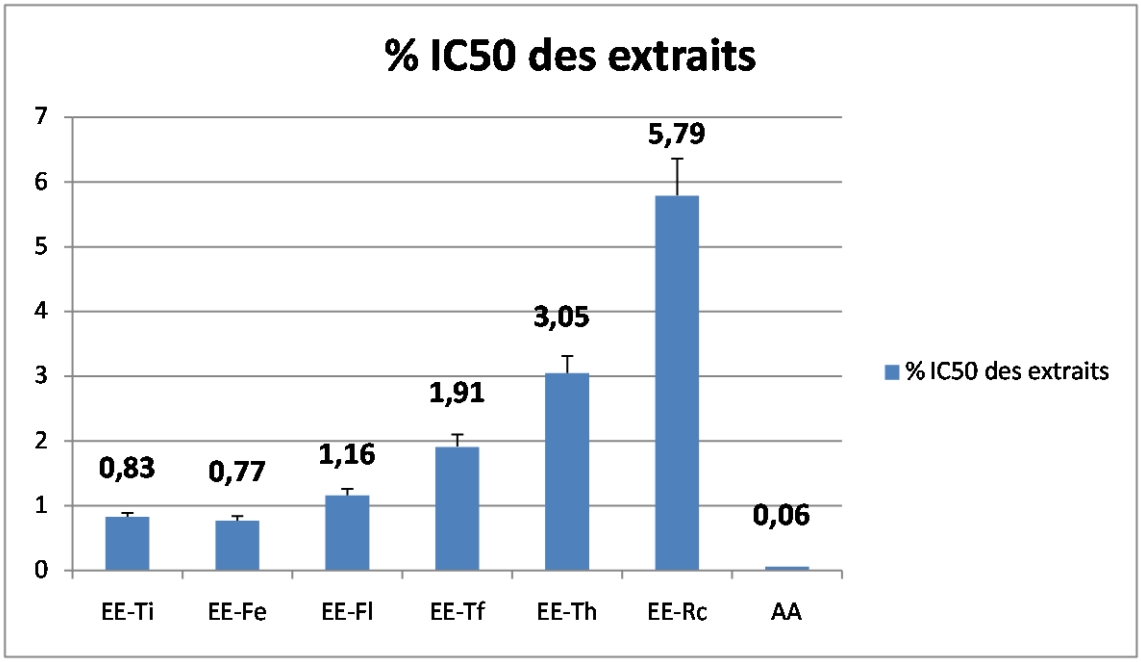


Figure 30 : Histogramme représentent les valeurs d'IC50 des extraits étudies.

À des fins comparatives, l'acide ascorbique est utilise comme antioxydants standards, Il a montré une activité anti radicalaire très puissante avec une IC50 de 0,06 mg/ml. Voire courbe d'étalonnage (figure c9 annexe c).

Les extraits de *Globularia alypum et d'Asparagus officinalis* ont présenté une importante activité anti-radicalaire envers le DPPH. L'EE-Fe, l'EE-Ti et EE-Fl présentent les extraits les plus actifs qui ont une importante activité anti-radicalaire envers le DPPH avec une IC50 de l'ordre 0,77 mg/ml, 0,83 mg/ml, 1,16 mg/ml, respectivement. Ces derniers ont montré en effet, une grande activité inhibitrice qui est proche à celle obtenue par l'antioxydant de référence Acide ascorbique (IC50 = 0,06 mg/ml).

L'EE-Tf et l'EE-Th présentent une activité anti radicalaire plus au moins modéré avec une IC50 de l'ordre de 1,91 mg/ml, 3,05 mg/ml. Ils sont moins actifs que l'EE-Fe. L'EE-Ti et EE-Fl qui présentent une importante activité anti-radicalaire en vers le DPPH.

L'activité anti-radicalaire la plus faible a été exprimée par l'EE-Rc avec une IC50 de 5,79 mg/ml. Dans notre recherche, l'ordre croissant d'activité anti radicalaire d' *Globularia alypum* est de EE-Fe > EE-Ti > EE-Fl et pour les extraits *d'Asparagus officinalis* est de EE-Tf > EE-Th > EE-Rc.

Selon **khlifi, (2011),** l'Extrait méthanolique du *Globularia alypum* a une capacité antioxydante supérieure IC50 = 15,58 mg / L par dosage DPPH.

Notre épreuve montre que la valeur d'IC50 obtenue chez *Asparagus officinalis* est nettement inférieure à celle obtenue dans les études menées par **(Kaska et *al*, 2018),** avec une valeur d'IC50 de 0.383 ± 0 mg/ml qui justifier le pouvoir énorme de l'extrait éthanolique d'asparagus dans la nutralisation de DPPH.

Cette différence est peut être due à la différence dans le protocole de dosage suivie ainsi qu'à la méthode d'extraction adoptée. En effet, la réactivité des composés phénoliques contre le DPPH dans le méthanol est plus efficace que leur réactivité dans d'autres solvants non alcooliques.

Les résultats obtenus dans le présent travail indiquent qu'il existe une relation linéaire entre le pouvoir anti-radicalaire et la teneur en polyphénol. Des études antérieures ont montré des résultats semblables pour les extraits du *Globularia alypum.* Il a été montré qu'il existe une grande corrélation entre la concentration en polyphénols et l'activité anti-oxydante **(Khlifi *et al.*, 2011).**

Du fait que l'EE-Ti et l'EE-Tf sont très riche en composés phénoliques et que ces derniers sont dotés d'une grande activité anti-oxydante, l'effet des extraits obtenus avec ce test serait probablement dû à ces molécules.

Il est par ailleurs connu que les polyphénols auraient des propriétés scavenger envers différents types de radicaux, ce qui leur confère une grande capacité anti-oxydante. Plusieurs études ont rapporté que l'activité anti-radicalaire des extraits des plantes dépend de la quantité de composés polyphénoliques dans ces derniers **(Surveswaran *et al.*, 2007).**

Il a été rapporté que les composés phénoliques extraits à partir du *Globularia alypum* ont, pour la plupart produit une activité inhibitrice très puissante supérieure même à celle du BHT. L'étude de la relation structure/activité a montré aussi que l'action anti-oxydante augmente avec la présence des groupement 6-hydroxyl et caffeoyl **(Es-Safi *et al.*, 2006).**

IV. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits

Le présent travail s'intéresse à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits de deux plantes médicinales. Il s'agit de *Globularia alypum* et d'*Asparagus officinalis*, vis-à-vis 6 souches bactériennes de référence.

On note cependant, des différences d'efficacité aussi entre les extraits de l'eau pure par rapport à l'éthanol/eau (70-30%).

IV.1. Antibiogramme

La mise en contact des différentes souches avec les antibiotiques a permis de réaliser un antibiogramme afin de déterminer le diamètre d'inhibition et par conséquent voire la sensibilité ou la résistance bactérienne vis-à-vis de ces derniers. On a choisis deux antibiotiques pour chaque souche bactérienne, les résultats de l'antibiogramme sont présentés dans le tableau si dessous.

Tableau 7 : Résultat d'antibiogramme sur les souches révérencielles

	Les diamètres d'inhibition (mm)				
Souche / **ATB**	***P.aeruginosa* ATCC 9027**	***E.coli* ATCC8739**	***Enterococcus faecalis* ATCC 6569**	***Bacillus subtilis* ATCC 6631**	***S.aureus* ATCC 6538**
Vancomycine 30µg **(VA)**	Non testé	Non testé	13 mm	Non testé	Non testé
Chloramphénicol 30µg **(C)**	Non testé	Non testé	27 mm	Non testé	Non testé
Céfozoline (CZ)	Non testé	29 mm	Non testé	Non testé	Non testé
Tétracycline 30µg **(TE)**	Non testé	Non testé	16 mm	24 mm	Non testé
Amikacine 30 µg **(AK)**	21 mm	28 mm	Non testé	Non testé	0 mm
Gentamycine 10 µg **(CN)**	23 mm	26 mm	Non testé	21 mm	21 mm
Cefoxitine 30 µg **(CXN)**	Non testé	26 mm	Non testé	Non testé	Non testé

La mise en contact des différentes souches avec les antibiotiques a permis de réaliser un antibiogramme afin de déterminer le diamètre d'inhibition et par conséquent voire la sensibilité ou la résistance bactérienne vis-à-vis de ces derniers.

Les résultats de l'antibiogramme sont présentés dans le **(Tableau 07),** on remarque que la série d'ATB testés a un effet variable sur les souches cibles, ils ont un effet inhibiteur sur certaines et sont soumis à une résistance avec d'autres.

Pour le Gentamycine, et la Tétracycline et l'Amikacine toutes les souches se sont manifestées sensibles dont le diamètre est clairement supérieure a 16 mm, Sauf qu'il ya une résistance indiquée au niveau de *S.aureus* vis-à-vis l'Amikacine.

Pour le vancomycine et le chloramphénicol *E. faecalis* se manifeste sensible dont le diametre entre 16 et 27 mm.

IV.2. L'inhibition de la croissance bactérienne

L'effet antibactérien des extraits d'*Asparagus officinalis* et *Globularia alypum* est évalué dans cette étude par la technique de diffusion sur l'agar. Les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux (8 et 9).

L'évaluation de l'effet antibactérien des extraits de l'asparagus a montré que l'activité antibactérienne exhibée par les Racines est plus importante que celle obtenue avec les autres extraits. L'extrait (Tige herbacé) a montré une activité inhibitrice envers uniquement la croissance de *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis* avec une zone d'inhibition de 12 et 15 mm, respectivement

Cependant, l'extrait des Racines a inhibé plus de souches bactériennes que l'extrait des Tiges feuillées, qui a donné quand même une inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa et Bacillus sibtilus* avec une zone d'inhbition de 14, 10 mm et 8 mm respectivement.

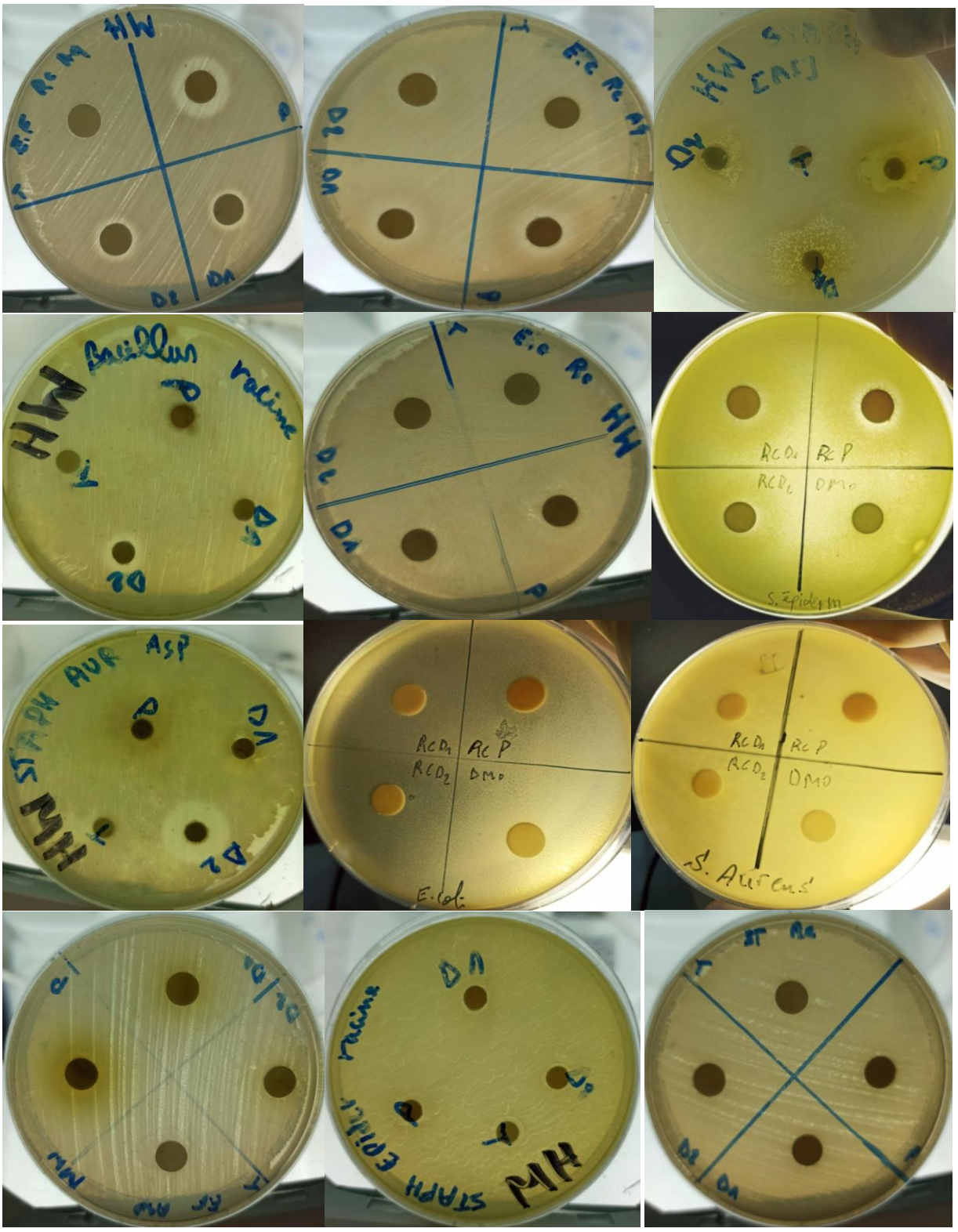
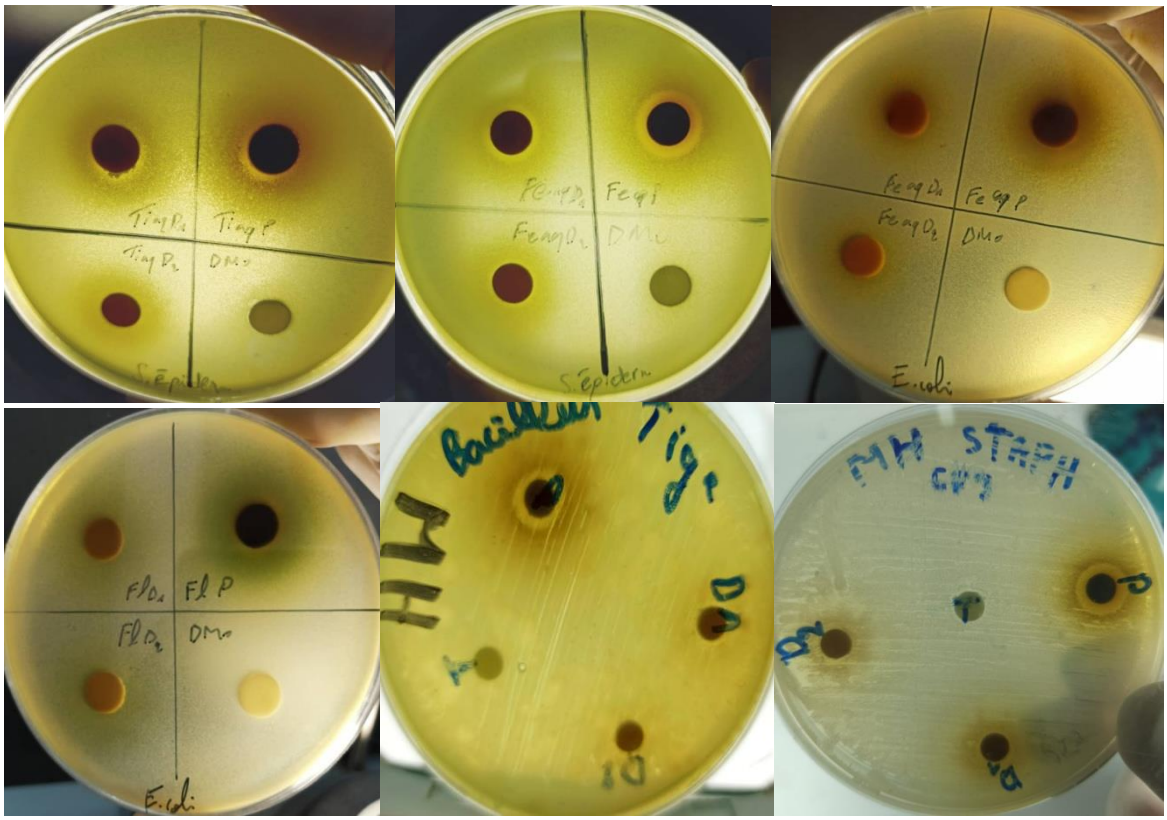


Figure 31 : Résultat de l'effet antibactérien des entraits d'*Asparagus officinalis.*

Ces différences semblent indiquer que l'extrait (Racine) a un taux plus élevé ou plus de principes actifs antibactériens que l'extrait (Tige feuillée) et (Bourgeon). Il est à noter que dans la présente recherche, les extraits les plus actifs sont : (Tige feuillée), sur *Staphylococcus aureus* avec une zone

d'inhibition de 14 mm, l'extrait (racine) sur la souche *Enterococcus faecalis* avec une zone de 16 mm.

L'extrait (Tige de globulaire) semble avoir l'effet inhibiteur le plus élevé, qui a une activité inhibitrice sur presque la totalité des souches. En effet, cet extrait a induit des zones d'inhibition d'un diamètre qui varie entre 9 mm et 16 mm. De ces résultats, il ressort également que (Fleur Globularia) a induit des effets inhibiteurs entre 10 mm et 12 mm envers cinq souches testées (Tableau), mais ces effets sont plus faibles que ceux obtenus par (Feuille) de la même plante avec des zones d'inhibition d'un diamètre entre 10 mm et 14mm envers les cinq souches aussi.



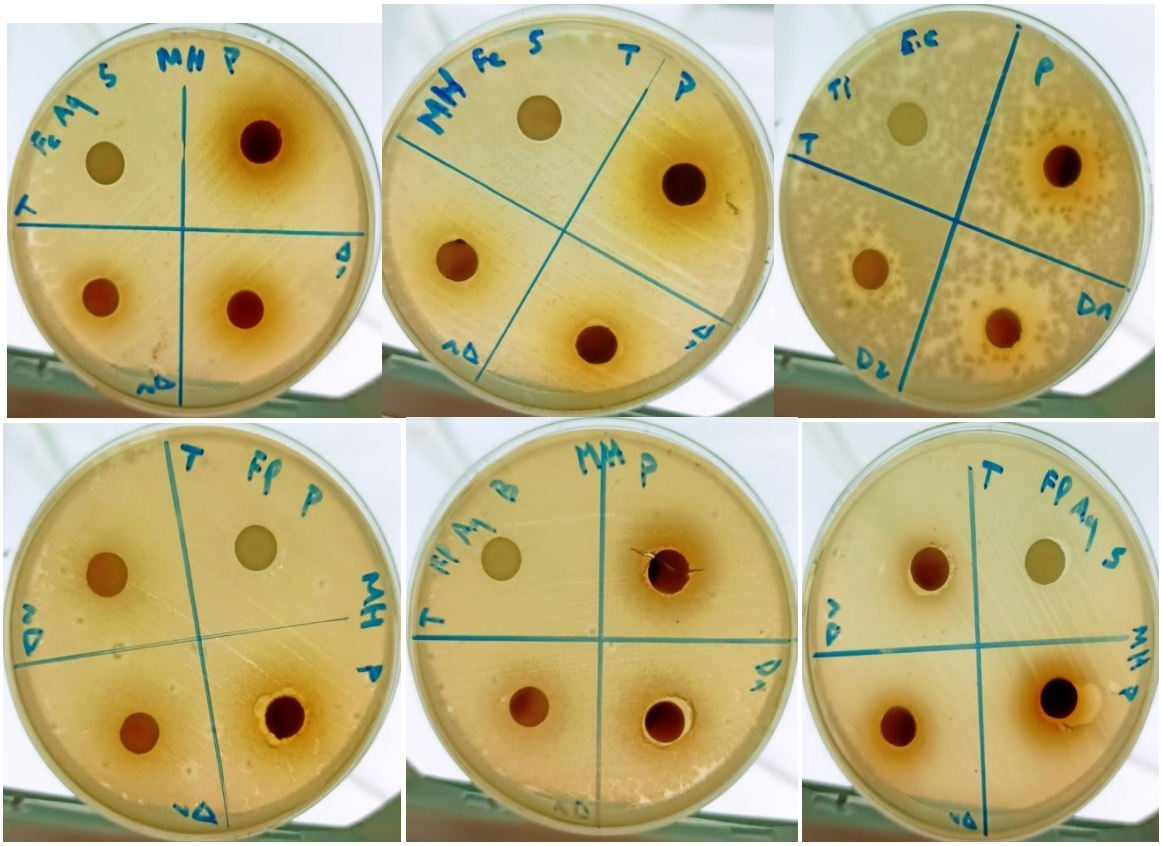


Figure 32 : Résultat de l'effet antibactérien des entraits de *Globularia alypum.*

Les extraits les plus actifs sont : les tige de *Globularia alypum* sur *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 16 mm, et sur *Staphylococcus Epidermidus* avec une zone de 13 mm, les Feuilles sur les souches de *Bacillus subtilis , Staphylococcus Epidermidus* avec une zone d'inhibition de 14 mm , et les fleurs *Globularia alypum* sur *Pseudomonas aeruginosa* avec une bonne zone d'inhibition de 12 mm. . Ces différences peuvent être expliquées par le taux élevé en principe actif antibactérien.

Selon **Loziene et ses collaborateurs (2006)**, l'activité antibactérienne dépend de plusieurs facteurs à savoir : l'espèce de la plante, la préparation de l'extrait, le solvant utilisé, et la sensibilité des bactéries.

Les résultats obtenus dans cette recherche ont montré que les extraits (Tige) de Globulaire et (Racine) d'Asperge ont un effet inhibiteur sur la croissance de la plupart des souches bactériennes testées, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus Epidermidus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli.* La polarité du solvant utilisé pourrait être à l'origine de ces résultats.

En effet, **Fernandez-Lopez et ses collaborateurs (2005)** ont rapporté que les composés responsables de l'action antibactérienne peuvent être les diterpénoïdes phénoliques, qui sont les composés principaux de la fraction apolaire des extraits des plantes. Ces composés sont hautement

lipophile est par conséquent sont extraits par des solvants de faible polarité tel que le chloroforme **(Albano et Miguel, 2010).**

Il a été rapporté que cette activité inhibitrice de la plante pourrait être due à la présence et à la nature chimique des polyphénols et flavonoïdes. Des études effectuées sur l'activité antibactérienne de ces molécules ont montré qu'il n'existe pas une relation claire entre le degré d'hydroxylation des flavonoïdes et leur efficacité sur les microorganismes. Selon ces études, les flavonoïdes qui n'ont pas un groupement hydroxyle sont plus actifs contre les micro-organismes. Cette constatation appuie l'idée que leur cible microbienne est la membrane cytoplasmique, donc le caractère lipophile de ces composés perturbant cette structure **(Chabot *et al.*, 1992).** Cependant, d'autres chercheurs ont mentionné que plus le degré d'hydroxylation est élevé, plus l'activité antimicrobienne est remarquable **(Sato *et al.*, 1996).**

La modeste activité des extraits aqueux envers la plupart des souches utilisées pourrait être expliquée par le fait que les substances hydrosolubles ne peuvent pas accéder aux substances non hydrosolubles des cellules bactériennes. En effet, l'eau est un solvant utilisé pour extraire les principes végétaux ayant une activité antimicrobienne plus au moins importante. En médecine traditionnels, on utilise principalement l'eau mais l'extraction à partir des solvants organiques donne une activité antimicrobienne plus significative **(Parekh *et al.*, 2005, Das *et al.*, 2010)**

Selon **Candan et ses collaborateurs (2003)**, les substances hydrosolubles exercent un effet plus faible comparé à celui des substances non hydrosolubles. Elles n'ont pas la même capacité des molécules liposolubles qui s'intercalent dans les membranes des cellules bactériennes et les endommagent.

IV.3. L'activité antibactérienne du gel hydro alcoolique

L'effet antibactérien des extraits de *Globularia alypum et d'asparagus officinalis* est évalué dans notre étude par la méthode de l'OMS.

Après incubation de notre échantillon pendant 48h à une température de 30°c, les boites contenant les bactéries prélevées des mains sont représentées dans la (figure 38.A) et les boites contenant la solution bactérienne et le gel hydro alcoolique sont représentées dans la (figure 38.B).



Figure 33.A : bactérie prélevées des mains





Figure 33.B : boites contenant la solution bactérienne et le gel hydro alcoolique**.**

.

Après l'ajout de la solution hydro alcoolique à base d'extrait de *Globularia alypun et d'asparagus officanalis,* les bactéries prélevées des mains sont presque éliminées.

Cela est peux être expliqué par la forte teneur en acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins qui possèdent une activité antibactérienne importante dans les extraits des feuilles de *Globularia alypum* et des tiges feuillée *d'asparagus officinalis*, et l'avis général d'un groupe d'experts de l'OMS qui confirme que les produits hydro-alcooliques selon les formulations recommandées par cette dernière sont utilisés pour l'asepsie hygiénique des mains.

V. Activité anti-inflammatoire in vitro

Le tableau ci-dessous montre les résultats de l'ctivité anti-inflammatoire in vitro de l'extrait éthanolique de la tige de Globularia alypum.

D'aprés les resultats du tableau, l'extrait éthanolique de la tige de *Globularia alypum* possède une activite anti-inflammatoire importante.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *Globularia alypum* (38,97%) est importante et qui est proche de la valeur trouvé en utilisent Ibuprofène comme référence (54,88%).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances.

La flore Algérienne est l'une des plus riches au monde et possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales et bon nombre d'entres elles sont des espèces endémiques. Elles constituent une ressource non négligeable en matière de molécules bioactives. Néanmoins, cette ressource reste peu exploitée que se soit au niveau des études scientifiques ou au niveau économique. La région nord d'Algérie abrite plusieurs espèces endémiques et la plupart d'entres elles sont à usage médicinal.

Ce travail, réalisé au laboratoire de la faculté des sciences au niveau de l'université de Médéa, au bloc de microbiologie de l'unité SAIDAL de Médéa et au niveau du laboratoire de Pharmaco-toxicologie du SAIDAL d'Alger, s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de l'activité antibactérienne de quelque plantes spontanées dans la région de Médéa, ainsi que la détermination de la teneur en composé phénolique totaux des plantes sélectionnées.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités moyennement importantes en polyphénols (24,54 et 24,31 mg EAG/g extrait). De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d'AlCl3 qui nous a mèné à conclure que *Globularia alypum* et *Asparagus officinalis* contiennent une quantité considérable de flavonoïdes (36,14 et 31,19 mg EQ /g de d'extrait).

Le potentiel anti-radicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité. L'EE-Fe, l'EE-Ti et EE-Fl présentent une IC50 de l'ordre 0,77 mg/ml, 0,83 mg/ml, 1,16 mg/ml respectivement, L'EE-Tf et l'EE-Th l'EE-Rc présentent une activité anti radicalaire plus au moins modéré avec une IC50 de l'ordre de 1,91 mg/ml, 3,05 mg/ml, 5,79 mg/ml respectivement, donc ces plantes contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires. Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobien vis-à-vis 6 souche de référence, les résultats microbiologiques ont montré que les extraits de *Globularia alypum* et d'*Asparagus officinalis* ont une action modérée sur les espèces bactériennes testées.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense, dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches. plusieurs perspectives peuvent être proposées :

- ✓ Faire une étude biochimique sur *Globularia alypum* et *Asparagus officinalis.*
- ✓ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles qui pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- ✓ Développer des médicaments anti-radicalaires à base de plantes, doués d'une activité antioxydante.

Abdulmajed K., McGuigan C. and Heard C. M. Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free Radic. Res.(***2005)**; 39: 491-498.

Abu-Shanab B, Adwan G, Abu-Safiya D, Jarrar N, Adwan K. (2004). Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Utilized in Popular Medicine in Palestine.Turk J Biol, 28: 99-102.

Ahamet, S. (2003). *Etude phytochimique et des activités biologiques de Balanites aegyptiaca L.(Balanitaceae)* (Doctoral dissertation, Thèse de pharmacie, Bamako).

Ahmad N., Fazal H., Abbasi B. H., Anwar S. and Basir A. DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (Silybum marianum L.). *Toxicol. Ind. Health. (***2012).**

Albano SM, Miguel MG. 2010. Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products* 33(2): 338-343.

Al-Snafi AE. Encyclopedia of the constituents and pharmacological effects of Iraqi medicinal plants. Thi qar University, 2013.

Alzoreky, Nakahara. (2003). Antimicrobial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. International journal of Food Microbiology, 80, 223_230.

Anonyme(2012), Germplasm Resources Information Network, United States Department of Agriculture Agricultural Research Service, Beltsville Area, http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/ taxon.pl?300050 [12 Sep 2012].

Anonyme1 *Asparagus Cancer Cure. http://www.healthyfellow.com/480asparagus-cancer-cure/*

Ayad R.(2008).Recherche et Détermination structural des métabolites secondaires de l'espèce : *Zygophyllum cornutum* (Zygophyllaceae). Mémoire de Magister en Chimie

Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur,J., Cazin, M., Cazin, J.C. and Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal of Arzneim- Forsch Drug Research*. **46**:1086-1108.

Balasundram N, Sundram K and Sammam S.(2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products, antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food chemistry. **99,** 191-203.

Bandoniene D, Murkovic M, Pfannhauser W, Venskutonis PR, Gruzdiene D. (2002) Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free

Bellakhdar J, Claisse R, Fleurentin J, Younos C. 1991. Repertory of standard herbal drugs in the

Beloued,A (2009).Plantes médicinales d'Algerie,5e édition. Alger. P: 284

Belyagoubi, N. (2011). Activité antioxydante des extraits des composée phénolique de dix plantes médicinales de l'ouest algérienne. thèse de doctorat en biologie, faculté SNV. Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen.P174**.**

Ben Hassine.B ., Bui.A,.Mighri.Z., Cave .A.(1982).plantes medicinal et phytothérapie.16(3). 197-205

Ben Mansour R., Gargouri B., Elloumi N., Ben Haj J. I., Gharbi-Gammar Z., Lassoued S. (2012). Investigation of antioxidant activity of alcoholic extract of *Globulaire alypum L*. *Journal of Medecinal plants Research* 6(25): 4193-4199.

Ben Sghaier, M., Bhouri ,W., Neffati, A., Boubaker, J., Skandrani, I., Bouhlel, I., Kilani, S., Chekir- Ghedira, L., and Ghedira K. (2011) Chemical investigation of different crude extracts from Teucrium

Beniston NT, Beniston WS. 1984. Fleurs d'Algérie, E. N. L. Alger.

Bidaut-Russell M. 2001. Adverse gastrointestinal effects of NSAIDs: consequences and costs. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 15: 739-753.

Boizot, N. et Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, *Laboratoire d'Analyses Biochimiques.***18**: 79-82.

Bortolomeazzi R., Sebastianutto N., Toniolo R. and Pizzariello A. Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potenti*a*l. *Food Chem.(***2007)**; 100: 1481-1489.

Bouchelta A, Boughdad A et Blenzar A. (2005). Effet biocides des alcaloides, des saponines et des flavonoides extrait de *Capsicum frutescens* L. sur *Bemisia tabaci.*

Boutiti Ameur.(2007). Etude photochimique de l'espece *Globularia alypume* , université Mantouri constentine, P : 30.

Boyd, B., Ford, C., Koepke Michael, C., Gary, K., Horn, E., McAnelley, S., & McAnelley, C. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. GlycoScience et Nutrition, 4(6), 7.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 3eme édition. Paris édition médicales internationales. Tec et Doc. Lavoisier. (Paris) p : 1240.

Bruneton, J. (2008) pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales.2-7430-0315- 4 ,3 éme edition .

Bruneton, J. (2009).Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales.4 Ed Lavoisier ; Paris .P1269.

Carson C.F. et Riley T.V., (1995). Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia.* In : Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Journal Application Bacteriol, 78(3): 264-269.

Carson, C. F, Mee B. J, et Riley T. V., (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. In : métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46: 1914–1920.

Catier O, Roux D.(2007).cahier du préparateur en pharmacie, botanique, pharmacognosie, phytothérapie 3e édition. Wolters Kluwer. Paris. P : 131.

Cavin, A. (1999). *Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires:" Tinospora crispa"(Menispermaceae)," Merremia emarginata"(Convolvulaceae) et" Orophea enneandra"(Annonaceae)*.

Chabot S, Bel-Rhlid R, Chenevert R, Piche Y. 1992. Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, Gigaspora margarita Becker & Hall by the activity of structurally specific flavonoid compounds under CO^-enriched conditions. *New Phytologist* 122: 461-467.

Chabrier JY.(2010).plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thése doctorat université HENRI POINCARE-Nancy1.

Chang C. C., Yang M. H., Wen H. M. and Chern J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. **10**:178–182.

1.1.1 Charles DJ. (2013). Natural Antioxidants. Chapitre 3. Dans: Antioxidant Properties of

Charpentier B, Lorléac'H F, Harley A, Huard A, Ridoux L, Chaussellé S (2004) Guide du préparateur en pharmacie.2e édition Masson-Paris. P: 162

Chaudhuri, R.K., Sticher, O.,(1979). Structure of two highly oxygenated iridoid glucosides from *Globularia alypum*, Tetrahedrom Letters *54,* 3149-3152.

Chaudhuri, R.K., Sticher,O.,(1981) . New iridoid glucosides and a lignan diglucoside from *Globularia alypum* ,Helvetica Chimica Acta 64,3-15.

Chen, H., Inbaraj, B and Chen, B (2012) Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in Taraxacum formosanum Kitam by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Coupled with a Post-Column Derivatization Technique. Int. J. Mol. Sci.13: 260-285

Chograni H, Riahi L, Zaouali Y, Boussaid M. 2011, Polyphones, flavonoids, antioxidant activity in leaves and flowers of Tunisian *Globularia alypum* L. (Globulariaceae). *African Journal of Ecology* 51: 343-34

Colette-Keller. (2004). Les plantes médicinales. ALS (séance du 25 Avril 2004). P58.

Cox S. D, Mann C. M, Markham J. L, Bell H. C, Gustafson J. E, Warmington J. R et Wyllie S. G., (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). In : métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Journal of Applied Microbiology 88: 170-175.

Dangles O., Fargeix G. et Dufour C., 2000, antioxydant properties of anthocyanins and tannins : a mechanistic investigation with catechin and the 3', 4',7- trihydroxyflavylium ion. J. Chem.Soc., Perkin Trans .2, 1653-1663.

Das K, Tiwari RKS, Shrivastava DK. **2010.** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(2): 104-111.

Das NU. 2011. Inflammation. Chapitre 3. Dans: Molecular Basis of Health and Disease. New Work. Dordrecht: Springer. pp. 15-100.

Daycem Khlifi ., Moktar Hamdi ., Akrem El Hayouni ., Sylvie Cazaux .,Jean Pierre Souchard ., François Couderc et Jalloul Bouajila.(2011). Global Chemical Composition and Antioxidant and Anti-Tuberculosis Activities of Various Extracts of Globularia alypum L. (Globulariaceae) Leaves. *Molecules Vol* 16

Debuigne G, Couplan F.(2009)petit Larousse des plantes médicinales, Larousse, éditeur de qualité depuis 1852.Edition Larousse PP : 5-13

Deli J, Matus Z and Tth G. Carotenoid composition in the fruits of *Asparagus officinalis*. *J Agric Food Chem*, 48(7), 2000, 2793-2796.

De-Reynal B, Multon JL. (2009) Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. 4ème edition Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Diallo A. 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd (*Myrtaceae*). Thèse de doctorat en Pharmacie. Univérsité de Bamako, Mali. pp. 31-35.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry, 97, 654–660,

Dorman H.J. et Deans S.G., (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. In : métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Journal Application Microbiology**,** 88(2): 308-316.

Ekoumou, C. (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. *Bamako: Thèse de doctorat en pharmacie de l'Université de Bamako*.

ELQAJ M., AHAMIA. Et BELGHYTI D., 2007. La phytothérapie comme alternative à la résistance desparasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques".Maroc.

Es-Safi N.,Kollman A.,Khlifi.S.,Ducrot P.H.(2006). Antioxidative effect of compounds isolated from *Globularia alypum L*.Structure-activity relatioshipe.LWTFood. Sci.Technol.,40:1246-52.

FARNSWORTH N. R., AKERELE O., BINGEL A. S., SOEJARTO D. D. et GUO Z. 1986. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé. 64 (2) : 159-164

FARNSWORTH N. R., AKERELE O., BINGEL A. S., SOEJARTO D. D. et GUO Z. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé. 64 (2) : 159-164.

Fauchère, J.L. et Avril J.L., (2002). "Bactériologie générale et médicale". In : détermination "in vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraiche type hachée. Ellipses Ed Paris, (365).

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108.

Ferhi B., Aiache J-M. (2010) Effet of *Globulria alypum L*. on the gastrointestinal tract. *Journal of Naturel Products* 3 : 141-146.

Franchomme P. et Pénoël D., (1990). L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. In : étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore

Fukushi, E., Onodera, S., Yamamori, A., Shiomi, N. & Kawabata, J. (2000). NMR analysis of triand tetrasaccharides from asparagus. *Magnetic Resonance in Chemistry*, *38*, 1005–1011.

Gazi MR, Kanda K, Yasuda M, Kato F. (2004) Optimisation of cultural conditions and some properties of radical scavenging substances from *Sporobolomyces salmonicolor*. *Pakistan Journal of Biological Sciences, 7*, 1365-1370.

Ghestem,A, Seguin E, Paris M, Orecchioni AM (2008). Le préparateur en pharmacie dossier 2 botanique, Pharmacognosie, phytothérapie-homéopathie, édition technologie et document. P : 205

Green R.J. (2004). Antioxydant activity of peanut plant tissues. Master's Thesis. Department Of Food Science. Faculty of North Carolina State University (USA).

Grubben GJH, Plant Resources of Tropical Africa, Vol 2, Vegetables PROTA Foundation, Wageningen, 2004, 96.

Gulcin_Ilhami , Ercan Bursal, M. Hilal S_ehitog˘lua, Mine Bilsel, Ahmet C.(2010) Goren Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. Fd and Chem Tox: 48. 2227–2238.

Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1993). Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. Free radical research communications, 19(3), 141-158.
H.M. Wisam., T.K. Nahla,. Nahla Tariq. Antioxidant Activities of Thyme Extracts. Pakistan Journal of Nutrition.2017 .17(1):46.

Hafizur RM, Kabir N and Chishti S. *Asparagus officinalis* extract controls blood glucose by improving insulin secretion and β-cell function in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Br J Nutr*, 108(9), 2012, 1586-1595.

Hala G.M, Christ H. et Carla K., (2000). Traditional uses of *Salvia libanotica* (East Mediterranean sage) and the effects of essential oils. In : étude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* . Journal of Ethnopharmacology**,** 71(3): 513-520.

Hartwig S, Malgorzata B.(2006).Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. Vibrational Spectroscopy 43, 13–25

Harzallah1 HJ, Neffati A, Skandrani I, Maaloul1 E, Chekir-Ghedira L, Mahjoub T. 2010. Antioxidant and antigenotoxic activities of *Globularia alypum* leaves extracts. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(19): 2048-2053.

Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol.Therapeut*. **96**: 67– 202.

Hennebelle T, Sahpaz S et Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie. 1,3-6.

Henzen C. 2003. Traitement aux glucocorticoides: risques et effets secondaires. *Forum médical suisse*, 19: 442-446.

HOPKINS W. G., 2003. Physiologie végétale. 2éme édition américaine, de Boeck et Lancier SA, Paris :514.

Igor Passi, L. B. (2002). *Etude des activités biologiques de Fagara zanthoxyloides Lam.(Rutaceae)* (Doctoral dissertation, Thèse de pharmacie, Bamako, p 133).

Isrin P. (2008). Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins .édition Larousse Londres P : 295.

Jacques B., André R., (2004). Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris. pp: 217-219220-223-225.

Jamart B, Bodiguel J, Brosse N. (2009).Chimie organique, 18e édition. DUNOD. Paris. P :585.
Ji Y, Ji C, Yue L and Xu H. Saponins isolated from Asparagus induce apoptosis in human hepatoma cell line HepG2 through a mitochondrial-mediated pathway. *Curr Oncol*, 19(Suppl 2), 2012, eS1–eS9.

Jouad H, Maghrani M, Eddouks M. 2002 .Hypoglycaemic effect of Rubus fructicosis L. and *Globularia alypumL*. In normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethno*

Kaska, A., Deniz, N., & MAMMADOV, R. (2018). Biological Activities of Wild Asparagus (Asparagus acutifolius L.). *International Journal of Secondary Metabolite*, *September*, 243–251.

Khlifi D, Hamdi M, El Hayouni A, Cazaux S, Souchard J.P, Couderc F, Bouajila J. (2011). Global Chemical Composition and Antioxidant and Anti-Tuberculosis Activities of Various Extracts of *Globularia alypum* L. (Globulariaceae) Leaves. *Molecules 16*: 10592-10603.

Khlifi S., El Hachimi Y., Khalil A., Es-Safi N., El Abbouyi A. (2005) In Vitro antioxidant effect of *Globularia alypum L*. hydromethanolic extract. *Indian. J. Pharmacol* 37(4): 227-231.

Kindl, M., Blazekovic, B., Bucar, F. & Vladimir-Knezevic, S. (2015). Antioxidant and anticholinesterase potential of Six *Thymus* Species. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-10. Doi:

Kristina Lozˇiene, Petras R. Venskutonis, Ausˇra Sˇipailiene, Juozas Labokas (2007). Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different Thymus pulegioides L. chemotype, Food Chemistry 103.546–559.

laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Roger Jallois éditeur.

Limoges. 445 p.

Lee K.H, Huang E.S, Pagana J.S. et Geissman T.A., (1971). Cytotoxicity of sesquiterpenes lactones. In Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* . Cancer.Reasearch., 31: 1649-1654.

Leporatti M, Ghedira k. 2009. Comparative analysis of medicinal plants used in traditional medicine in Italy and Tunisia. *Journal of Ethnobiol ethnomed* 5-31.

Liu, Q., Meng, X., Li, Y., Zhao, C. N., Tang, G. Y., & Li, H. B. (2017). Antibacterial and antifungal activities of spices. International journal of molecular sciences, 18(6), 1283.

Macheix JJ, Fleuriet A et Sarni-Manchado P. (2006). Composés phénoliques dans la plante,

structure, biosynthèse, répartition et rôle. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Edition

Technologie et document. Paris. P : 2

Madhuri V, Darshan SK, Kent LE. 2008. Health Effects of Foods Rich in Polyphenols. chapitre 27.Dans: Wild-Type Food in Health Promotion and Disease Prevention. Humana Press Inc., Totowa. pp. 393-412

Madrid Vicente, J. (2000). *Los aditivos en los alimentos: según la Unión Europea y la legislación española*.

Maio, G.D., panizzi, L., (1966) . Structtura della *globularina***,** La Ricerca Scientifica 36,845-850.

Maisuthisakul, P., Pasuk, S. and Ritthiruangde, J.P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Jornal of Food Composition and Analysis*. **21**:

Makris, D. P. &– Rossiter, J. T. (2001). Domestic processing of onion bulbs (*Allium cepa*) and asparagus spears (*Asparagus officinalis*): Effect of flavonol content and antioxidant status. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*, 3216–3222.

Marfak, A. (2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat en biologie, faculté SNV, Université de Limoges. P220.

Martinez-Cayuela, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. Biochimie, 77(3), 147-161.

Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi Ch et Fernandez X. **(2010).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea*

MC Murry J, Simanek E. (2009).Chimie organique les grands principes.2e édition .DUNOD. Paris. P : 100.

Merghache S., Zerriouch M., Merghache D., Tabti B., Djaziri R., Ghalem S.(2013) .Evaluation of hypoglycaemic and hypolipidemic activities of *Globularin* isolated from *Globularia alypum L*. in normal and streptozotocininduced diabetic rats. *Journal of Applied Pharmacol Science* 3(04) : 001-007.

Mohammedi Z. (2006). Etude du pouvoir Antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la Région de Telemcen. Mémoire de Magister en Biologie. Université Abou Bakr Belkaide (Tlemcen). pp: 6-10. Moroccan pharmacopoeia. *Journal of Ethnopharmacology*. 35: 123-143

Ncube N, **Afolayan SAJ, Okoh AI** (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. Afr. J. Biotechnol. 7(12): 1797-1806. Nene Y, Thapilyal L (2002). Poisoned food technique of fungicides in plant disease control (3rd eds). Oxford and IBH Publishing Company, New Delhi.

Neyestani TR. (2008). Polyphenols and Immunity. Chapitre 28. Dans: Wild-Type Food in Health Promotion and Disease Prevention. Humana Press Inc., Totowa, NJ. pp. 413-434

OMS., 2002. Stratégie de l'OMS pour la médecine

Parekh J, Nair R, Chanda S. 2005. Preliminary screening of some folklore medicinal plants from western India for potential antimicrobial activity. *Indian Journal of Pharmacology* 37: 408-409."Abstract".

Pavlov A, Kovatcheva P, Georgiev V, Koleva I, Ilieva M. (2002) Biosynthesis and radical scavenging activity of betalains during the cultivation of red beet (*Beta vulgaris*) hairy root cultures. *Z. Naturforsch*, ***57***, 640-644.

Payne DNR, Adcock IM. (2001). Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Paediatric Respiratory Reviews* 2: 145-150.

Pelletier E., Campbel P., Denizeau F., (2004). Ecotoxicologie moléculaire. Ed. Presses de l'universite du Quebec.canada : 182p.

PELLI K., LYLY M., (2003). Les antioxydants dans l'alimentation. VTT Biotechnology Finlande. (3) :9p.

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. Vaisseaux, Coeur, Poumons, 4(5), 12-23.

Pokorny J, Yanishlieva N et Gordon M. H.,2001. Antioxidants in food: practical applications. Cambridge; Woodhead publishing Limited . New York, USA P.108-109**.**

Pokorný, J. (2007). Are natural antioxidants better–and safer–than synthetic antioxidants?. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *109*(6), 629-642.

Quezel .P., Santa.S., (1963) . Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et Méridionales, tome II .CNRS, Paris. P.860. radical and online HPLC-DPPH methods. *European Food Research and Technology*, *214*,
ramosissimum leaves. Correlation with their antigenotoxic and antioxidant properties. Fd and Chemi Toxic 49. 191–201.

Ranga R. R., Tiwari A. K., Prabhakar R. P., Suresh B. K., Ali A. Z., Madhusudana K. and Madhusudana R. J. New furanoflavanoids, intestinal alpha-glucosidase inhibitory and free-radical (DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of Derris indica (Lam.). *Bioorg. Med. Chem. (***2009)**; 17: 5170-5175.

Rhayour K.H., (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed ben Abdellah Faculté des sciences Dhar Mehraz-Fés.

Roginsky V. et Lissi E., 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food chemistry, 92, 235-254.

Sakaguchi Y, Ozaki Y, Miyajima I, Yamaguchi M, Fukui Y, Iwasa K, Motoki S, Suzuki T, and Okubo H. Major anthocyanins from purple asparagus (*Asparagus officinalis*). *Phytochemistry*, 69(8), 2008, 1763-1766.

SARNI-MANCHADO P. et CHEYNIER V., 2006. Les poly phénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. p2- 10.

Sato M, Fujiwara S, Tsuchiya H, Fujii T, Iinuma M, Tosa H, Ohkawa Y. 1996. Flavones with antibacterial activity against cariogenic bacteria. *journal of Ethnopharmacology* 54:171-176.

Schauenberg P, Paris F(2010).Guides des plantes médicinales. Paris.

Schwämmele B, Winkelhausen E, Kuzmanova S, Steiner W. (2001). Isolation of Carvacrol Assimilating Microorganisme. Biotechnology. 39, 341-345.

SCIMECA D., TETAU M.,(2006). Votre santé par les plants : Le guide familial prévenir et guérir tous les maux quotidiens .Monaco : Alpen, 2005.

Sebai . M .,Boudali. M .(2009/2012). La phytotherapie a la confiance et mefiance , Institut de formation paramédical CHETTIA,

Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Rizner-Hras, A., Simonic, M., Knez, Z.(2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry.* **89**: 191–198.

Skim F, Kaaya A, Jaouhari J.T, Lazrek H.B, Jana M, El Amri H. (1999). Hypoglycaemic activity of *Globularia alypum* leaves in rats. *Fitoterapia*. 70: 382-389

SOFOWORA A., Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Académie suisse des sciences naturelles : Karthala, 2010.,

STRANG C. (2006). Larousse médical. Ed Larousse

Sultana, B., F. Anwar and M. Ashraf, (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules., 14: 2167-2180.
Sun Z, Huang X and Kong L. A new steroidal saponin from the dried stems of *Asparagus officinalis* L. *Fitoterapia*, 81(3), 2010, 210-213.

Surveswaran S, Cai YZ, Corke H, Sun M. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry* 102: 938-953.

Tanguy, M., & Begué-Simon, A. M. (2009). Antioxydants Première partie: les antioxydants dans l'alimentation. *Médecine*, *5*(6), 256-260.

TETAU M., Articulations : votre ordonnance naturelle .Monaco : ALpen ,2005.Universitaires, 277.
Tsushida T, Suzuki M and Kurogi M. Evaluation of antioxidant activity of vegetable extracts and determination of some active compounds. *J Jap Soc Food Sci Technol*, 41, 1994, 611-618.

Ultée A, Kets E.P.W. et Smid E.J., (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. J. Appl. Microbiol., 65(10): 4606-4610.
Vinson JA, Hao Y, Su X., and Zubik L. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J Agric Food Chem*, 46(9), 1998, 3630-3634.

Vonkeman HE, Braakman-Jansen LM, Klok RM, Postma MJ, Brouwers JR, van de Laar MA. 2008. Incremental cost effectiveness of proton pump inhibitors for the prevention of non-steroidal anti-inflammatory drug ulcers: a pharmacoeconomic analysis linked to a case-control study. *Arthritis Research Therapy* 10(6): 1-7.

Wichtel M. Anton R. er Bernard M. (1999). Plantes thérapeutiques: Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Tec & Doc, 692.

Wichtl M, Anton R. (2003) plantes thérapeutiques Tradition, pratique officinale, science etthérapeutique, 2e édition, Edition technologie & Document.

WICHTL M., ANTON R., 2009. Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Edition LAVOISIR, Paris: 38, 41

Wu, X., Yu, X., and Jing, H. (2011). Optimization of Phenolic Antioxidant Extraction from Wuweizi (Schisandra chinensis) Pulp Using Random-Centroid Optimazation Methodology. Int. J. Mol. Sci, 12, 6255-6266; doi:10.3390/ijms12096255.

Zaghada Fatima Zahra. (2008-2009). Activité analophatique et Analyse phytochimique .Université Oran E-Sania.

Zaika L., (1988). «Spices and herbs-their antimicrobial activity and its determination». In : risques et bénéfices possible des huiles essentielles. Journal of Food Safety 9-2: (97-118).

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, Food chemistry, 64 (4). P: 555-559.

Annexe A

1/ Matériels

A. Appareillage

- ✓ Rota vapeur RE300 Cole-Parmer pour la séparation du solvant de l'extrait.
- ✓ Spectrophotomètre UV/visible type mini 1240 SHIMADZU.
- ✓ Plaque chauffante avec Agitation de type Stuart UC 152 utilisé pour la préparation des milieux de culture.
- ✓ Filtres stériles (whatman filter papers) à porosité de diamètre de 150mm utilisé pour la filtration de homogénat/filtrat et la solution.
- ✓ Pour l'utilisation microbiologique on a utilisé Vortex de type VELP et un densitomètre de type, Grant- bio.
- ✓ Autoclave pour la stérilisation des solutions et les milieux de cultures.
- ✓ Balance à précision de type Denver avec l'incertitude de d=0,1 mg.
- ✓ Etuve de type Memmert utilisé pour l'incubation des microorganismes, et le séchage de filtrat.
- ✓ Bain marée de type Memmert.
- ✓ Erlenmeyer, micropipette, éprouvette, pipette pasteur, barreau magnétique.

B. Les produits consommables

- ✓ Ethanol 96 %
- ✓ Méthanol 99 %
- ✓ Glycérol
- ✓ DMSO
- ✓ DPPH
- ✓ Acide ascorbique
- ✓ Acide gallique
- ✓ Quercetine
- ✓ Folin-Ciocalteu
- ✓ Na2Co3
- ✓ AlCl3
- ✓ La solution de carragéenine
- ✓ Ibuprofène
- ✓ Eau distillé

- ✓ Eau physiologique 0.9%

C. Les antibiotiques utilisés

- ✓ Amikacine
- ✓ Gentamicine
- ✓ Vancomycine
- ✓ Tétracycline
- ✓ Chloramphénicol
- ✓ Céfazoline
- ✓ Céfoxitine

D. Milieux de culture utilisée

- ✓ Le milieu de culture Mueller hinton
- ✓ Le milieu de culture Chapman
- ✓ Gélose cétrimide
- ✓ BHIB

2/ Préparation des milieux de cultures

Il existe de nombreux milieux de culture qui permettre le développement, la conservation, l'isolement, la sélection des micro-organismes. Ces milieux peuvent etre soit trouvés dans le commerce sous forme de milieu prêts a l'emploi, soit fabriqués en laboratoire.

 Gélose de Muller Hinton utilisé pour tester la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les antibiotique et les sulfamides par des testes d'effusion. La gélose Mueller Hinton est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme

Gélose Muller Hinton (38 g) plus 1L d'eau distillée. Porter à ébullition avec agitations jusqu'à la dissolution complète de la poudre. La solution a ensuite été stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 30 min.

 Gélose de chapman est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Il permet également de différencier les espèces fermentant le mannitol de celles qui ne le fermentent pas.

Gélose de chapman (111g) de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée stérile. Mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes.

 GELOSE DE CETRIMIDE La gélose au cétrimide est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et l'identification présomptive de *Pseudomonas aeruginosa* qui colore ce milieu en bleu-vert par production de pyocyanine.

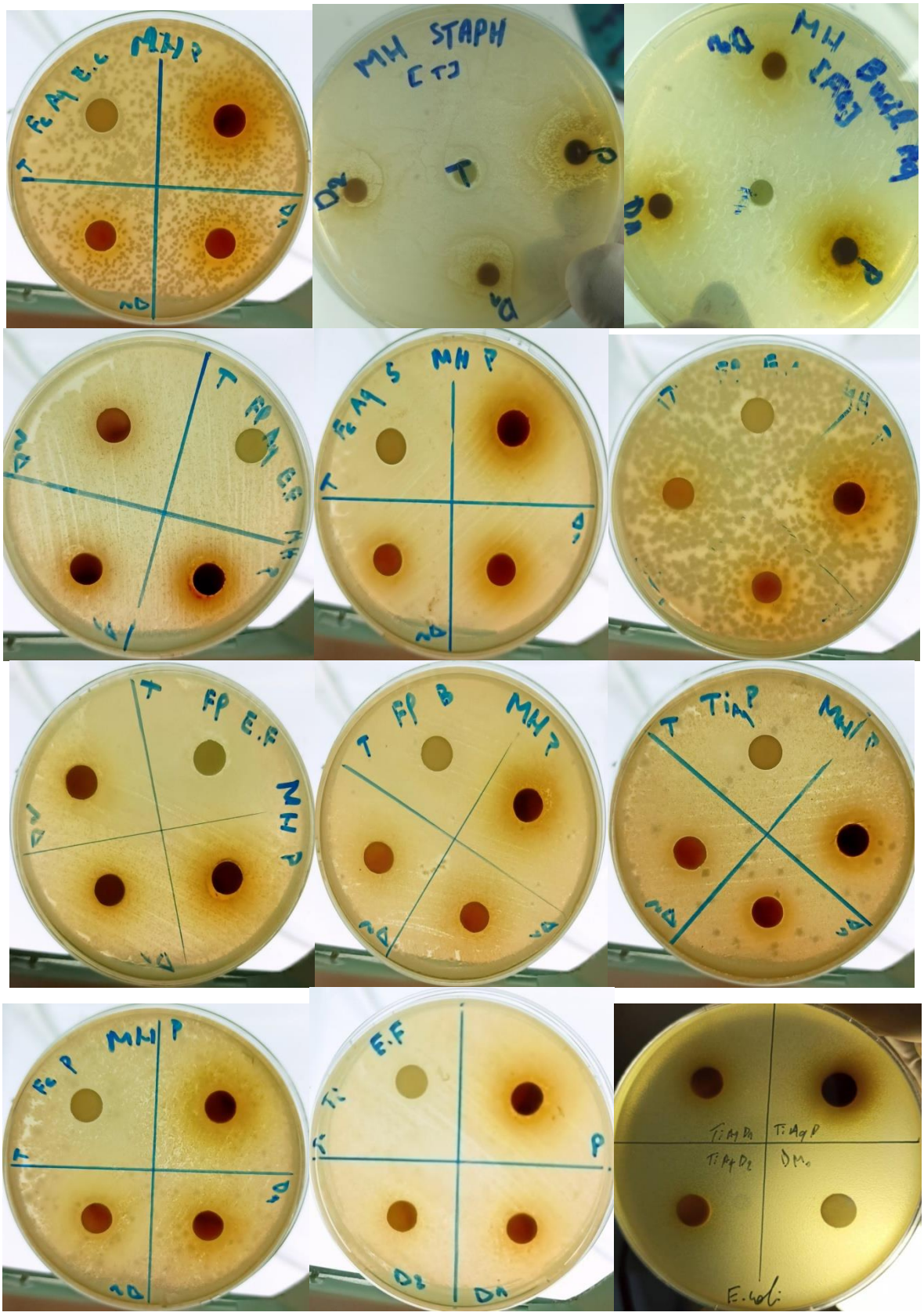
 Bouillon nutritif BHIB est un milieu de culture microbiologique non-sélectif. Elle est utilisée pour la culture d'un grand nombre de microorganismes, notamment de bactéries, des levures et des

3/ Solutions préparées

 L'eau physiologique : L'eau physiologique est une solution à 9%, 9g de NaCl pour 1litre d'eau distillée.

Après préparation, stériliser cette solution et la conserver à 4°C jusqu'à son utilisation.

Annexe B



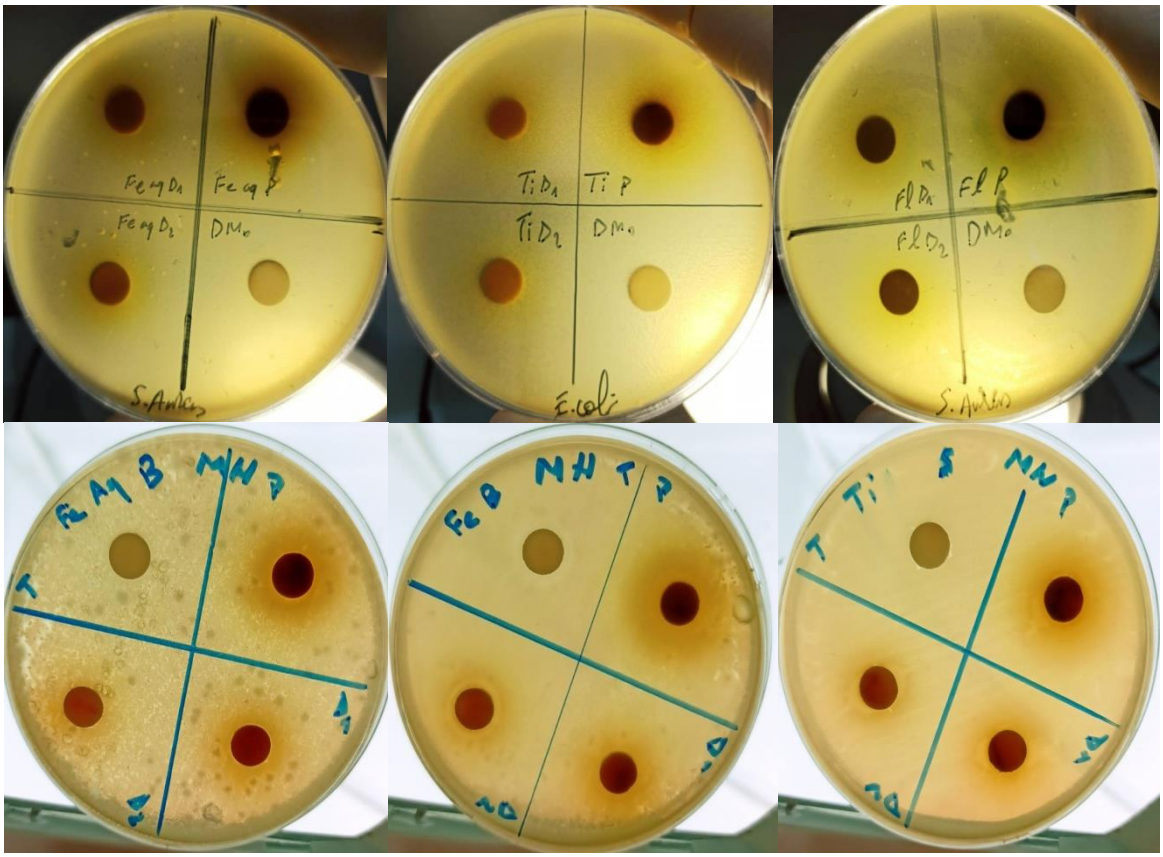


Figure b1 Résultat de l'effet antibactérienne des entraits de *Globularia alypum*.

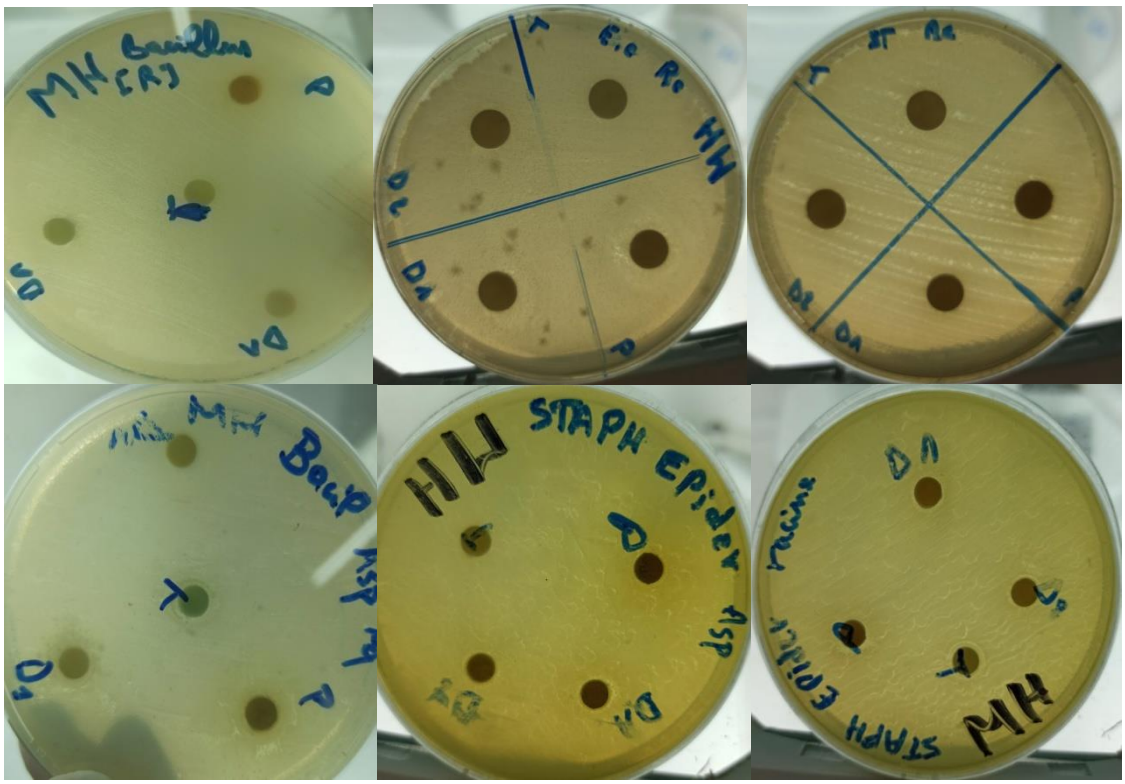


Figure b2 Résultat de l'effet antibactérienne des entraits d'*Asparagus officinalis*

Annexe c

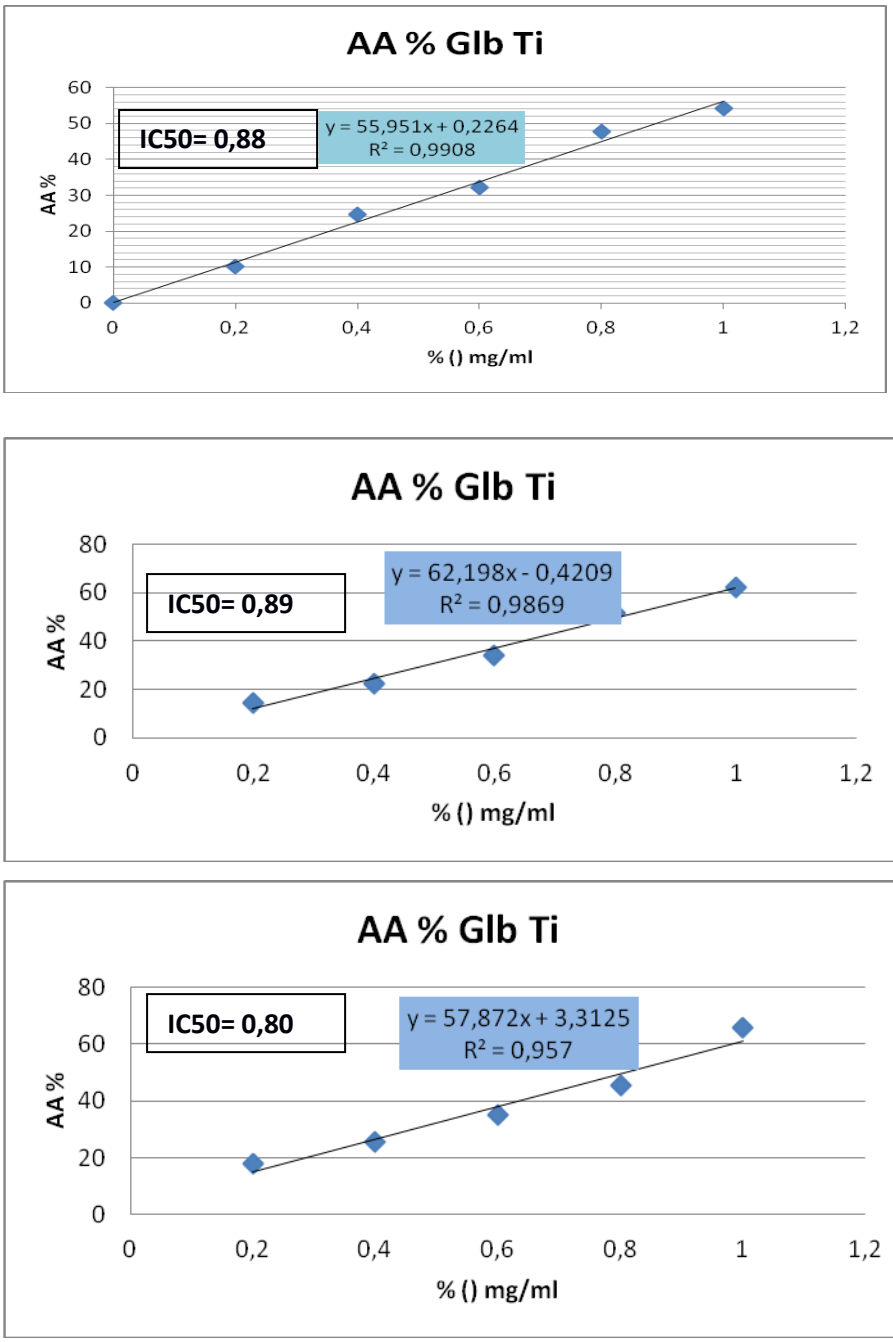
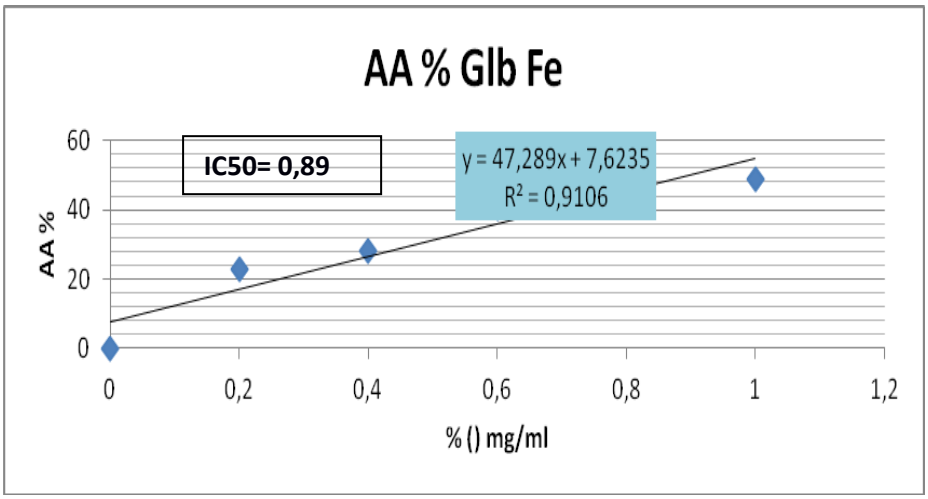
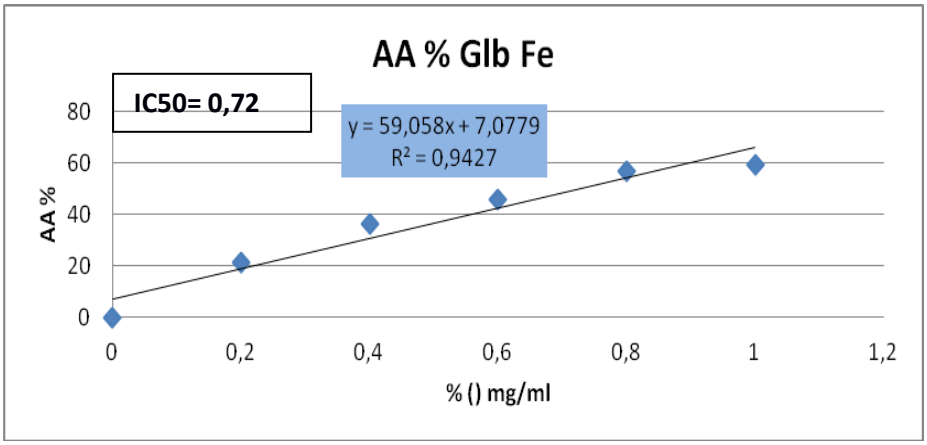


Figure c.1 Courbes des trois essais d'activité anti-oxydante de Glb Ti





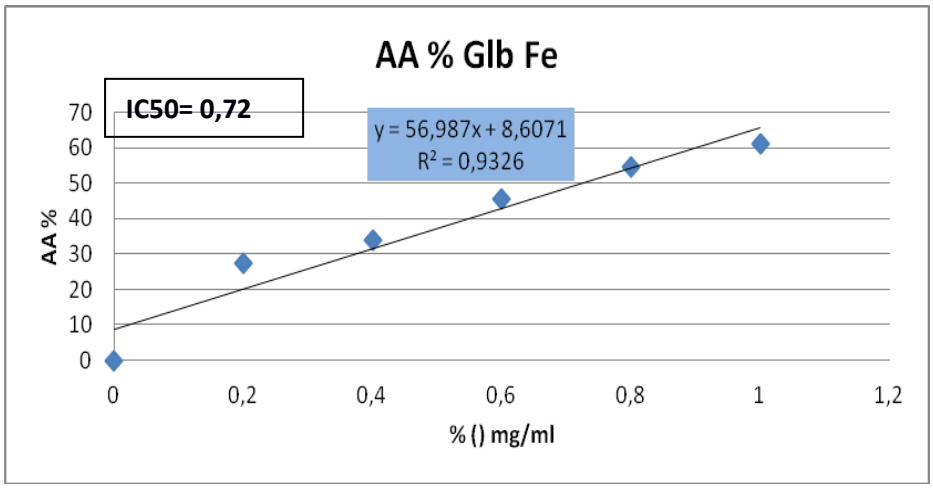
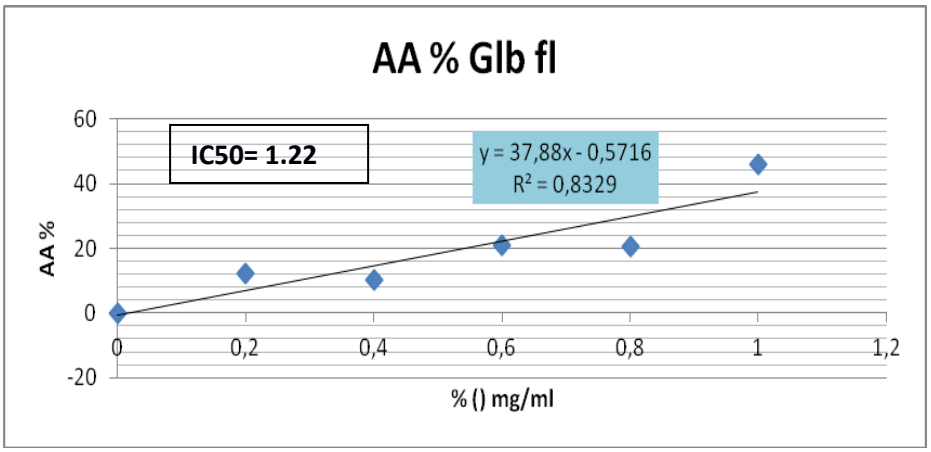
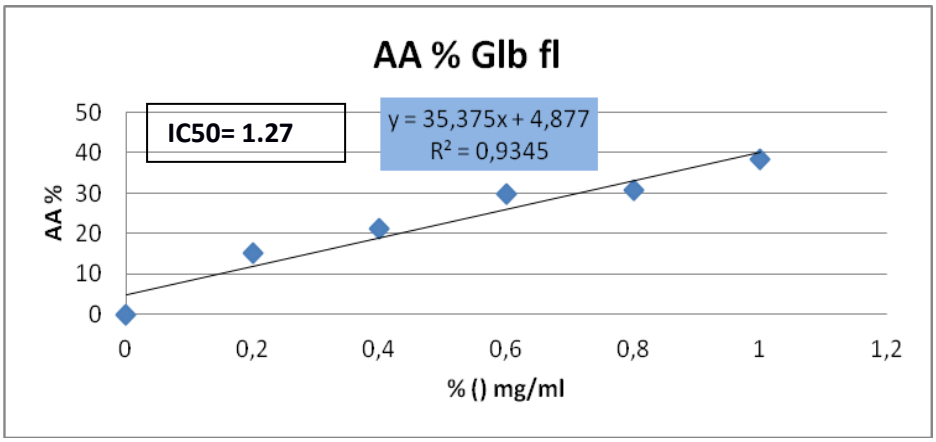


Figure c.2 Courbes des trois essais d'activité anti-oxydante de Glb fe





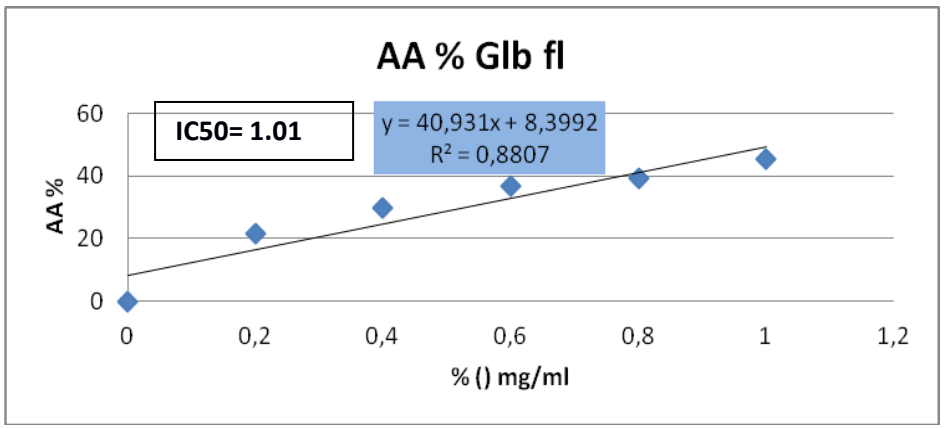
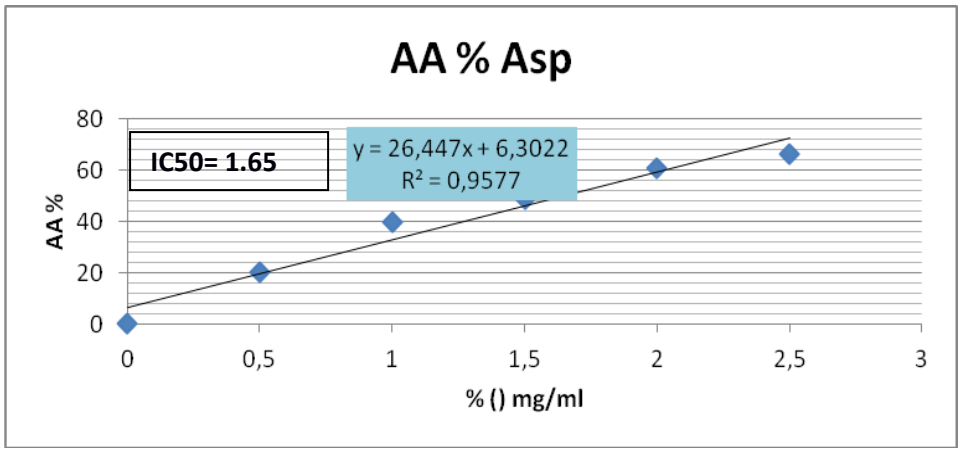


Figure c.3 Courbes des trois essais d'activité anti-oxydante de Glb fl



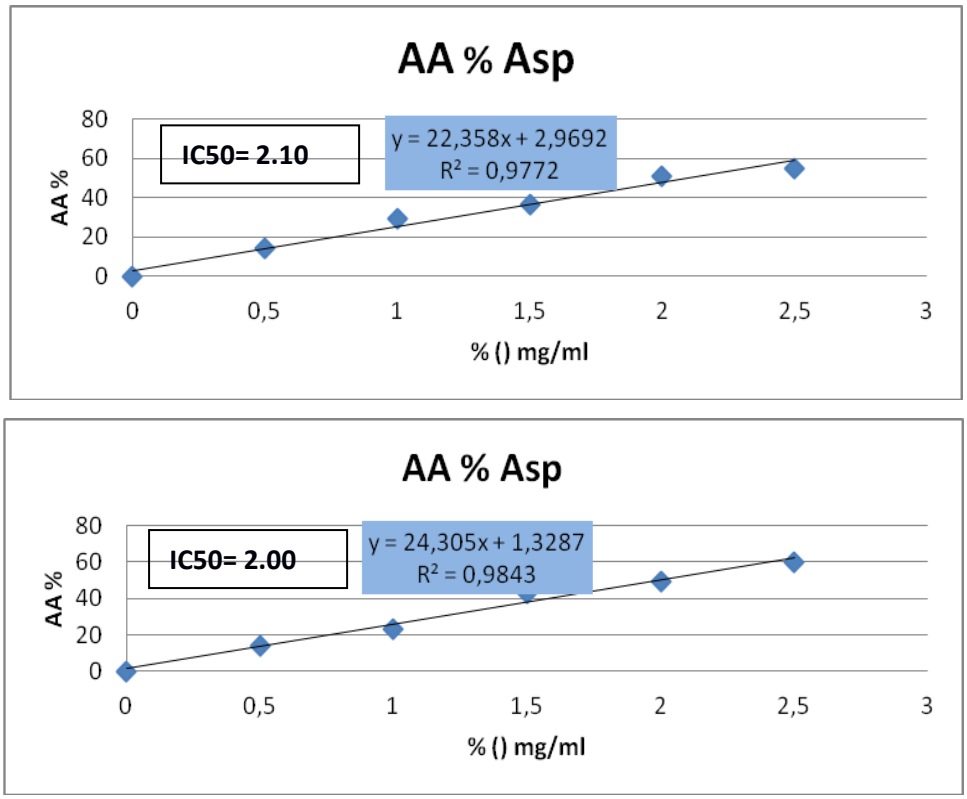
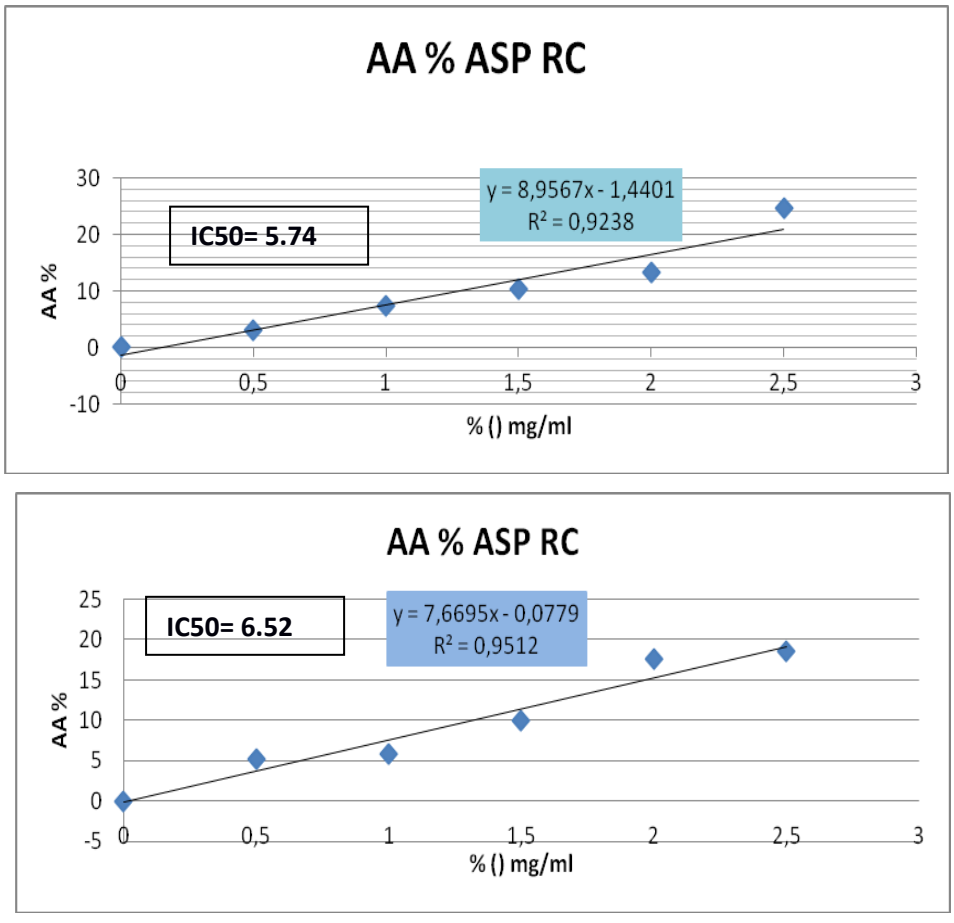


Figure c.4 Courbes des trois essais d'activité anti-oxydante d' Asp



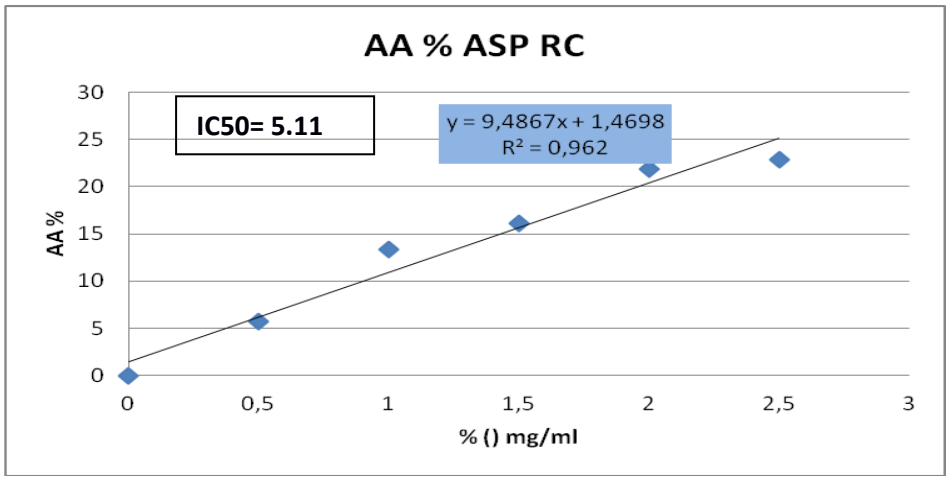
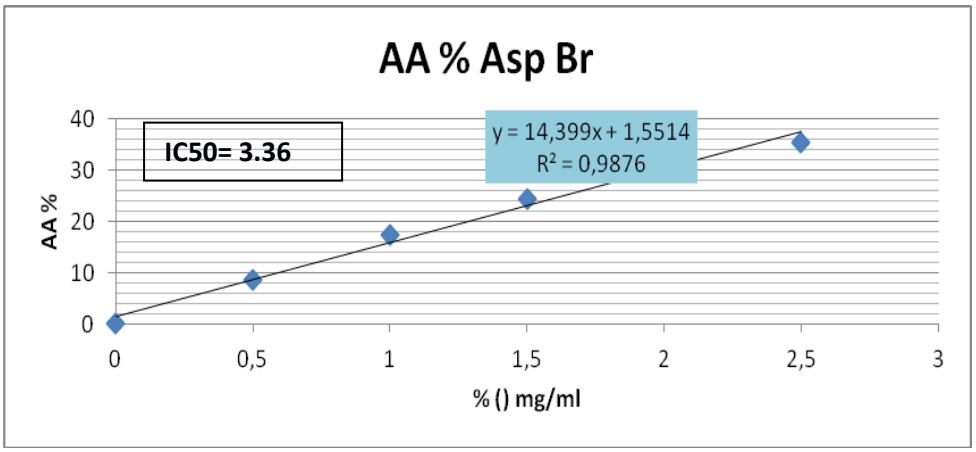
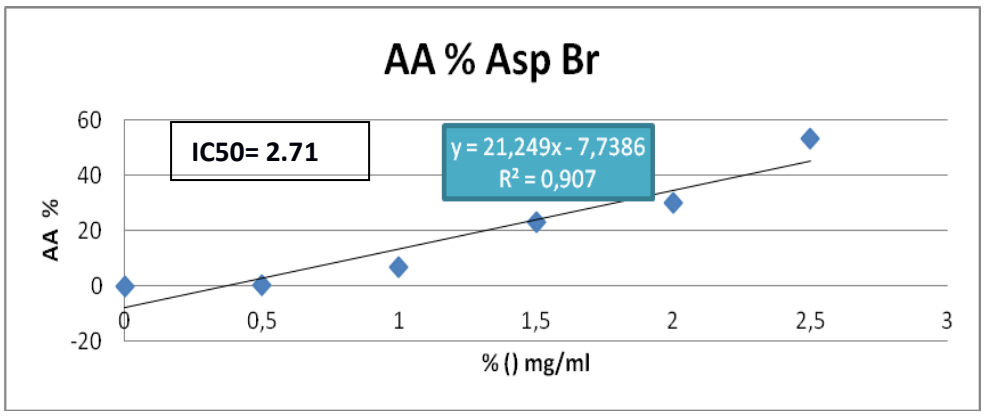


Figure c.5 Courbes des trois essais d'activité anti-oxydante d'Asp Rc





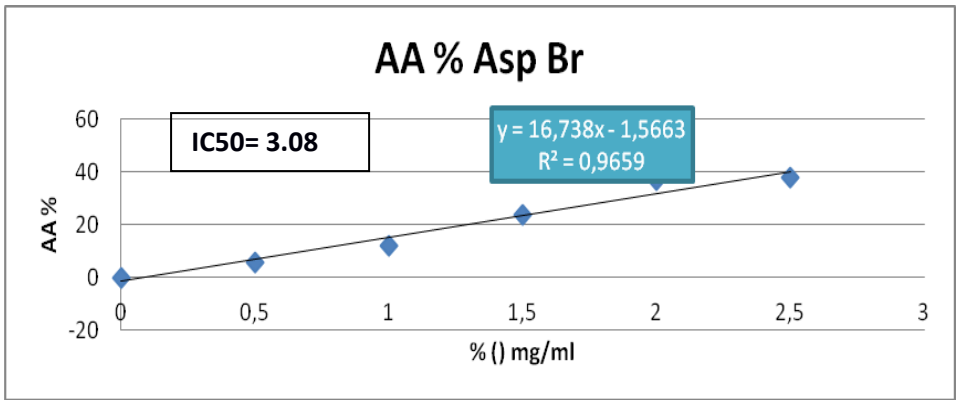


Figure c.6 Courbes des trois essais d'activité anti-oxydante d' Asp Br

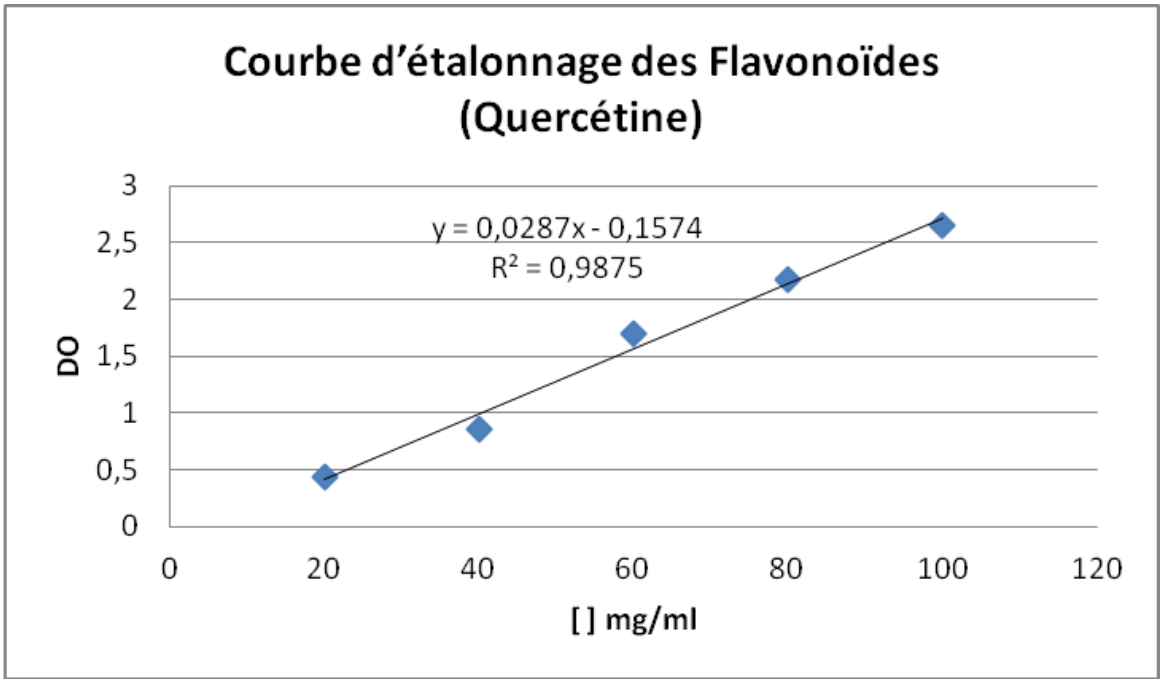


Figure c.7 Courbe d'étalonnage de la quercétine.

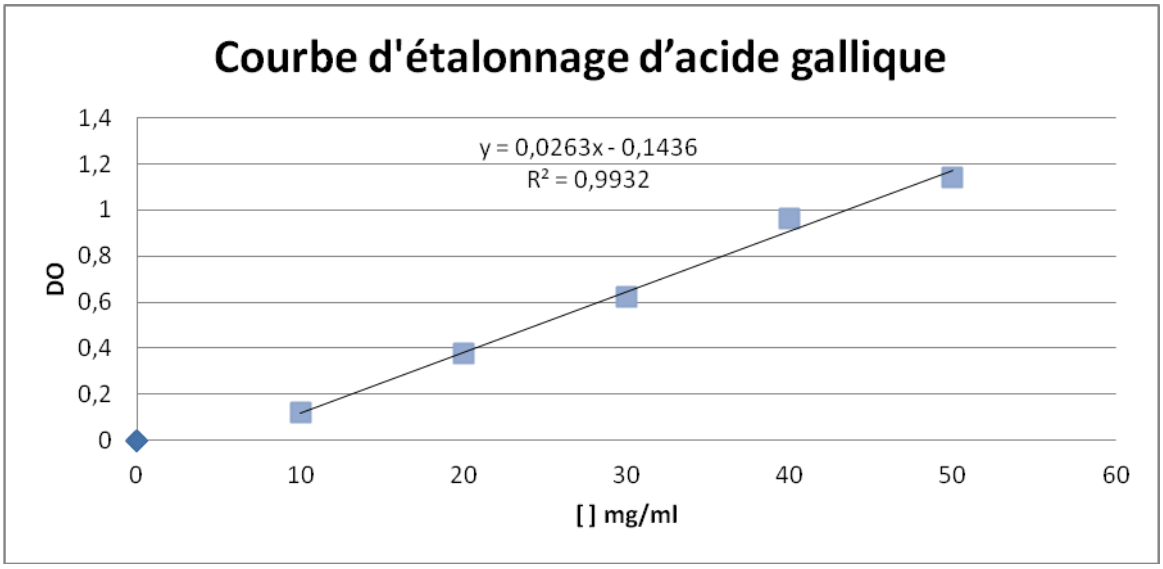


Figure c.8 Courbe d'étalonnage d’acide gallique .

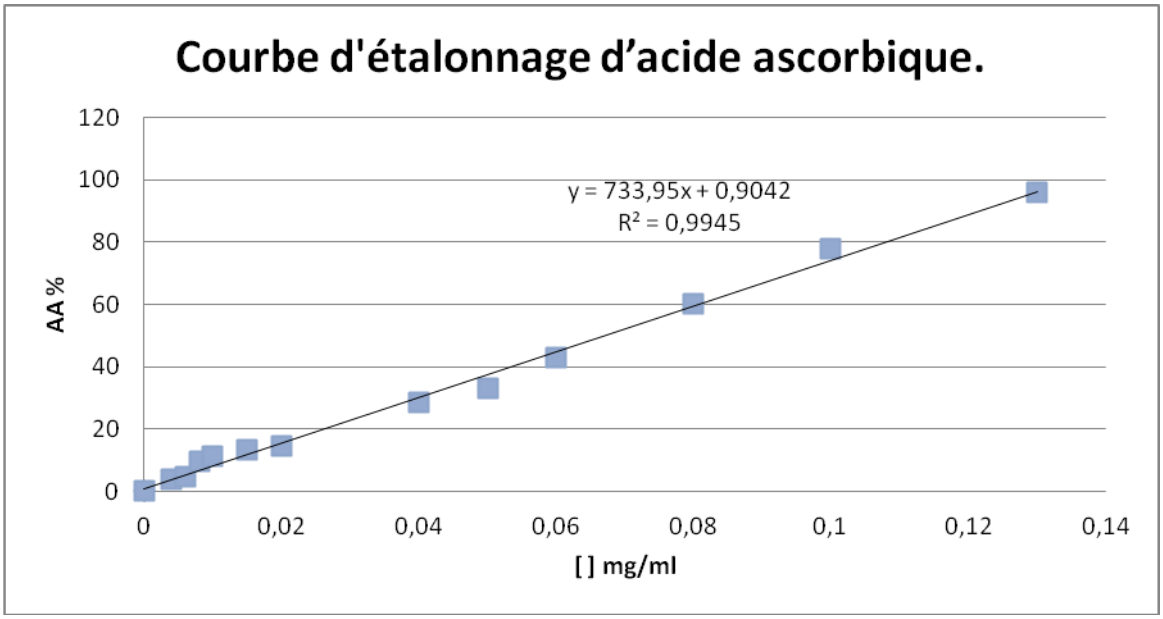


Figure c.9 Courbe d'étalonnage d’acide ascorbique.