REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE

POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT

SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHESCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DR. YAHIA FARES

MEDEAFACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présent en vue de l'obtention du diplôme de Master 2

Domaine : science de la nature et de vie

Filière : science biologique

Spécialité : Microbiologie Appliqué

Intitulé:

Evaluation des activités biologiques, phytochimiques et études comparatives des activités synergétique des extraits aqueux et ethanoliques en vue d'une formulation pharmaceutique

Présenté par :

-Boudiaf Hanan

-Rebahi Amel

Soutenue publiquement le 23 juin 2022 devant le jury composé :

Encadreur	**HOCEINI Amina**	**MCB**	**Université de Médéa**
Co-promotrice	**CHAOUATI Karima**	**MAA**	**Université de Médéa**
Président	**Rahal Mohamed**	**MCB**	**Université de Médéa**
Examinatrice	**BOUMEDIENE Farida**	**MCB**	**Université de Médéa**

Annee universitaire 2021-2022

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 ChAAOUATI 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. Rahal Mohamed enseignant à l'université de Médéa, pour l'honneur qu'il nous a fait en présidant notre jury de soutenance.

On remercie, également, Docteur 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.

A tous les enseignants qui ont contribué à notre formation trouvent ici l'expression de notre estime, de notre reconnaissance et de notre gratitude.

Un merci spécial est adressé à service microbiologie et physico-chimique de groupe Saidal Médéa ; on précise Ms Mohamed, Ms Karim, Mm Sarah, Ms Khaled, Ms Fouad, pour les aider et les guider …

A toute la promotion master II 2022-2023.Option Microbiologie appliqué Merci pour tous les bons moments que nous avons partagés.

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.

… MERCI

Dédicace

Louange à Dieu, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail. On dit « les mots s'envolent, seuls les écrits restent » c'est pour cela que je vous écris ces petits mots

À mon cher père « LHADJ » et À ma mère «HADDA ».

Qui ont toujours été là pour nous, nous les remercions pour leurs sacrifices, leurs amour, leurs tendresse, leurs soutien et leurs prières tout au long de notre cheminement scolaire depuis l'enfance jusqu'à ce stade, que dieu vous prolonge son vie et les rendre toujours fiers de nous

Que Dieu le Tout Puissant vous garde.

A Mes frères ; Boumediene, Hocine, Mohamed, Brahim … Et Mes sœurs ; Safia, Soumia et Lina … et mes beaux-frères ; Sofien et Karim … et mes belles sœurs ; Fatima et Feriel …

A mes nièces, ma vie, mes filles ; Meriem, Ikhlas, Kawther, Alaa et Israa...

A mes neveux, mes bras ; Houssam, Mohamed et Youcef Elsseddik et les deux fœtus à venir …

Qui m'ont toujours confié du courage et qui m'ont soutenue durant les moments difficiles et à qui je souhaite beaucoup de réussite dans leur vie future. Vous êtes la lumière de ma vie sans votre présence je pourrai jamais avancer.

A mes cousines et mes sœurs Nedjwa et Fedwa … qui m'ont fait toujours confiance et qui m'ont beaucoup encouragé pour y arriver.

A mes amies ; ma princesse Amira, Mimi, Yasmine, Amira, Imane, Amina, Romaissa, Amel, Nadia … A la personne que j'aime «A».

Qui me font oublier tous mes soucis avec leurs douces paroles et leur charmant sourire enfantin. Merci pour votre amour sans limite.

A ma chère binôme « Hanane » a eu la patience de me supporter durant ce mémoire, et qui m'a soutenu et encouragé.

A tous ce qui m'aimes Manel…

Dédicace

A l'aide d'« ALLAH » le plus puissant, qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser mon projet de fin d'études que je le dédie :

À Moi-même et je dis merci « NAZNAZA » d'être le seul refuge pour aller toujours en avant. Aux êtres les plus chers à mon cœur « MA FAMILLE ».

A mon père : AMER

Mon modèle de persévérance pour aller toujours en l'avant et ne jamais baisser les bras.

Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils. Paix à son âme

A ma mère. ZAHRITA

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie. Que Dieu vous protège. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers parents que je le dois.

A Mes frères « Mon soutien dans la vie » : MOUHAMED AMINE ET AYOUB.

A Mes sœurs « les perles de ma vie » : AMINA ALIA HADJER ET IBTISSAM.

A Ma grande mère« la deuxième maman » : CHERIFA

A Mes nièces : Amoura Rahaf Khalil Djawad Miral Firass Meriem Assil siradj-eddine Redone

Et le plus beaux « Zakaria ».

Ma personne préférée « Zakary»

J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'elle soit l'accomplissement de tous tes efforts.

A tous mes amies surtout : Iman Khadîdja Amira Amina Yasmin Mona BoowiTi

A mon binôme « Manel » qui m'a partagé les bons et le mauvais moment avec moi

A tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin à tous ceux m'aiment ….

Hanan..


بسم الله الرحمن الرحيم

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1. Plantes Médicinales …… 06

I.1.1.Définition des plantes médicinales**……...06**

I.1.2. Utilisation traditionnelle des plantes médicinales**…… 06**

I.1.3.importance des plantes médicinales **…… 06**

I.1.4. Applications des plantes médicinales **…… 07**

I.1.5. La Phytothérapie **…… 07**

I.1.6.Métabolites secondaires des plantes et leurs principes actifs **…… 07**

I.1.6.1. Les polyphénols **…… 07**

I.1.6.2. Les huiles essentielles **…….. 09**

I.2. Caractéristique général des plantes étudiées **…… 10**

I.2.1. *Melisse officinalis* …… 10

I.2.1.1. Historique **…… 10**

I.2.1.2.la *Melisse officinalis L.* Au sein de taxonomie **…… 10**

I.2.1.3.Dénomination vernaculaire **…… 11**

I.2.1.4. Description botanique **…… 11**

I.2.1.5. habitat et Répartition géographique **…… 12**

I.2.1.6. Usage médical traditionnel **…… 14**

I.2.1.7. La composition chimique et Activités biologiques **…… 14**

II.2.2. *Myrtus communis L* …… 14

I.2.2.1. Historique …… **14**

I.2.2.2. *Myrtus communis* au sein de taxonomie …… **15**

I.2.2.3. Répartition géographique de myrte commun L ……. **16**

I.2.2.4.la description botanique de *Myrtus communis L*. …… **16**

I.2.2.5. Usage médical traditionnel …… **17**

I.2.2.6. La composition chimique et Activités biologiques ……. **17**

I.2.3. *Erica arborea* ……..... **19**

I.2.3.1. Historique ……..... **19**

I.2.3.2. *Erica arborea* au sein de taxonomie …….. **19**

I.2.3.3. Noms vernaculaires …….. **20**

I.2.3.4.Répartition géographique **20**

I.2.3.5. Description botanique ……..... **21**

I.2.3.6. Usage traditionnel et propriétés thérapeutiques et pharmaceutiques …… **21**

I.2.3.7. La Composition chimique …… **22**

I.2.4. *Acanthus mollis* ……. **23**

I.2.4.1. Historique …….. **23**

I.2.4.2. *Acanthes mollis* au sein de taxonomie …….. **24**

I.2.4.3. Nom vernaculaire …… **24**

I.2.4.4. Description botanique …… **24**

I.2.4.5. Répartition géographique …….. **25**

I.2.4.6. Usage traditionnel et propriétés thérapeutiques …… **25**

I.2.4.7.Composition chimique …… **25**

I.3. Activités biologiques …… **27**

I.3.1.Activité antioxydant …… **27**

I.3.1.1.radical libre ……. **27**

I.3.1.2.Les antioxydants **27**

I.3.2.Activité antimicrobienne et l'effet synergique ……. 28

I.3.2.1.L'effet antimicrobien …… **28**

I.3.2.2. Le mode d'action …… **29**

I.3.2.3.La résistance aux antibiotiques …….. **29**

I.3.2.4. l'effet synergique ……. **29**

PARTIE EXPERIMENTALE …….

II. Matériel et méthodes ……. 33

II.1. Matériel …… 33

II.2. Méthode …… 33

II.2.1. Echantillonnage …… **33**

II.2.2.Préparation du matériel végétal ……..…….. 34

II.2.3. Extraction des composés phénoliques **34**

II.2.3.1. Extraction par macération …….. **35**

II.2.3.3. Extraction par décoction …… **35**

II.2.4. Analyses qualitatifs …….. **37**

II.2.5. Analyse quantitative 42

II.2.5.1. Dosage des polyphénols totaux …… **42**

II.2.5.2. Dosage des flavonoïdes ……. **44**

II.2.6. Activités biologiques …… 45

II.2.6.1. Activité anti-oxydante …… 45

II.2.6.2. Activité antimicrobiennes des extraits

et leur effet synergiques …… 48

II.2.6.3. Activité antiinflammatoire *in vivo* …… 55

II.2.7. Formulation de produits ……. 58

II.2.7.1. Préparation de produits **…… 58**

II.2.7.2.Détermination de la qualité microbiologique de produit **…… 59**

II.3.Etude statistique …… 61

Résultat et discussion

III. Résultats et discussion **..... 65**

III.1.Résultats **…… 65**

III.1.1. Extraction **..... 65**

III.1.2.Détermination le rendement **…….. 65**

III.1.3.Analyse qualitative…… 67

III.1.3.1. Screening phytochimique **…….. 67**

III.1.4. Analyse quantitative …….. 74

III.1.4.1.les phénols totaux **…… 74**

III.1.4.2. Dosage des flavonoïdes **…… 75**

III.2. Activités biologiques …… 76

III.2.1.L'activité anti-oxydante *in vitro* ……... 76

III.2.1.1. Piégeage du radical libre DPPH **……. 76**

III.2.2. Evaluation Activité antimicrobienne ……. 79

III.2.2.1. Antibiogramme **…… 79**

III.2.2.2. L'inhibition de la croissance bactérienne **…… 81**

III.2.2.3. Effet synergique **…….. 86**

III.2.3.Activité Anti-inflammatoire *in vivo* …… 93

III.3. Détermination de la qualité microbiologique de produit **……. 96**

III.3.1 Dénombrement des germes aérobies totaux et levures et moisissures totaux……..…… 96

Liste des abréviations :

E A : Extrait aqueux

E E : extrait ethanolique

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

Mg Eq AG / gE : Milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait

Mg EqQ/gE : Milligramme d'équivalent quercétine par gramme d'extrait

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

Hcl: Acide chlorhydrique

$Fecl_3$: Chlorure de fer

Na2 CO3 : Bicarbonate sodium

H_2SO_4 : Acide acétique

NaCl : Chloride sodium

Na2SO4 : picrate de sodium

NaOH : Sodium hydroxide

AlCl3 : Chlorure d'aluminium.

DMSO : Diméthylsulfoxyde

Na2CO3: Carbonate de Sodium

NH_4Oh : Hydroxyde d'ammonium

UV : Ultrat violet

ATB : Antibiotique

MH : Mueller Hinton.

C° : Degré Celsius

H : Heure

Mg : Milligramme

Ml : Millilitre

Min : Minutes

Mm : Millimètre

MS : matière sèche

%: Pourcentage

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : structures de quelques polyphénols **…… 08**

Figure 02 : Structure chimique générale des flavonoïdes **……. 09**

Figure 03 : Structures de quelques alcaloïdes **…….. 09**

Figure 04 : structure de quelques huiles essentielles **……... 10**

Figure 05 : *Melisse officinalis* **..... 13**

Figure 06 : Parties aériennes fraiche et sèches de la ***Mélisse*……... 14**

Figure 07 : aspect morphologique de **myrtus *communis L* ……. 16**

Figure 08 : les organes de la plante *Myrtus communis L* **……. 18**

Figure 09 : *Erica arborea* **…… 23**

Figure 10 : *Acanthus mollis* …… 27

Figure 11 : séchage et broyage des plantes **……. 34**

Figure 12 : Protocole d'extraction des composés phénoliques **…… 36**

Figure 13 : Détection des substances poly phénoliques …**……... 37**

Figure 14 : Détection des Anthraquinone **…… 38**

Figure 15 : détection des alcaloïdes **..... 38**

Figure 16 : Détection des coumarines **……. 39**

Figure 17 : Détection des terpènoïdes **……. 40**

Figure 18 : Détection des tanins **…….. 40**

Figure 19 : Détection des saponines **…… 41**

Figure 20 : Détection des tanins hydrolysable **…….. 41**

Figure 21 : Détection des Quinone libre **…….. 42**

Figure 22 : Détection des anthocynes **…….. 42**

Figure 23 : Protocole de dosage des polyphénols totaux **……. 43**

Figure 24 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique. **…… 44**

Figure 25 : Schéma représentatif du protocole expérimental

De dosage des flavonoïdes …….. **45**

Figure 26 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine. …… **46**

Figure 27 : Forme libre et réduite du DPPH …….. **47**

Figure 28 : préparation de la solution de **DPPH** …… **48**

Figure 29 : préparation des extraits ethanoolique. ……. **48**

Figure 30 : Schéma représentatif du protocole

Expérimental de l'activité antioxydant …… **49**

Figure 31 : préparation d'inoculum. ……. **52**

Figure 32 : préparation des disques d'aromatogramme. …….. **52**

Figure 33 : préparation des dilutions des extraits …… **53**

Figure 34 : ensemencement des bactéries et dépôts des disques. …… **54**

Figure 35 : mesurer le volume initial de patte postérieur de souris. …… **58**

Figure 36 : injection de carragéenine …… **58**

Figure 37 : technique de gavage. …….. **59**

Figure 38 : Préparation de produits. …… **61**

Figure 39 : détermination de la qualité des produits …… **62**

Figure 40 : Présentation du rendement des extraits des plantes étudiées…….. **66**

Figure 41 : Résultats de test des polyphénols **69**

Figure 42 : Résultats de test des Anthraquinones …… **70**

Figure 43 : Résultats de test des alcaloïdes. …… **70**

Figure 44 : Résultats de test des terpènoïdes. **71**

Figure 45 : Résultats de test des tanins ……..…….. **71**

Figure 46 : Résultats de test des tanins hydrolysable ……..…… **72**

Figure 47 : Résultats de test des saponines ……..……. **72**

Figure 48 : Résultats de test des coumarines …….. **73**

Figure 49 : Résultats de test des Quinones libres …… **73**

Figure 50 : teneurs en polyphénol totaux des extrais des quatre plantes étudiées..... **74**

Figure 51 : teneurs en flavonoïdes des extrais des quatre plantes étudiées..... **75**

Figure 52: courbe d'étalonnage d'acide ascorbique. …….. **77**

Figure 53 : Histogramme représentatif d'IC50% par les extraits Ethanoliques…….. **78**

Figure 54 : Aspect des zones d'inhibition de Gentamicine vis-à-vis les souches bactériennes…..... **81**

Figure 55 : Activité antibactérienne des extraits de *Melisse officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm..... **82**

Figure 56 : Résultat de l'effet antibactérien des extraits de *Melisse officinalis*…… **82**

Figure 57 : Activité antibactérienne des extraits de *myrtus communis* exprimée par les diamètres des zones en mm…… **83**

Figure 58 : Résultat de l'effet antibactérien des entraits de *myrtus communis*……. **84**

Figure 59 *:* Activité antibactérienne des extraits d'*erica arborea* exprimée par les diamètres des zones en mm…… **84**

Figure60 : Résultat de l'effet antibactérien des entraits d'Ereca *atborea*…… **85**

Figure 61 : Activité antibactérienne des extraits d'*Acanthe mollis* exprimée par les diamètres des zones en mm…… **85**

Figure 62 : Résultat de l'effet antibactérien des entraits d'Acanthe *mollis* …….. **86**

Figure 63 : Association des extraits de *myrtus communis* exprimée par les diamètres des zones en mm. **……... 87**

Figure 64 : Association des extraits d'*Erica arborea* exprimée par les diamètres des Zones en mm**…….. 87**

Figure 65 : Association des extraits d'acanthe mollis exprimée par les diamètres des zones en mm. **…… 89**

Figure 66 : Association des extraits de Melisse officinalis et myrtus communis exprimée par les diamètres des zones en mm…**…….. 90**

Figure 67 : Association des extraits d'*Acanthe mollis* et *Myrtus communis* exprimée par les diamètres des zones en mm…**…….. 90**

Figure 68 : Association des extraits d'*erica arborea* et *myrtus communis* exprimée par les diamètres des zones en mm…**…… 91**

Figure 69 : Association des extraits d*'Acanthe mollis* et *Melisse officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm…**……. 92**

Figure 70 : Association des extraits d'*Erica Arborea* et *Melisse officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm…**…… 92**

Figure 71 : Association des extraits d'*erica arborea* et *acanthe mollis* exprimée par les diamètres des zones en mm…**……. 93**

Figure 72 : Effet antiinflammatoire des extraits d'*Acanthe mollis* et *Melisse officinalis*.**……... 95**

Figure 73 : Pourcentage d'inhibition du volume de patte postérieure gauche chez les rats prétraités par les extraits ethanoliques d'*Acanthe mollis* et *Melisse officinalis*…….. **96**

Figure 74 : Résultat de pommade **……...97**

Figure 75 : Résultat de gel **……** 98

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : La Taxonomie de *Melisse officinalis L…* **……. 11**

Tableau 2 : taxonomie de *Myrtus coommun.* **……. 17**

Tableau 3 : Taxonomie d'*Erica arborea.* **…….. 21**

Tableau 4 : Taxonomie d'*Acanthus mollis.* **……... 26**

Tableau 5 : Métabolites secondaires identifiés dans l'espèce *Acanthus mollis* **…… 28**

Tableau 6 : Plantes étudiées, leur date et région de récolte **…….. 33**

Tableau07 : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées **..... 51**

Tableau 08 : caractéristiques pour les souches fongiques **…… 51**

Tableau 09 : les probabilités possibles d'association des extraits de différentes parties de la même plante **…… 55**

Tableau10 : les probabilités possibles d'association
Des extraits de différentes plantes **…….. 56**

Tableau 11 : Spécification de qualité microbiologique**…….. 62**

Tableau 12 : Tableau récapitulatif regroupant les rendements des extraits des plantes étudiée**……. 65**

Tableau 13 : Screening phytochimique des extraits des plantes étudiées **……. 67**

Tableau 14 : Activité anti-radicalaire des extraits des plantes étudiées **…… 77**

Tableau 15 : Résultat d'antibiogramme sur les souches révérencielles des bactéries**…….. 79**

Tableau 16 : Résultats de l'antibiogramme sur les souches fongiques de référence**…….. 80**

Tableau 17 : Effet anti inflammatoire d'*Acanthe mollis* et *Melissa officinalis*. Sur l'œdème induit par la carragéenine au niveau de la patte arrière chez la souris**…….. 94**

Tableau 18 : Résultats de qualité microbiologique de pommade **…… 97**

Tableau 19 : Résultats de qualité microbiologique de gel **…….. 97**

Résumé

Notre travail a porté sur l'étude des extraits bruts de *Mélisse officinalis, Myrtus comminus, Erica arborea, Acanthe mollis,* Pour cela nous avons réalisé des tests de screening sur les extraits, ces tests donné une idée générale sur le métabolisme secondaire des plantes et ils ont révélé la présence de quelques groupes chimiques (polyphénols totaux, Flavonoïdes, alcaloïdes, terpène) et une étude des activités anti oxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires des extraits.

L'évaluation quantitative des composés phénoliques par la méthode de Folin-ciocalteu a montré que la quantité de polyphénols la plus élevé enregistrée par l'extrait d'E.Arborea (**37,3** mg EAG/g extrait).

Le dosage des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium a révélé des teneurs de **38,4** mg EQ /g d'extrait de *M.communis* comme une valeur élevé.

L'activité antioxydant *in vitro* a été étudiée par la méthode de réduction du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré que les extraits peuvent agir en tant que piégeurs de radicaux et montré une activité inhibitrice de DPPH. Deux extraits semblent être de bons piégeurs de radicaux, les extraits E.E.d'*E .Fleur* **IC50=0,36**mg/ml *et* de *M.officinalis* **IC50=0,68**mg/ml**.**

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, salmonella typhimirium et Staphylococcus Epidermidus et trois souches fongiques :*S.cerevisiae C.albicans A.brasiliensis*

l'extrait d'***A.mollis*** et d'***E.Arboreae*** ont montré une activité antimicrobienne contre la plupart des souches testées, la meilleure activité inhibitrice était contre *P.aeroginosa* avec une zone d'inhibition significative égale **33,67**mm et **25,45**mm respectivement .

Notre étude phytochimique et biologique a montré que ces plantes possède des potentialités anti-inflammatoires, antimicrobienne et anti-oxydante.

Mots clés : *Mélisse officinalis, Myrtus communis, Erica arboreae, Acanthe molli,* effet synergique.

Abstract

Our work focused on the study of the crude extracts of Melissa officinalis, Myrtus comminus, Erica arborea, Acanthe mollis, For this we performed screening tests on the extracts, these tests gave a general idea about the secondary metabolism of the plants and they revealed the presence of some chemical groups (total polyphenols, Flavonoids, alkaloids, terpene) and a study of the anti-oxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities of the extracts.

The quantitative evaluation of phenolic compounds by Folin-ciocalteu method showed that the highest amount of polyphenols recorded by the extract of E.Arborea (37,3 mg EAG/g extract). The determination of flavonoids by aluminum trichloride method revealed contents of 38.4 mg EQ /g extract of M.communis as a high value.

The in vitro antioxidant activity was studied by DPPH free radical reduction method. The results obtained showed that the extracts can act as radical scavengers and showed DPPH inhibitory activity. Two extracts seem to be good radical scavengers, the E.E. extracts of E.Fleur IC50=0,36mg/ml and M.officinalis IC50=0,68mg/ml.

The antibacterial effect of the extracts was evaluated by the agar diffusion technique against six ATCC reference strains: Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilus, salmonella typhimirium and Staphylococcus Epidermidus, and three fungal strains: S. cerevisiae, C. albicans, A. brasiliensis.

A.mollis and E.Arboreae extracts showed antimicrobial activity against most of the tested strains, the best inhibitory activity was against P.aeroginosa with a significant inhibition zone equal to 33,67mm and 25,45mm respectively.

Our phytochemical and biological study showed that these plants have anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant potentialities.

Key words: Melissa officinalis, Myrtus communis, Erica arboreae, Acanthus molli, synergistic effect.

الملخص

ركز عملنا على دراسة المستخلصات الخام لـ Melissa officinalis ،Myrtus comminus ،Erica arborea ، Acanthe mollis ، لهذا أجرينا اختبارات فحص على المستخلصات ، أعطت هذه الاختبارات فكرة عامة عن التمثيل الغذائي الثانوي للنباتات وكشفت عن وجود بعض المجموعات الكيميائية (البوليفينول الكلي ، الفلافونويد ، القلويات ، التربيني) ودراسة أنشطة المستخلصات المضادة للأكسدة والبكتيريا والمضادة للالتهابات.

أظهر التقييم الكمي للمركبات الفينولية بطريقة Folin-ciocalteu أن أعلى كمية من البوليفينول سجلها مستخلص E.Arborea (37.3 مجم EAG / جم).

أظهر تحديد مركبات الفلافونويد بواسطة طريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم محتويات 38.4 ملجم مكافئ / جم من مستخلص M.communis كقيمة عالية.

تمت دراسة النشاط المضاد للأكسدة في المختبر بطريقة تقليل الجذور الحرة DPPH. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلصات يمكن أن تعمل كمنظفات جذرية وأظهرت نشاطًا مثبطًا لـ DPPH. يبدو أن اثنين من المقتطفات M.officinalis IC50 و E.Fleur IC50 = 0،36mg / ml من E.E. عبارة عن كاسحات جذرية جيدة ، مستخلصات = 0،68mg / ml.

تم تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للمستخلصات باستخدام تقنية انتشار الأجار مقابل ستة سلالات مرجعية من ATCC: Staphylococcus aureus ،Escherichia coli ،Pseudomonas aeruginosa ،Bacillus subtilus ، salmonella typhimirium ،Staphylococcus Epidermidus ،S. براسيلينسيس أ.، وثلاث سلالات فطرية :، أظهرت مستخلصات نشاطًا مضادًا للميكروبات ضد معظم السلالات المختبرة ، وكان أفضل E.Arboreae و A.mollis على التوالي 25،45 mmو 33،67 mmمع منطقة تثبيط معنوية تساوي P.aeroginosa نشاط مثبط ضد.

أظهرت دراستنا الكيميائية النباتية والبيولوجية أن هذه النباتات لها إمكانات مضادة للالتهابات ومضادة للميكروبات ومضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: Melissa officinalis ،Myrtus communis ،Erica arboreae ،Acanthus molli ، التأثير التآزري.

Introduction Générale

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a utilisé des plantes, d'abord pour se nourrir, puis pour se soigner. Il a appris, petit à petit, à reconnaître les plantes comestibles et les plantes toxiques, utilisant certaines d'entre elles à des fins guerrières, criminelles, magiques ou pour faciliter la pêche **(Quetin-Leclercq 2002).**

Dans la tradition populaire, des plantes sont mentionnées pour être des remèdes de différentes maladies. Les recherches modernes ne font que redécouvrir ce savoir acquis au cours des siècles. En effet, de nombreux travaux notoires ont pu démontrés l'activité biologique et les modes d'action thérapeutiques des métabolites extraites à partir des plantes. Ces dernières permettent d'aborder les traitements de façon globale et moins agressive en éliminant la plupart des effets secondaires connus chez certains médicaments dits moderne **(Schawenberg et Paris, 1977).**

Les propriétés biologiques des principes actifs des extraits provenant de diverses sources végétales continuent à avoir un très grand intérêt comme supplément en médecine complémentaire. La plupart de ces extraits contiennent des polyphénols qui sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique **(Iserin, 2001).**

De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes ... etc. **(Jensen et Schripsema 2002).**

En Algérie comme dans tous les pays du Maghreb, les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées surtout dans les milieux ruraux par des personnes âgées qui connaissent encore certaines recettes de tisanes **(Quezel et Santa, 1963).** La médecine traditionnelle, ainsi pratiquée, trouve un accueil favorable auprès des populations qui sont hélas, parfois en proie à un charlatanisme ignorant et dangereux pour les malades **(Delille, 2007).**

Dans le Hoggar et en l'absence de médicine, dans certaines contrées isolées, les Touaregs se soignent avec les plantes médicinales et aromatiques dont ils connaissent le secret transmis de père en fils. De même, en Kabylie lorsque, les montagnards utilisent des plantes médicinales et aromatiques pour se soigner **(Quezel et Santa, 1963).**

Les quatre espèces «*Erica arborea* », «*Acanthus mollis*», «*Myrtus communis L*», «*Méllissa officinalis L*» sont parmi les plantes utilisées dans la médecine populaire algérienne. Ils sont traditionnellement utilisés pour ses effets anti-inflammatoires, astringents **(Gokhan Zengin et *al.*, 2019)**, diurétique, antiulcéreux **(Guendouze-Boucheffa et *al.*, 2015).** Contre les piqûres d'insecte, dans les troubles menstruels, les douleurs abdominales et contre les maladies rhumatismales **(Babulka, 2005)**, contre les bronchites, les sinusites, les otites, les diarrhées et les hémorroïdes. Constituent un remède contre la dysenterie, l'entérite et les hémorragies

(Beloued, 1998).

Grace à ces effets, notre travail porte sur l'évaluation des activités biologiques des extraits de quatre plantes récoltées de la région d'el-Hammdania (Médéa), et la comparaison des effets synergiques de ces extraits.

Ce mémoire est composé alors de deux grandes parties :

La première partie propose une mise en point bibliographique. Elle est divisée en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre : est consacré à l'étude des plantes médicinales et leurs métabolites.
- ✓ Le deuxième chapitre : traite la caractérisation des plantes étudies par une meilleure connaissance de la composition chimique.
- ✓ Le troisième chapitre : touche les activités biologiques des extraits des plantes.

La deuxième partie expérimentale est divisée en :

- ✓ Une partie qui décrit en détail le matériel végétal et la démarche pratique adoptée pour la réalisation de ce travail à savoir :

  -La préparation de matériel végétale de la récolte, l'extraction des principes actifs jusqu'à l'obtention d'un extrait sec.

  -L'évaluation de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits obtenus.

  -L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH.

  -L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis six souches bactériennes (***Staphylococcus aureus***, ***Staphylococcus épidémiques***, ***Escherichia coli***, ***Bacillus sibtilus*** *et* ***Pseudomonas aeruginos*** *et* ***salmonella typhimurium***) et trois souches fongiques (***Candida albicans***, ***Aspergillus brasiliensis***, ***Saccharomyces cerevisiae***), ainsi que la comparaison des effets synergiques entre les extraits de différentes plantes d'une part et entre les extraits des différents organes d'une même plante d'autre part.

  -L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits

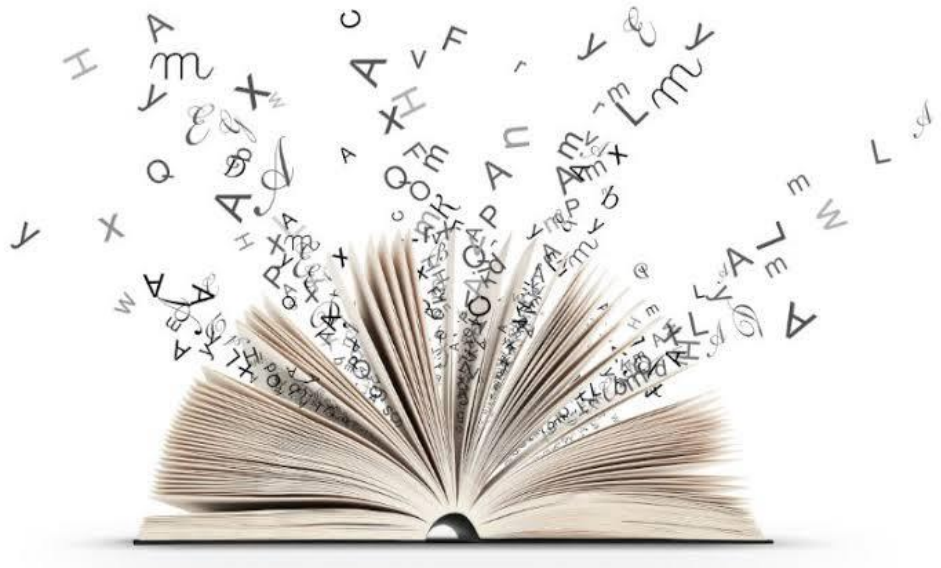
  -L'évaluation de l'activité anticoagulante des extraits.

- ✓ Une partie qui résume les résultats obtenus et leur discussion.

Enfin, ce mémoire se termine par une conclusion générale qui récapitule les résultats les plus importantes.

Partie I :

Synthèse Bibliographique



« Une mauvaise herbe est une plante dont on n'a pas encore trouvé les vertus »
Ralph Waldo Emerson

I-1. Plantes Médicinales

I.1.1.Définition des plantes médicinales

Selon l'Organisation mondiale de la santé, les plantes médicinales contiennent dans un ou plusieurs de leurs organes des substances qui peuvent être utilisés à des fins thérapeutiques ou q ui sont des précurseurs de la synthèse de médicaments utiles.

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies **(Schauenberg et Paris ,2006).**

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).**

Les plantes médicinales fournissent aux gens des médicaments pour prévenir les maladies, maintenir la santé ou guérir les maux. La plante médicinale possède des caractéristiques favorables à la santé, procure un soulagement temporaire des problèmes symptomatiques, ou à des propriétés curatives. Les racines, les feuilles, les graines, l'écorce ou toutes les parties d'une plante médicinale possèdent un principe thérapeutique, ou un précurseur de la synthèse de médicaments utiles **(Alamgir, 2017).**

I.1.2.Utilisation traditionnelle des plantes médicinales

Malgré le développement du médicament de synthèse, le médicament végétal sous ses différentes formes continues à occuper une place de choix ainsi, l'OMS estime que la médecine traditionnelle couvre les besoins en soins de santé primaire de 80% de la population mondiale. Ce phénomène n'est pas seulement limité aux pays en développement. Une analyse des prescriptions médicales menée aux Etats-Unis entre 1959 et 1980, a montré que 25% d'entre elles contenaient un principe issu du règne végétal, tandis que près de 60 % des prescriptions en Europe de l'Est proviennent directement ou indirectement de plantes **(Hmamouchi et *al.*, 2012)**.

I.1.3.importance des plantes médicinales

Les plantes avec leur nombre illimité constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et activités biologiques. La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques car elles contiennent des principes actifs (telles que les polyphénols et les flavonoïdes, tanins, huiles essentiels…) qui sont douées de plusieurs propriétés physiologiques et biologiques surtout celles destinées à la santé humaine et qui agissent directement sur

l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie ; elles présentent, en effet, des avantages dont les médicaments sont dépourvus **(Bruneton, 1999**).

I.1.4. Applications des plantes médicinales

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolismes secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale. Il y a eu donc un réveil vers un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effet secondaire défavorable **(Bruneton, 1999)**.

I.1.5.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).**

I.1.6.Métabolites secondaires des plantes et leurs principes actifs

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 composés sont utilisés en médecine moderne. Nous citerons ci-dessous quelques importants groupes phytochimiques, source de molécules biologiquement actives.

I.1.6.1. Les polyphénols

Les tissus végétaux contiennent un grand nombre de substances à fonctions phénols, dont les plus importants sont les anthocyanes (pigments rouges et bleus des fleurs et des fruits), les flavones et leurs dérivés (pigments jaunes), les tanins…etc. **Bourzeix, (1976)** ont classé les constituants phénoliques en différents groupes :

-Les phénols simples.

-Les acides phénols et leurs dérivés.

-Les catéchines et leurs esters galliques. -Les leucoanthocyanes.

-Les anthocyanes.

-Les flavonoles.

-Les tanins et leurs dérivés.

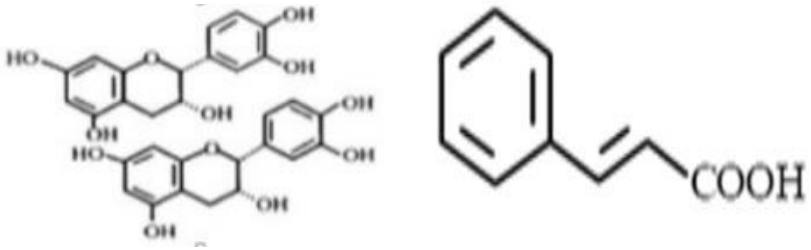


Figure 01 : structures de quelques polyphénols **(Bruneton, 1999).**

A. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes tirent leur origine du mot latin « flavus = jaune ». Ce terme a été utilisé pour la première fois pour décrire la famille de composés colorés en jaunes **(Jovanovic et *al.*, 1997)**. Par la suite, on leur avait ajouté les flavonones moins intensivement colorés, des flavonoles moins colorés (catéchines), les composés colorés en rouge et des anthocyanidines bleues. Certains dérivés flavoniques sont utilisés en thérapeutique comme des protecteurs capillaires. D'autres possèdent des activités diurétiques, antispasmodiques, antiulcéreuses, gastriques et anti-inflammatoires. Ce sont des molécules toxiques mais bien tolérées par l'Homme **(Bezanger et *al.*, 1980)**.

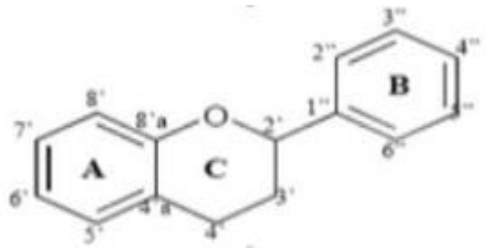


Figure 02 : Structure chimique générale des flavonoïdes **(Havsteen, 2002).**

B. Les alcaloïdes

Malgré les propriétés très hétérogènes, un certain nombre de substances sont regroupés sous le terme «alcaloïdes » en raison de leur origine végétale et de leur caractère alcalin **(Guignard et *al.*, 1996)**. Ils forment un groupe très hétérogène du point de vue : structure, propriétés chimiques et activités biologiques. Ce sont des bases

de poids moléculaire très variable, qui donnent des sels en présence des acides **(Paris et Hurbielle, 1981)**.

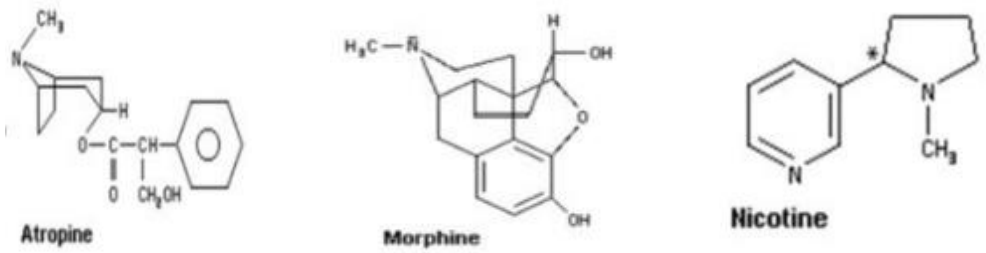


Figure 03 : Structures de quelques alcaloïdes **(Bouchelta *et al.*, 2005).**

C. Les tanins

Le terme tanin désigne des substances phénoliques de structures assez éloignées mais ayant en commun des propriétés tannantes. Ces propriétés tannantes concernent plus particulièrement un ensemble de substances poly phénoliques d'origine végétale dont les masses moléculaires sont comprises entre 500 et 3000 daltons **(Paris et Hurbielle, 1986).** Ces substances peuvent être classées en deux catégories : les tanins hydrosolubles ou tannoïdes, qui sont des polymères de l'acide gallique, et les tanins vrais non hydrosolubles, qui sont des polymères de certains flânons.

I.1.6.2.les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires des plantes, appelées couramment essences, elles sont des produits odorants volatiles, extraits de différentes parties de plantes **(Bonnafous, 2013 ; Hilan et *al*., 2011 ; Tongnuanchan et *al*., 2014),** possèdent un indice de réfraction élevé et ont une densité inférieure à celle de l'eau, tandis que plusieurs exceptions existent. Elles sont aussi solubles dans les alcools et la plupart des solvants organiques **(Li et *al*., 2014)**.

L'activité biologique des huiles essentielles dépend de leur composition chimique **(Jovanka et *al*., 2011**). A été reconnu dans le passé, les huiles essentielles étaient uniquement utilisées à des fins thérapeutiques directement pour les humains et les animaux **(Soto Mendívil et *al*., 2006).**

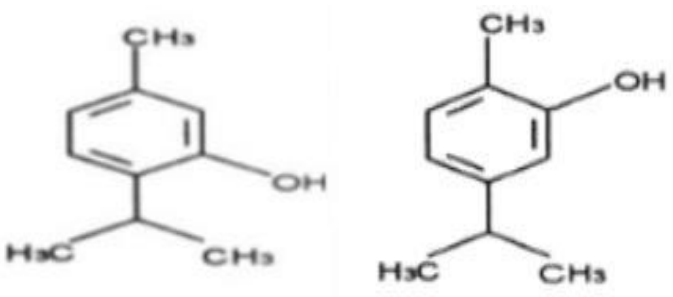


Figure 04 : structure de quelques huiles essentielles **(Schwämmele, 2001).**

I.2. Caractéristique général des plantes étudiées

I.2.1. *Melisse officinalis*

I.2.1.1. Historique

Melisse officinalis est une vieille plante mellifère, condimentaire et médicinale, importée par les Romains et les anciens Grecs **(Anrdraes, 1998).** Avicenne **(980-1037)** la recommandait parce que, disait-il elle rendait le cœur joyeux par la suite il découvrit son action positive sur le tube digestif.

Ce sont les médecins arabes qui ont découvert les vertus médicinales de *Melisse officinalis* L .vers les Xe siècles, ils vantaient son pouvoir cordial « qui réjouit le cœur »ainsi que son remède contre la mélancolie **(Delaveau et *al*., 1989).**

Durant du XIX* Siècles et mise au point par les religieux du Carmel, « l'Eau de Mélissa des carmes et de la chartreuse »est toujours utilisée et est employée contre les vertiges et les syncopes **(Delille, 2007).**

Une importante étude clinique effectuée en **1990** a montré l'efficacité de l'association Mélissa-Passiflore dans le traitement de l'anxiété **(Roux, 2005).**

I.2.1.2.la *Melisse officinalis L.* Au sein de taxonomie

La Taxonomie de *Melisse officinalis L.* est donnée selon **Quezel et Santa (1962-1963). (tab1)**

Tableau 1 : La Taxonomie de *Melisse officinalis L.*

Règne	**Végétal**
Ordre	**Lamiales**

Embranchement	**Spermaphytes**
Sous-embranchement	**Angiospermes**
Famille	**Lamiacées**
Classe	**Eudicotylédones**
Sous-classe	**Astéridées**
Genre	**Melissa**
Espèce	***Melissa officinalis***

On note trois espèces : officinalis, inodora et altissima. L'espèce officinalis est la plus utilisée en thérapeutique **(Carnat et *al*., 1998**).

I.2.1.3.Dénomination vernaculaire

Cette plante présente plusieurs noms vernaculaires :

Nom botanique : *Melisse officinalis L*

Nom français : Citronnelle. Piment des abeilles, The de France, Poincirade. Citronade, Piment des ruches. pament des mouches **(Bonnier, 1990).**

Nom anglais : Nom Anglais : Lamon blam, Bee blam, Blam, Common Balm, Balm Mint, Pimentary **(Bonnier, 1990).**

Nom arab : Habaq t-trunj,Merzizou**(Ait Youssef,2006**), Tourounndjan **(Baba Aissa,2011).**

I.2.1.4. Description botanique

Très recherchée par les abeilles, le nom de la *Mélisse officinale (Melissa officinalis*) vient du grec melissophullon qui signifie « feuille à abeilles ».C'est une plante médicinale et aromatique**((kothe,2007).**

C’est une plante également herbacée vivace de la famille des Lamiacées avec des feuilles à l’odeur et la saveur citronnées **(Kothe, 2007**).

Les feuilles pétiolées, sont réparties de façon opposée et décussée sur la tige **(Wichtl & Anton, 2003).** Leurs bords sont fortement crénelés, Elles sont de forme ovale et cordiforme, aux nervures réticulées très saillantes sur la face inférieure, donnant cet aspect gaufré à la face supérieure. La surface est recouverte de fins poils courts **(Perrot & Paris, 1971).**

Le fruit est un tétrakène contenant de petites graines brunes, foncées et luisantes.

La *melisse* possède une tige carrée, dressée et ramifiée, poussant en touffe, mesurant le plus souvent entre **30** et **80** centimètres de haut **(Perrot & Paris, 1971; Thoby, 2009).**

La *Mélisse officinale* peut parfois, notamment si elle est cueillie à l’état sauvage, être confondue avec d’autres plantes **(Wichtl et Anton, 2003 ; Babulka, 2005).**



Figure 05 : *Melisse officinalis* .

I.2.1.5. habitat et Répartition géographique

Originaire de la région méditerranéenne orientale, elle pousse à l'état sauvage dans les pays chauds. On la retrouve, à l'état spontané, en touffe, dans les terrains vagues, aux abords d'habitations, dans les haies, aux pieds des murs et bords des chemins jusqu'à **1000**mètres d'altitude **(Hayon, 2007; Boullard, 2001).**

Elle s'est parfaitement acclimatée aux régions tempérées d'Europe occidentale. La mélisse pousse sur tout type de sols sauf les plus fluides. En sol léger et fertile elle peut

même être envahissante. L'idéal pour cette plante est un sol drainé, chaud mais pas trop sec, sablonneux ou argileux-sablonneux, riche en humus et un emplacement ensoleillé. Elle peut pousser dans des endroits ombragés mais sa teneur en huile essentielle sera amoindrie **(Teuscher et *al.*, 2005).**

En Algérie, la *mélisse* est cultivée dans les régions de **la Kabylie**. Néanmoins, elle est spontanée dans les montagnes du tell, ou elle est signalée comme assez rare jusqu'en **1962.**

On l'observe dans les ravins humides des montagnes de **Babors**, du **Djurdjura** et de **l'atlas Blidéen**, les décombres, les endroits frais et les forêts, ainsi qu'aux alentours des maisons. **(Beloued, 2005; Baba Aissa, 1999).**

A. Culture et récolte

Cultivée sur un sol profond et bien exposé au soleil, la récolte des feuilles aura lieu avant la floraison en raison de l'odeur de punaise développée par les fleurs, et par temps sec car les feuilles noircissent à l'humidité **(Hayon, 2007).**

La récolte se fait à partir de la seconde année. Les feuilles se cueillent sur les jeunes pousses ne dépassant pas **30** centimètres, et on peut réaliser **2** à **3** récoltes par an si l'on prend soin de les cueillir régulièrement, de juin à septembre. La partie aérienne de la plante se récolte de juin à août. Le séchage se fait à l'ombre en dessous de **35 °C (Delaveau et *al.*, 1989).**

On conserve le tout dans un récipient fermé à l'abri de la lumière, de la poussière et de l'humidité, mais elle ne conservera pas son arôme au-delà d'une année. **(Thomson, 1981).**

B. Partie utilisées de la plante

On utilise les parties aériennes, feuilles sommités fleuries fraiches ou séchées



Figure 06 : Parties aériennes fraiche et sèches de la ***Mélisse*** .

I.2.1.6. Usage médical traditionnel

La *mélisse* est connue depuis des siècles en tant que plante médicale. Le philosophe, écrivain et médecin **perse Avicenne (980 - 1037)** recommandait la ***Mélisse*** pour renforcer le cœur. L'écrivain anglais **John Evelyn (1620 - 1541)** a décrit la ***Mélisse*** comme une plante qui structure le cerveau, renforce la santé mentale et supprime la mélancolie (**Bahtiyarca Bagdat et Cosge, 2006).**

Cette plante est très utile pour le traitement des agitations nerveuses, comme somnifère (**Herodez et *al.*, 2003**). Dans la médecine traditionnelle, la ***Mélisse*** est utilisée pour soigner : céphalée, nervosité, troubles gastro-intestinaux, bronchite, dépression, hystérie (**Herodez et *al.*, 2003 ; Dastmalchi et *al.*, 2008)**, rhumatisme, flatulence, nausée, anémie, vertige, syncope, asthme, aménorrhée, insuffisance cardiaque, troubles de la conduction cardiaque, insomnie, épilepsie, psychose, ulcères, blessures (**Dastmalchi et *al.*, 2008**), troubles de l'abdomen inférieur, migraine, faiblesse nerveuse, mal de dents et hypertension artérielle (**Herodez et *al.*, 2003**).

I.2.1.7. La composition chimique et Activités biologiques

La quantité d'huile essentielle présente dans la ***Mélisse*** n'est pas très importante (**0,02Ŕ 0,32%** du poids sec de la ***Mélisse***) **(Ribeiro et *al.*, 2001 ; Toth et *al.*, 2003 ; Carnat et *al.*,1998)**, mais son prix est élevé **(Ribeiro et *al.*, 2001).** L'huile essentielle de ***Mélisse*** présente des activités antibactériennes, anti-parasitiques, antihistaminiques et antifongiques **(Sadraei et *al.*, 2003).** Les principaux composés de l'huile essentielle sont le citral (représenté par les deux stéréo-isomères néral et geranial), le caryophyllène et le citronellal (**Toth et *al.*, 2003 ; Carnat et *al.*, 1998 ; Fialová et *al.*, 2008 ; Rozzi et *al.*, 2002)**. D'autres composés y sont présents en petits quantités tels que germarcène D, ocimène, citronellol **(Carnat et *al.*, 1998).**

oxyde de caryophyllène, néral acétate (**Rozzi et *al.*, 2002)**, linalol, geraniol **(Ribeiro et *al.*, 2001).**

La ***Mélisse*** est composée de flavonoïdes, lutéoline, quércétol, acides phénols, caféine, chlorogénique, labiatique, muccilage, dérivés terpéniques (**Hmamouchi, 1999).**

I.2.2. *Myrtus communis L.*

I.2.2.1. Historique

Myrtus communis Linn. Ou ***myrte commun*** (famille ¾ Myrtaceae) est l'un des médicaments importants utilisés dans **Unani** Système de médecine depuis la période de la **Grèce antique**. Il est reconnu comme Aas et ses baies sont connues sous le nom de **Habb-ul-Aas**. Il est souvent cultivé pour son beau feuillage, ses fleurs et ses baies.

Ses baies, ses feuilles ainsi que son huile essentielle sont fréquemment utilisé pour diverses affections comme l'ulcère gastrique, la diarrhée, la dysenterie, les vomissements, les rhumatismes, les hémorragies, les sinus profonds, leucorrhée et à des fins esthétiques comme le contrôle de la chute des cheveux.

Les feuilles, les baies et les brindilles sont utilisées pour aromatiser les aliments et vins. Autrefois, les fruits mûrs étaient utilisés comme intégrateurs alimentaires en raison de leur teneur élevée en vitamines.

Une large gamme des composés biologiquement actifs tels que les tanins, les flavonoïdes, les coumarines, l'huile essentielle, l'huile fixe, les fibres, les sucres, l'acide citrique, l'acide malique et les antioxydants sont présents dans la plante. Cette contribution dresse un état des lieux exhaustif de son expertise ethno-médicale. Usages, constituants chimiques et profil pharmacologique en tant que plante médicinale **(Sabiha-Sumbul et *al*.,2011).**



Figure 07 : aspect morphologique de **myrtus *communis L***

I.2.2.2. *Myrtus communis* au sein de taxonomie

La Taxonomie de *Myrtus communis L.* est donnée selon **(Quezel et Santa 1856). (tab2).**

Tableau 2 : taxonomie de *Myrtus coommun.*

Règne	**Plantae**
Sous-règne	**Eucaryotes**
Embranchement	**Spermaphytes**
Sous-embranchement	**Angiospermes**
Classe	**Dicotylédones**
Ordre	**Myrtales**
Famille	**Myrtaceae**
Genre	**Myrtus L**
Espèce	***Myrtus communis L*.**
Nom vernaculaire	**Rayhan, Mersin**

I.2.2.3. Répartition géographique de myrte commun L

La famille des myrtacées pousse spontanément et en abondance dans le bassin **Méditerranéen**. Le genre ***Myrtus*** est le seul genre qui soit indigène en **Méditerranée** et au **Sahara (Rameau et *al.*, 2008).** Le ***Myrte*** sauvage pousse abondamment du **Nord-Ouest** et de **l'Est de la méditerranée** y compris les pays frontaliers de l'**Europe du sud (Goetz et Ghedira, 2012; Aleksic et Knezevic, 2014),** dans les forêts de pins, dans les régions situées à **600** mètres d'altitude **(Cevat et *al.*, 2007)** et au sein des matorrals thermophiles **(Kaddem, 1990)**. Il s'étend de la Macaronésie à la zone **irano-touranienne** et même en **Asie** et en **Afriqu**e septentrionale **(Migliore, 2011 ; Hennia et *al.*, 2018)** . Il est cultivé dans de nombreux pays de la méditerranée, l'**Amérique du Sud** et **Nord-Ouest** de **l'Himalaya**, de l'**Australie** et du **Nord-Ouest** de l'**Inde (Wahid, 2013)**.

En **Algérie**, il pousse spontanément sur **l'Atlas tellien** et les régions côtières **(Quézel et sana 1962 ; Baba Aissa, 1999 et Mimica-Dukic, 2010**).

I.2.2.4.la description botanique de *Myrtus communis L*.

Arbuste à feuilles ovoïdes, **2**à **3** fois plus longues que large, à nervation pennée. Fleurs grandes **10-15** mm, blanches, pourvues à la base de **2** bractées très petites, rapidement caduque Bale ovoïde **6-8** mm .Rameaux pubescents dans leur jeunesse. **(Quezel et**

Santa, 1856).

A. l'espèce de *Myrte commun*

C'est un arbuste très ramifié et peut atteindre **5** mètres. Les feuilles persistantes de **2** à **5** cm de long, opposées, ovales, pointues, vernissées, de couleur vert foncé, sont aromatiques quand on les froisse. Cette forte odeur aromatique est l'un de ses traits de caractère .La plante renferme de nombreuses poches sécrétrices surtout au niveau des feuilles.

Les fruits sortent à l'automne, sont des baies ovoïdes, de couleur pourpre-noir ou parfois blanches, de **5** à **10** mm de diamètre, Ces fruits sont comestibles Mais c'est dur et astringent.

Les rameaux sont de taille fine de couleur verte qui se transforme rapidement en brun orangé, Pubescents dans leur jeunesse.



a- Les tiges b- Les feuilles c- les fruits

Figure 08 : les organes de la plante *Myrtus communis L* .

I.2.2.5. Usage médical traditionnel

Le *Myrte* est utilisé pour lutter contre les bronchites et les dilatations bronchiques, les catarrhes muco-purulentes des voies respiratoires et urinaires, la tuberculose pulmonaire, la rhinorrhées, la sinusite, les otites, les diarrhées, les prostatites, et les hémorroïdes. Elle est connu également par leur effet hypoglycémique **(Baba Aissa, 1999; Mimica-Dukic et *al*.,2010).**

Le *Myrte commun* est doté de vertus médicinales notamment utilisé comme antiseptique et désinfectant mais également pour ses propriétés balsamiques. Ce sont les qualités aromatiques et médicinales du myrte qui favorisent son utilisation dans les industries pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire. Dans les régions méditerranéennes, on fait fermenter et macérer les baies pour obtenir de la liqueur et du vin **(Barboni, 2006).**

I.2.2.6. La composition chimique et Activités biologiques

La plante contient des fibres, des sucres et des antioxydants et de nombreux composés biologiquement actifs. Les composés phénoliques, les flavonoïdes et les anthocyanes sont les principaux composés phytochimiques des baies. Les graines donnent **12-15%** d'une huile grasse (huile fixe) constituée de glycérides d'oléique, linoléique, myristique, palmitique, linoléique et acide l'aurique. Études sur l'analyse des acides gras du *Myrte* fruits ont montré qu'il contient **14** acides gras, l'acide oléique étant l'acide gras dominant **(67,07%)** suivi de acide palmitique **(10,24%)** et acide stéarique **(8,19%)30**.L'huile de myrte est l'huile essentielle de *M.communis*, qui est extraite des feuilles, des branches, des fruits et fleurs par distillation à la vapeur **1,5**. Il est jaune ou de couleur jaune verdâtre avec une caractéristique odeur rafraîchissante.

Le rendement et la qualité de l'huile dépendent sur la région de production, la saison de récolte et la durée de distillation. Les rendements en huile **(w/w)** de différentes parties de la plante sont différents. Les rendements des huiles hydro distillées sont : feuilles**, 0,4-0,5**% fleur**, 0,4**% fruits non mûrs, **0,5** % et fruits mûrs, **0,02 %**. Terpènes et les alcools terpéniques constituent la quasi-totalité composés volatils de l'huile essentielle.

Les cinq composés terpénoïdes (**acétate de myrtényle**, **1, 8-cinéole**, **limonène**, **linalol**) sont présents dans l'huile de feuilles **(0,19-0,37%)**, fruits **(0,03-0,13%)** et fleurs **(0,21-0,26%)** mais dans des proportions différentes.

La composition de l'huile essentielle est la suivante :

1,8-cinéole, -pinène,méthyleugénol, terpinéole, trans-carvéole,cis-carvéole, géraniol, géranate de méthyle, -terpinyle acétate, acétate de néryle, -caryophyllène, myrcène,sabinène, myrcène, p-cymène, c-terpinène, linalyleacétate24, car-3-ène, phellandrène, méthyleugénol33,butyrate de méthyle, benzoate de méthyle, alcool benzylique,butyrate d'isobutyle31, acétate de myrtényle32, limonène, - terpinéol, linalol32,24, eucalyptol34,35, p-cymol , -pinène36, géraniol , camphène, butyrate de butyle et myrténol2.Les baies contiendraient de l'acide citrique , du malique acide, résine, tanin, huile fixe1,5, sucre1, flavonoïdes,les arabinosides d'anthocyanes, les glucosides d'anthocyanes36,kaempférol, quercétine, myricétine 3-o-glucoside,myricétine 3, 3-di-o-galactoside, myricétine 3rutinoside, esculine, scopolétine, acide caféique37,myricétine 3-o-rhamnoside ou myricitrine, esculétine-6-oglucosideou l'esculine, l'hespérétine 7-o-rhamnoglucoside ouhespéridine, hespérétine-2-o-méthylchalcone-4orhamnoglucoside 38. Les feuilles contiennent, des

tanins,flavonoïdes, coumarines39, myrtucommulone A B29,semimyrtucommulone40, galloyl-glucosides, ellagitanins, acides galloyl-quiniques41, caféique, gallique et acides ellagiques42. Les racines ont montré la présence de tanins23, alcaloïdes, glycosides, sucres réducteurs2, huile fixe21, acides galliques, acides phénoliques, quercétine et patuletine **(Sabiha-Sumbul et *al*.,2011).**

I.2.3. *Erica arborea*

I.2.3.1. Historique

Les *Ericaceae* sont une large famille représentée par **4250** espèces regroupées en **124** genres **(Christenhusz et Byng, 2016).** Cette famille dispose d'une large distribution géographique s'étalant des zones froides ou tempérées à basse altitude jusqu'aux montagnes des zones tropicales. Cependant, la plus grande densité et diversité des *Ericaceaes* se retrouvent sous le climat méditerranéen **(Stevens et *al*., 2004).**

Le genre *Erica* est un représentant typique de la famille des *Ericaceae* qui compte environ **700** espèces à travers le monde que l'on retrouve en **Afrique du Sud**, en **Europe** occidentale et dans les régions méditerranéennes **(Suna et *al*., 2018)**.La ***bruyère*** arborescente sous le nom scientifique *Erica arborea L* est une grande ***bruyère*** poussant sur les sols siliceux. Cette *bruyère* est parfois appelée aussi **« *bruyère blanche »***, en raison de la couleur de ses fleurs **(Amezouar et *al*., 2010)**.

Ces plantes à fleurs sont le plus souvent des arbrisseaux ou des arbustes et partagent avec quelques autres genres proches le nom commun de bruyères. En **Algérie**, les espèces du genre *Erica* sont représentées par quatre taxons (***Erica arborea***, ***Erica multiflora***, ***Erica cinerea***, ***Erica scoparia***) **(Yaici et *al*., 2019)**.

En **Algérie**, elle se trouve dans tout le Tell formant une partie importante du maquis dans les forêts du chêne liège au centre et à l'**Est**. Elle est plus abondante dans les maquis privés d'arbres mais cela n'exclut guère sa constante présence associée au thuya et au chêne vert dans les hauts plateaux **(Ait youssef, 2006 et Brosse, 2010)**.

Connue pour son excellent charbon de bois et les pipes fabriquées à partir de ses racines, Les espèces de cette famille ont maintes fois été signalées pour leurs composés bioactifs, sources naturelles d'antioxydants largement utilisés par l'homme pour la prévention des maladies chroniques et infectieuses, en réduisant le stress oxydatifcette **(Johari H et *al*., 2015)** bruyère est également très utilisée depuis le moyen âge.

En médecine traditionnelle, elle est très connue pour ses vertus thérapeutiques, à

savoir, antiseptiques, sédatives, anti-inflammatoires et antiputrides **(Chevalier, 2008 ; Bennani et *al*., 2009 ; Chikhi, 2016 et Rhattas, 2016**).

I.2.3.2. *Erica arborea* au sein de taxonomie

Classification systématique d'*Erica arborea* selon **Quézel et Santa (1963) et Dupont et Guignard (2007). (tab3)**

Tableau 3 : Taxonomie d'*Erica arborea.*

Règne	**Végétal**
Embranchement	**Spermatophytes**
Sous embranchement	**Angiospermes**
Classe	**Eudicots**
Ordre	**Ericales**
Famille	**Ericaceae**
Genre	**Erica (Tourn.) L**
Espèce	***Erica arborea L***

I.2.3.3. Noms vernaculaires

L'espèce *Erica arborea L*., communément appelée lande arbustive, Les différentes appellations attribuées à *Erica arborea* varient selon la langue utilisée et la culture **(Yaici, 2020).** On retrouve ainsi les appellations suivantes :

En berbère : Akhlendj, bou haddad

En arabe : Khlendj, Chendef, Ariga

En français : Bruyère, bruyère arborescent, bruyère blanche

En Anglais: Tree heather, tree heath

I.2.3.4.Répartition géographique

Erica arborea L est une espèce méditerranéenne, indigène et cosmopolite qui se développe sur des sols, chauds (thermophile) secs (xérophile) de préférence siliceux (silicicole) des bois et maquis ou garrigue haute et fermée : matorrals méso méditerranéens héliophiles acidoclines notamment les landes, les talus et les lisières forestières. Cette espère a une grande répartition, elle s'étend précisément en **Afrique**

du **Nord** à l'**Ouest** et au **Nord** de la **Méditerranée** et en **Europe Méditerranéenn**e puis l'**Afrique** du **Sud**, l'**Afrique** centrale, pour arriver jusqu'en **Australie** et **Asie (La Mantia, et *al*., 2007).**

En ***Europe*** méridionale, elle vit surtout en **Espagne**, **Portugal**, **Midi** de la **France**, **Corse**, **Italie** et les **iles Canaries**. Elle a également été naturalisée dans les **îles Britanniques**, en **Australie** et en **Nouvelle-Zélande**. En **Afrique** du **Nord**, on la retrouve dans les forêts sclérophylles de l'Algérie ainsi qu'en **Tunisie** et au **Maroc**.

Selon la flore de **Quezel et Santa** en **Algérie** elle s'étend dans les forêts et garrigues, elle est commune dans le Tell et est très rare ailleurs. Elle forme une partie importante du maquis dans les forêts du chêne liège au centre et à l'est. Elle se rencontre jusqu'à **1200** m dans le **Djurdjura**, dans les monts des Aurès et le mont de **ksour**. Elle est plus abondante dans les maquis, sa présence est associée au thuya et au chêne vert dans les hauts plateaux du Tell **(Ait Youssef, 2006 ; Brosse, 2010**).

I.2.3.5.Description botanique

Erica arborea se développe en arbuste pouvant atteindre plus de **3** m de haut, à rameaux dressés, serrés, les plus jeunes sont blanchâtres. Bien ramifiées, ses branches se tiennent verticales et portent de fines feuilles, ressemblant à des aiguilles très denses verticillées par **3** à **4** groupés eux-mêmes sur les petites rainures. Elles sont longues de **4** à **8** mm et creusée d'un sillon sur leur face inférieure **(Hamim et *al.*, 2017),** et un système racinaire profond, avec un grand diamètre **(Aubert, 1978).**

Les tiges dressées, très rameuses par des rameaux blanchâtres, couverts de poils inégaux. Les fleurs sont hermaphrodites, elles sont dispersées le long des branches.

La floraison commence dès mois de mars au mois de mai et certaines variétés fleurissent même dès le mois de février. Ce sont de minuscules clochettes ovoïdes divisées jusqu'au milieu en lobes obtus, de couleur blanche et parfois rosée. Les étamines ne dépassent pas la corolle mais lui font un cœur plus foncé tandis que les stigmates sont en bouliers et peu saillants. La pollinisation se fait de manière endogame et la dissémination est brochure (**Derbel, 2005 et Rhattas, 2016).**



Figure 09 : *Erica arborea* .

I.2.3.6. Usage traditionnel et propriétés thérapeutiques et pharmaceutiques

Les espèces de cette famille ont maintes fois été signalées pour leurs composés bioactifs, sources naturelles d'antioxydants largement utilisés par l'homme pour la prévention des maladies chroniques et infectieuses, en réduisant le stress oxydatif **(Yaici et *al*., 2019).**

Erica Arborea Il s'agit d'une plante astringente, dont les parties aériennes sont utilisées depuis longtemps pour traiter un grand nombre de maladies en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé et de leurs activités telles que anti-inflammatoire, analgésique, anti-nociceptive, diurétique et anti-rhumatique **(Bessah et Benyoussef., 2014)**.De nombreux usages d'*Erica arborea* sont cités dans la pharmacopée traditionnelle mondiale. Selon une ancienne recette, les feuilles et les fleurs sont appliquées comme cataplasme guérissent les morsures de serpent. *Erica arborea L*. contient de nombreux composés actifs tels que les flavonoïdes, les monoterpènes, les triterpénoïdes, les glucosides phénylpropanoïdes et les tanins condensés **(Bessah et Benyoussef 2014)**.

En **Turquie**, ses parties aériennes sont utilisées en tant que diurétique naturel et pour traiter les infections des voies urinaires aussi bien que pour traiter la constipation **(Zengin et *al*., 2019)**. En **Italie**, on s'en sert pour le traitement des infections de la sphère buccodentaire **(Cornara et *al*., 2009)**.

Dans les **îles Canaries**, les fleurs décortiquées servent d'antiseptiques urinaires, d'anti-inflammatoires et d'hypotenseurs **(Darias et *al*., 2001)**. Dans la médecine traditionnelle algérienne, on l'utilise pour traiter l'inflammation, les maladies des reins comme l'urolithiase, les maladies de la prostate et l'hypertension. **(Benarba et *al*., 2015 ; Eddaikra et *al*., 2019)**.

Elle est principalement recommandée dans la région du tell **Sétifien** pour traiter et prévenir les infections urinaires aigues et chroniques **(Yaici, 2020).** En **Kabylie**, elle

est utilisée pour soigner les calculs rénaux et les taches de rousseur **(Meddour et Meddour-sahar, 2015)**.

I.2.3.7. La Composition chimique

Parmi les principaux métabolites secondaires les plus abondants des ***Ericaceae*** on reconnait les flavonoïdes qui sont largement répandus dans les feuilles et les fleurs, les tanins à savoir les tanins galliques, les tanins ellagiques et les tanins condensés. D'autres dérivés de phénols et hétérosides phénoliques qui sont caractéristiques des ***Ericaceae*** ainsi que les diterpènes toxiques, les triterpènes et les huiles essentielles ont étaient identifiés également. **(Lhuillier, 2007).**

Chez l'espère *E.arborea L*. des études phytochimiques ont permis de mettre en évidence un certain nombre de composés tels que les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les stérols, les glucosides et les mucilages. Dans la littérature les majeurs principes actifs utilisés en phytothérapie sont essentiellement : les flavonoïdes, les acides (principalement fumarique et citrique), les tanins catéchiques ainsi que le téroside : l'arbutine qui libère de l'hydroquinone (responsables des propriétés antiseptiques) **(Mederreg et Tayeb, 2018)**.

Les métabolites les plus répandus au niveau des fleurs sont surtout les flavonoïdes notamment les flavanones (hespéridine), les flavan 3 ols (épicachétine), les flavonols (quercétine) et certains tanins condensés, phénols tels que l'acide caféique, l'acide chlorogénique, et les coumarines **(Guendouze et *al*., 2015 ; Drissi et *al*., 2016**), des terpènes **(Bahadori et *al*., 2007 ; Amezouar et *al*., 2013).** Plus de **50 %** de l'ensemble des composés ont été isolés au niveau des feuilles, notamment les tanins hydrolysables (galliques et ellagiques) et les saponines (**35** types isolés) **(Mederreg et Tayeb, 2018)**. Ces principaux métabolites ont été décrits par plusieurs auteurs en ayant recours à plusieurs types d'analyses tels que les analyses de criblage chimique par les méthodes colorimétriques (tests de détection chimique) ou les analyses chimiques classiques (MS (matière sèche), MM (matières minérales (cendres), MAT (matières azotées totales), CB (celllose brute) et fibres **(Boubaker et *al*., 2004)** ou encore les analyses chromatographiques. D'après les résultats d'une étude plus récente réalisée sur des échantillons d'*E.arborea* dans la région de Tlemcen, le criblage phytochimique a permis de constater la présence des flavonoïdes, des tanins et des composés réducteurs, une présence incertaine des saponosides et l'absence des alcaloïdes, des stérols, des terpènes et des coumarines **(Belarbi, 2018).**

I.2.4. *Acanthus mollis*

I.2.4.1.Historique

Les *Acanthacées* forment une grande famille de **4300** espèces réparties dans **346** genres. Les membres sont principalement présents dans les tropiques, mais aussi dans la région tempérée, dans la ***Méditerranée***. Les *Acanthacées* sont principalement des herbes ou des arbustes, y compris les formes de jumelage. Le genre *Acanthus* en tant que vivaces pousse à l'état sauvage dans les prairies, les bois, les broussailles et les collines rocheuses **(Mabberley, 1987)**. Il a été utilisé dans la médecine traditionnelle dans diverses parties du monde. Les feuilles et ses extraits sont utilisés principalement pour les problèmes d'inflammation **(Fiorini-Puybaret, 2011 ; Attard et Pacioni 2012 ; Ferrão et Liberato 2015)**. Aussi l'un des premiers à être cultivé dans les jardins en raison de la beauté de ses feuilles et aurait été la source d'inspiration pour la décoration des colonnes corinthiennes **(Sharma et *al*., 2015).**

I.2.4.2. *Acanthus mollis* au sein de taxonomie

La position systématique de l'*Acanthe* est décrite selon Classification de **(Cronquist, 1981).(tab5).**

Tableau 4 : Taxonomie d'*Acanthus mollis.*

Règne	**Plantae**
Sous-règne	**Tracheobionta**
Division	**Magnoliophyta**
Classe	**Magnoliopsida**
Sous-classe	**Asteridae**
Ordre	**Scrophulariales**
Famille	**Acanthaceae**
Genre	**Acanthus**
Espèce	***Acanthus mollis L***

I.2.4.3.Nom vernaculaire

Acanthus mollis ou *Acanthe à Feuilles Molles* communément connu sous le nom de culotte d'ours, **(Mabberley, 1987).**

I.2.4.4.Description botanique

L'*Acanthe à feuilles molles* présente une touffe évasée, son genre vient du mot grec (akantha) qui signifie épine, en référence aux bords dentelés des feuilles de certaines espèces, composée d'un feuillage semi-persistant et très décoratif. De très grandes feuilles (**30-80** cm de long), molles, à divisions larges, lobées dentées, vert brillant **(Wolf, B.R et *al.*, 1985).**

La croissance reste verte toute l'année dans les climats doux. Les feuilles sont inclinées avec des épines. Tiges de beau, pâle lilas et blanc, les fleurs apparaissent au début de l'été et peuvent atteindre une hauteur de quatre à cinq pieds, les fleurs peuvent être coupées pour des arrangements à l'intérieur ou séchées.



Figure 10 : *Acanthus mollis* .

I.2.4.5.Répartition géographique

Cette plante elle est d'origine du pourtour méditerranéen dans des zones pas trop sèches se trouve sur les continents européens et africains plus précisément en Europe méridionale et en Afrique du Nord **(Bernard Boullard, 2001)**. Son habitat type est les friches mésoxérophiles, subméditerranéennes. Souvent plantée, l'*Acanthe molle* est aussi assez fréquente à l'état sauvage, au bord des chemins et sur les terres incultes, surtout dans les lieux rocailleux et broussailleux. Elle ne dépasse généralement pas **300** m d'altitude **(Vignes et *al.*, 2011).**

I.2.4.6.Usage traditionnel et propriétés thérapeutiques et pharmaceutiques

Les espèces du genre *Acanthus* sont traditionnellement utilisées pour les plaies. L'*Acanthe molle* est utilisée comme diurétique, anti-inflammatoire et apaisante des muqueuses du tube digestif et du tractus urinaire et en externe pour la cicatrisation des

plaies et des brûlures **(Matos et *al*., 2018).** Et pour soigner aussi les dysenteries car il contient des mucilages Il est toujours prescrit en médecine traditionnelle, pour diverses inflammations et autrefois utilisé pour obtenir un colorant de couleur jaune. Depuis l'Antiquité, sa sève avait la réputation d'être tonifiante et stimulante, réservée aux guerriers qui la buvaient rituellement avant d'aller au combat **(Ferrão et Liberato, 2015 ; Rivera et Obón, 1995)**.

En **Malaisie**, la feuille de la plante guérissait les rhumatismes, les névralgies et les plaies de flèche empoisonnées ; au **Bangladesh**, les feuilles sont utilisées dans le traitement du cancer ; en **Inde**, la racine est utilisée pour traiter la toux et hépatite, lèpre, paralysie, teigne, rhumatismes, problèmes de peau, morsure de serpent, leucorrhée, leucémie, etc. **(Rekha, B et *al*., 2017).**

I.2.4.7.Composition chimique

Un grand nombre de groupes de composés potentiellement intéressants ont été trouvés de cette espèce (Tableau 5). Il s'agit essentiellement de flavonoïdes, lignanes et benzoxazinoides **(Makowska et *al*., 2015)**. Cette espèce est encore peu étudiée **(Matos et *al*., 2018). (tab6)**

Tableau 5 : Métabolites secondaires identifiés dans l'espèce *Acanthus mollis*

Partie de plante	**Métabolites secondaires**	**Références**
Graines	Glucoside de 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIBOA-GLC)	**Wolf, et *al*.,1985 Hemann 1988**
La plante entière	Flavonoïdes, acides hydroxamiques cyclique et dérivés de la benzoxazolinone.	**Masouda, et *al*., 2004 Tomas et *al*.,2009**
Feilles, Fleurs et racine	Glucoside de 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one et 1,4-benzoxazin-3-one	**Kimberly et *al*., 1995 Wahidulla et *al*., 2001 ; Héctor et *al*., 2004 ; Chang-Hong Huo et *al*., 2005.**
Feuilles et	Anthraquinones, flavonoïdes et	**Jara et *al*., 2017**

fleurs	phénols.	
Feuilles	2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one, dérivés d'acides hydroxamiques et phénoliques cycliques	**Kanchanapoom et *al*., 2001; Kanchanapoom et *al*., 2006 ; Matos et *al*., 2019**

I.3. Activités biologiques :

I.3.1.Activité antioxydant :

Il existe de nos jours un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire **(Guinebert, 2005).**

I.3.1.1.radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique **(Dacosta, 2003 ; Vansant, 2004).**

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires [Radical peroxyle (ROO•), Radical alkoxyle (RO•)], se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule **(Novelli, 1997).**

I.3.1.2.Les antioxydants :

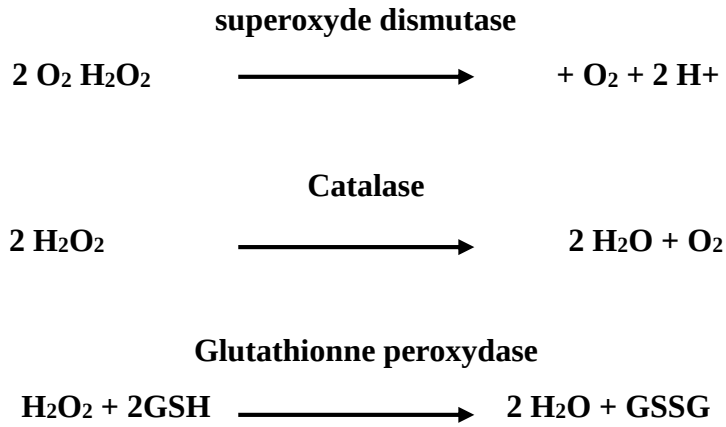
Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS **(Vansant, 2004).** Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule **(Favier, 2003).**

A. Les antioxydants primaires :

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydants qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) **(Lehucher-Michel, 2001).**

Ces enzymes antioxydant permettent l'élimination des radicaux libres primaires,

selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique **(Dacosta, 2003).**

B. Les antioxydants secondaires :

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydants, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes **(Dacosta, 2003).**

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo* ont était proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, la beta-carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques,…etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres **(Kohen et Nyska, 2002).**

I.3.2.Activité antimicrobienne et l'effet synergique :

Dès la naissance l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéomuqueux. Pour résister à ces microorganismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer trois groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise **(Kaufmann, 1997).**

I.3.2.1.L'effet antimicrobien :

L'action des antibiotiques peut s'exercer sur des structures ou des mécanismes essentiels à la croissance ou à la survie des bactéries. Ainsi, ceux qui inhibent la croissance bactérienne sont qualifiés de «**bactériostatiques**» alors que ceux qui tuent les bactéries sont dits «**bactéricides**» **(Soilleux, 2007).**

I.3.2.2.Le mode d'action :

les antibiotiques peuvent agir sur la paroi bactérienne (peptidoglycane), la structure de la membrane cytoplasmique bactérienne, la synthèse protéique bactérienne, la synthèse de l'ADN de la bactérie, la synthèse de l'acide folique (**Yala *et al.*, 2001**).

I.3.2.3.La résistance aux antibiotiques :

Les bactéries sont capables de se protéger de l'action létale des antibiotiques en réduisant la concentration intracellulaire de ces derniers.

On parle de résistance naturelle lorsque toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique. La résistance dite acquise survient lorsque, seules, quelques souches d'une même espèce, normalement sensibles à un antibiotique, deviennent résistantes.

I.3.2.4. l'effet synergique :

Le terme **synergie** est dérivé du grec **« *syn-ergos* »**, travaillé ensemble. C'est-à-dire la combinaison et l'interaction de deux ou plusieurs agents ou forces, produit un effet supérieur à la somme de leurs effets individuels.

Cette définition implique qu'il existe trois manières possibles qui peuvent résulter d'une telle (interaction d'agents ou de forces**)** :

ces forces pourraient simplement s'additionner, sans s'influencer mutuellement **« pas d'interaction** », leur combinaison pourrait produire un résultat plus important que prévu « **synergie** », ou la combinaison pourrait conduire à un résultat inférieur à la somme des effets individuels « **Antagonisme** » **(Hans, 2012)**.

Partie II :

Etude Expérimentale



II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel

L**e** matériel utilisé se figure dans l'ANNEXE I.

II.2. Méthode

II.2.1. Echantillonnage

Dans cette étude, les échantillons végétaux utilisés ont été récoltés pendant les mois de **Février** et d'**Avril 2022** au niveau de la région d'**el-Hamdania** (wilaya de **Médéa)**.

L'identification botanique des espèces a été réalisée par le Parc Nationale de **Chérea**.

Les parties aériennes et la partie souterraine des plantes : les feuilles, les fleurs, les tiges, les fruits et les racines ont été séparées. **Tableau (6).**

Tableau 6 : Plantes étudiées, leur date et région de récolte

Plante	**Partie utilise**	**Région et date de récolte**
Mélisse officinalis	Les feuilles Les tiges	El-Hamdania Médéa Mars 2022
Erica arborea	Les feuilles Les fleurs	El-Hamdania Médéa Février-Mars 2022
Myrtes communis	Les feuilles Les fruits Les tiges	El-Hamdania Médéa Février 2022
Acanthes Mollusque	Les feuilles Les racines	El-Hamdania Médéa Février 2022

II.2.2.Préparation du matériel végétal

Pour faciliter l'extraction des composés phénoliques de ces plantes, deux opérations de prétraitement de ces matériels ont été effectuées : séchage et broyage.

- ✓ **Séchage :** Toutes les parties de la plante (feuille, tige, fleurs, fruit, racine) ont été nettoyées, lavées avec l'eau du robinet. Le séchage est effectué à l'ombre, à l'abri de l'humidité durant trois semaines (21 jours) et à une température ambiante.
- ✓ **Broyage :** les parties des plantes séchées ont été ensuite pesées, broyées finement à l'aide d'un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre végétale. Mettre la poudre dans une boîte et la conserver au sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité.

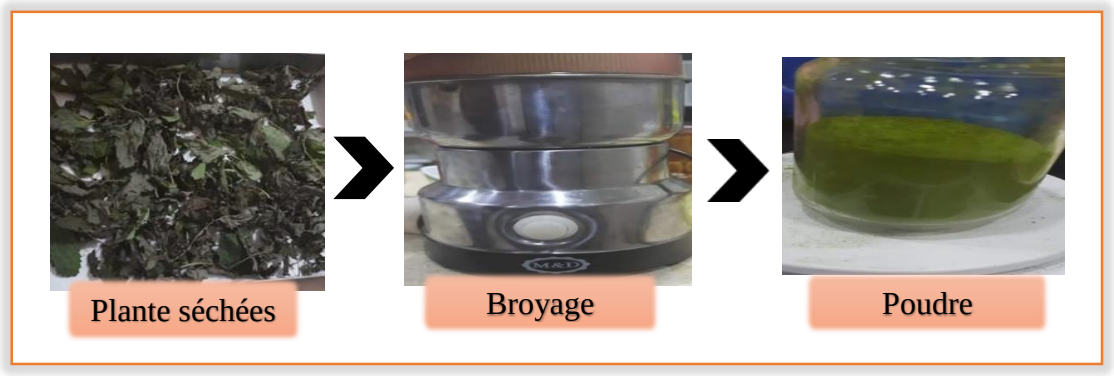


Figure 11 : séchage et broyage des plantes

II.2.3.Extraction des composés phénoliques

L'extraction a été réalisé au laboratoire pédagogique de la faculté des sciences - **Université de Médéa**.

- ✓ **Principe**

L'étape d'extraction est considéré comme une étape primordiale d'analyse et d'identification des molécules bioactives. L'extraction de produits naturels est généralement de type solide-liquide. Des méthodes dites traditionnelles, comme la macération, la décoction étaient jusqu'ici utilisées et considérées comme techniques de choix pour extraire les composés naturels **(Mendiola, 2007).**

Dans notre étude, nous avons utilisé deux méthodes d'extractions qui sont :

- ✓ Extraction par macération dans l'éthanol aqueux**.**
- ✓ Extraction par décoction dans l'eau distillée bouillante**.**

II.2.3.1.Extraction par macération

La macération est l'opération la plus simple qui consiste à laisser séjourner le broyat dans le éthanol aqueux pour extraire les composés phénoliques **(Llaneza et al.,**

2009).

II.2.3.2.Extraction par décoction

La décoction est une méthode d'extraction des principes actifs d'une préparation généralement végétale, et ceci par dissolution de cette matière végétale dans un solvant approprié généralement l'eau bouillante. Elle s'applique aux parties les plus dures des plantes : racines, graines, écorce, bois **(Sophie, 2003).**

L'extraction des composés phénoliques par décoction a été effectuée selon le protocole décrit par **Chavan et *al.* (2001).**

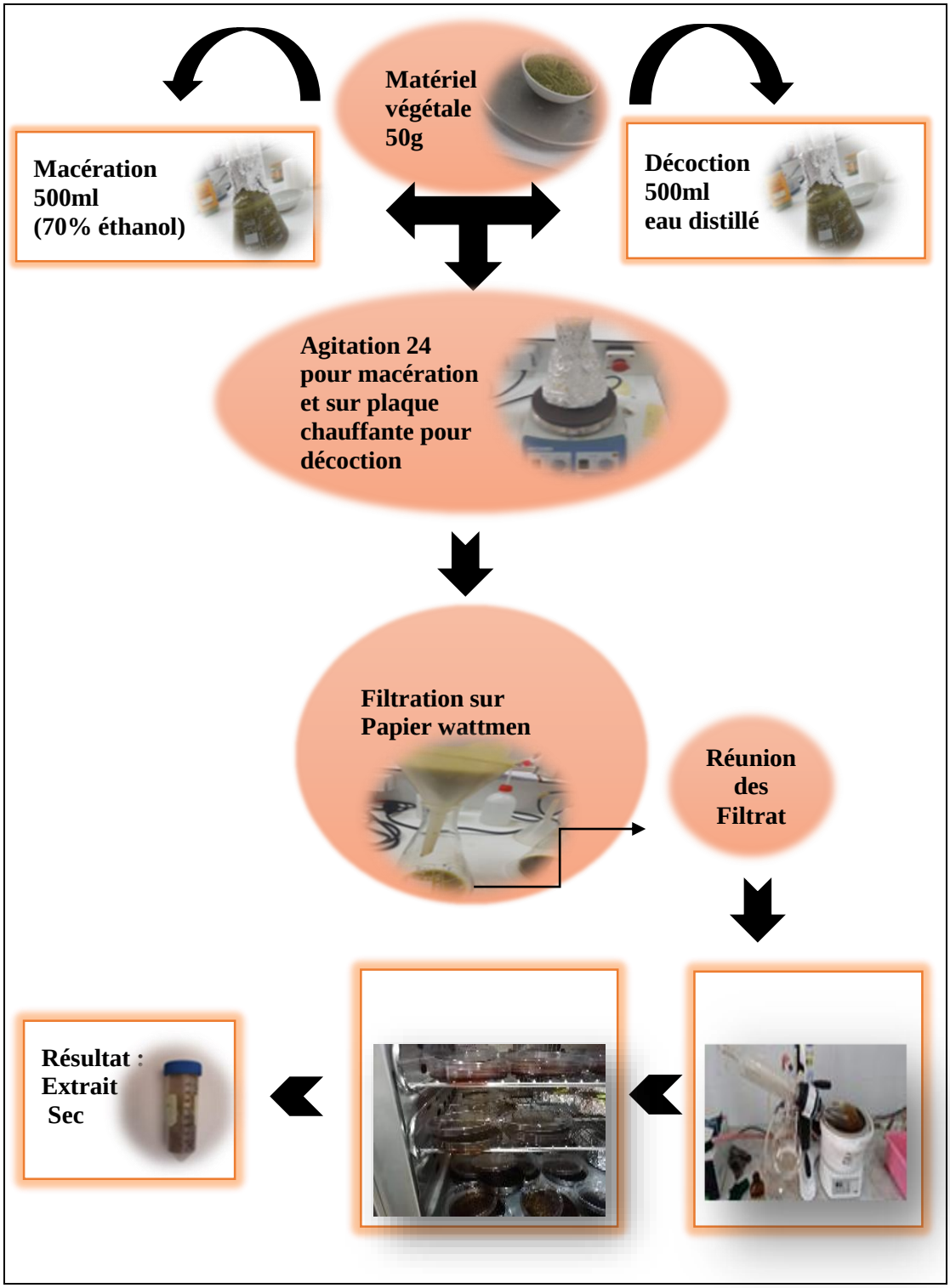


Figure 12 : Protocole d'extraction des composés phénoliques**.**

L'extrait a été pesé et conservé au sec jusqu'à son utilisation et le rendement d'extraction de chaque extrait doit être calculé.

✓ **Calcul du rendement (R%)**

La production rentable d'extraits est le rapport entre la masse de matière sèche de l'extraite obtenu et la masse de matière sèche de la plante utilisée, il est calculé par la formule donnée par **Falleh et *al.* (2008).**

$$R\ (\%) = (M_{ext}/M_{éch}).100$$

Où :

- **R** : : C'est la production rentable d'extraits **(%).**
- $\mathbf{M_{ext}}$: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en **mg.**
- $\mathbf{M_{éch}}$: est la masse sèche de l'échantillon végétal en **mg.**

II.2.4. Analyses qualitatifs

Le screening phytochimique est un moyen qualitative pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une drogue donnée **(Hamid et *al.*, 2018).** Elle est basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation.

A. Détection des substances poly phénoliques

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure ferrique (**$FeCl_3$**). Sur un volume de **2 ml** de l'extrait, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à **2%** est ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols **(Békro et *al.*, 2007).(figure13).**



Figure 13 : Détection des substances poly phénoliques **[prise personnel]**
(A) : préparation des extraits ;**(B) :**l'ajoute de (**$feCl_3$**) ;**(C) :** observation des résultats.

B. Détection des Anthraquinone

Pour la détection des anthraquinones, 5 ml de NH_4OH à (10%) est mélangé avec 10 ml d'extrait. Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones **(Oloyede, 2005) (Figure 14).**

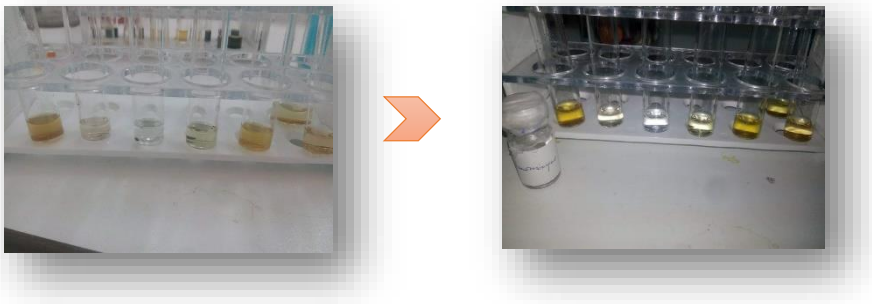


Figure 14 : Détection des Anthraquinone **[prise personnel].**

(A) : préparation des extraits ; **(B) :** l'ajoute NH_4OH.

C. Détection des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été mis en évidence par le réactif de **Dragendorff** (réactifs de précipitation) : **2** gouttes de réactif de **Dragendorff** sont ajoutées à **0,1 g** de poudre est repris dans **6 ml** d'éthanol à **60%**. L'apparition d'un précipité rouge orangé ou brun - rougeâtre indique un test positif **(Yves et *al.*, 2007) (Figure 15).**

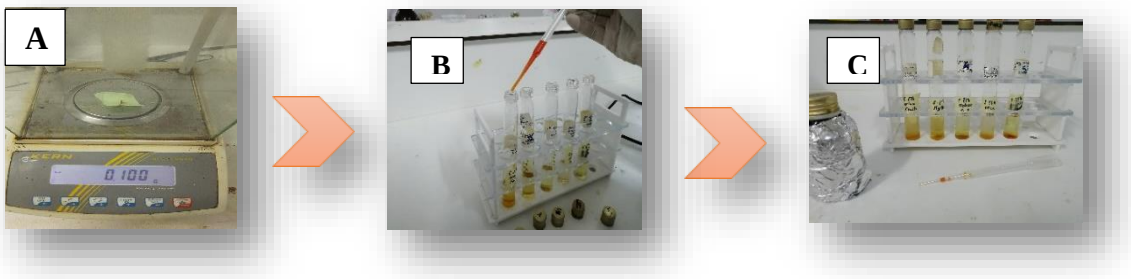


Figure 15 : détection des alcaloïdes **[prise personnel]:(A) :** préparation d'extrait ;

(B) :l'ajoute de Dragendorff ; **(C)** : observation des résultats.

D. Détection des coumarines

Les coumarines ont été mises en évidence par la réaction sur le cycle lactonique. Dans **2** tubes à essai, sont introduits **2 ml** de solution éthanolique obtenue à partir de chaque résidu. Dans un des tubes à essai, sont additionnés **0,5 ml** de **NaOH à 10%,** puis les tubes à essai sont chauffés au bain-marie jusqu'à ébullition. Après

refroidissement, sont rajoutés dans chaque tube à essai **4 ml** d'eau distillée. Si le liquide du tube à essai dans lequel l'on a ajouté la solution alcaline est transparente ou plus transparente par rapport au liquide du tube à essai témoin (sans solution alcaline), alors la réaction est positive. En acidifiant la solution transparente avec quelques gouttes de **HCl** concentré elle perd sa coloration jaune, se trouble ou il se forme un précipité **(Yves et al, 2007)** .(**Figure16**).

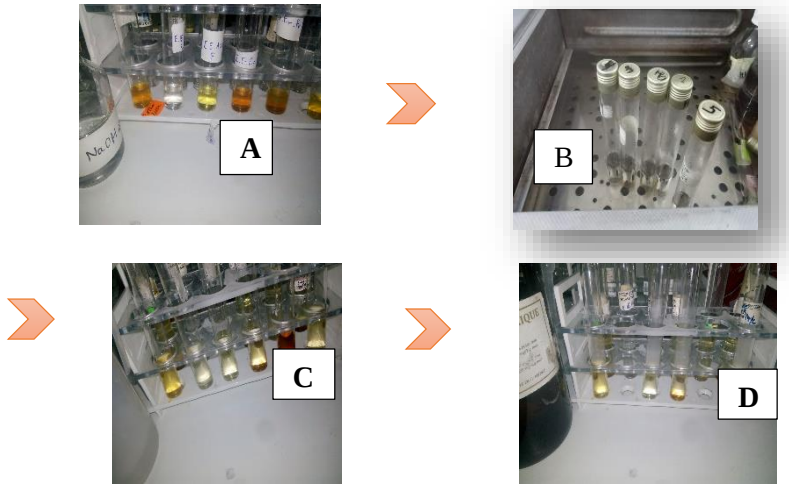


Figure 16 : Détection des coumarines **[prise personnel]:(A) :**l'ajoute de NaOH ; **(B)** : chauffer au bain-marie ; **(C)** : refroidissement et l'ajoute d'eau distillé ; **(D)** :l'ajoute d'HCL.

E. Détection des terpènoïdes

La méthode de **Benzahi (2001) et de Chaouch (2001)** permet de mettre en évidence la présence de terpènoïdes. A **2,5 ml** d'extrait est ajouté **1 ml** de **chloroforme**. Après Homogénéisation, **1,5 ml d'H_2SO_4** concentré sont ajoutés au mélange. La formation d'une couleur brun-rouge à l'interface indique la présence de ces composes **(Figure17).**

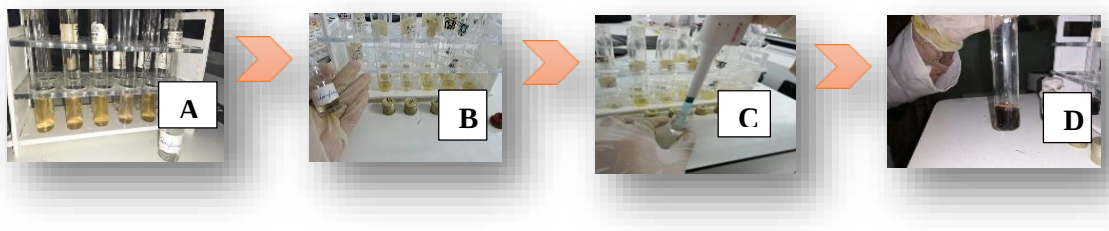


Figure 17 : Détection des terpènoïdes **[prise personnel]: (A) :** préparation des extraits **; (B) :**l'ajoute de chloroforme **; (C) :**l'ajoute H2SO4 **; (D) :** observation des résultats**.**

F. Détection des tanins

Les tanoïdes (tanins hydrolysables) et les tanins vrais (tanins non hydrolysables ou condensés) sont des polymères de polyphénols. Ces derniers ont été mis en évidence par la réaction au **chlorure de fer (III)** dans les extraits bruts. À **2 ml** d'extrait brut sont additionnées quelques gouttes d'une solution aqueuse de ***$FeCl_3$ à 2%.*** L'apparition d'une coloration bleu-noir ou vert-noir indique respectivement la présence de tanoïdes ou de tanins vrais **(Yves et al, 2007) (Figure18).**

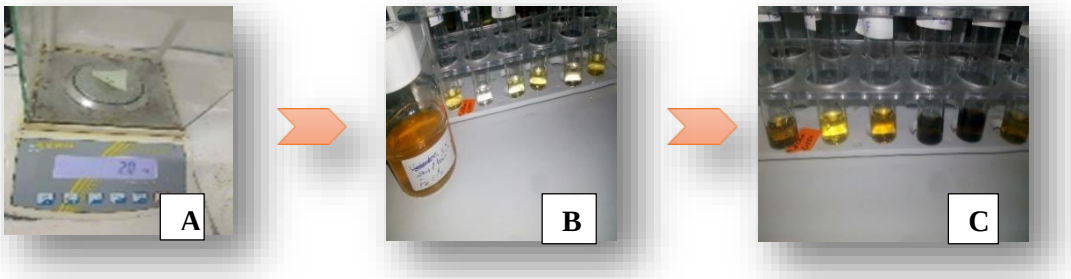


Figure 18 : Détection des tanins **[prise personnel]: (A) :** préparation de résidu ; **(B) :** l'ajoute FeCl3 ; **(C)** : observation des résultats.

G. Détection des saponines (Saponosides)

Dans un tube à essai, introduire **2 ml** de l'extrait à analyser, ajouter **2 ml** d'eau distillée chaude, agiter pendant **15** secondes et laisser le mélange au repos pendant **15** min. Une hauteur supérieure à **1** cm d'une mousse indique la présence des saponines **(Harborne, 1998) (Figure19).**

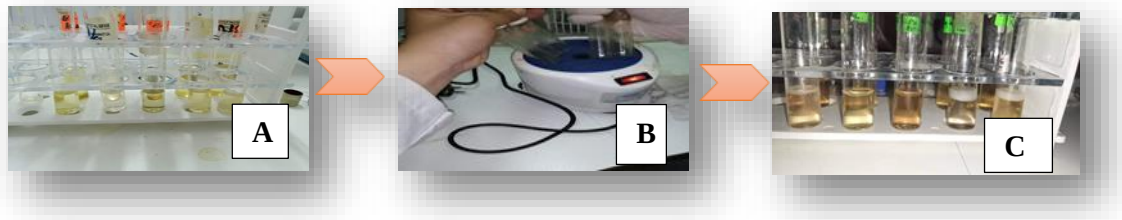


Figure 19 : Détection des saponines **[prise personnel]:(A) :**l'ajoute d'eau distillé chaude ; **(B)** : Agitation ; **(C)** : observation des résultats.

H. Détection des tanins hydrolysable :

Aux filtrats des masses réactionnelles saturés à ***CH_3COONa***, sont ajoutées quelques gouttes d'une solution aqueuse de **FeCl3 à 2%.** La réaction est positive si une teinte bleu-noir apparait **(Yves et *al*, 2007). (figure20).**

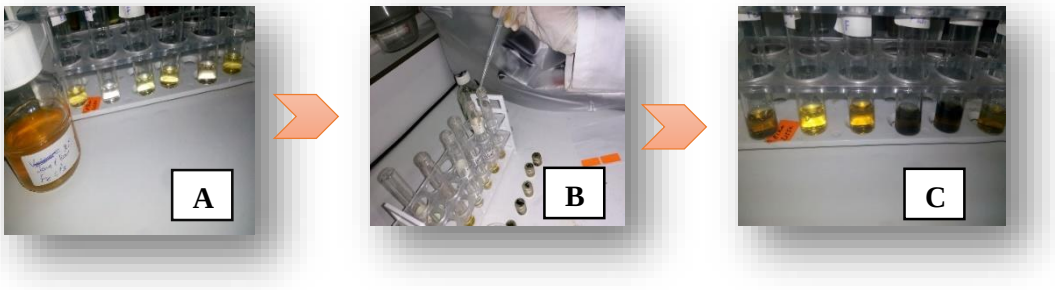


Figure 20 : Détection des tanins hydrolysable **[prise personnel]**

(A) : préparation des extraits **; (B) : l'ajoute de FeCl3 ; (C) :** observation des résultat**.**

I. Détection des Quinone libre

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de **NaOH 1%.** L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet après l'agitation indique la présence des quinones libres **(Oloyde, 2005). (figure21).**

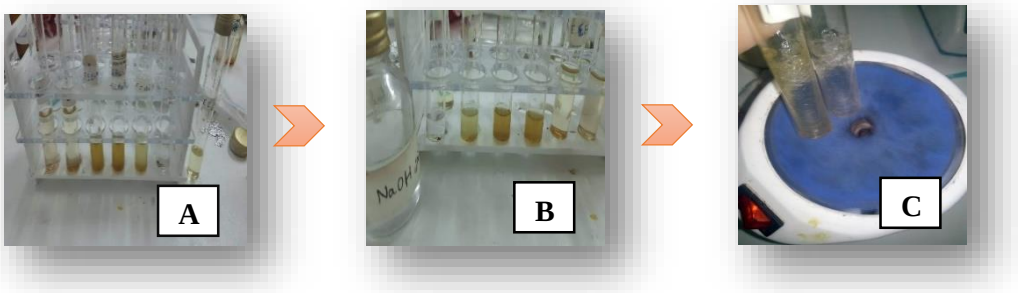


Figure 21 : Détection des Quinone libre **[prise personnel]**

(A): préparation des extraits **;(B) :** l'ajout de **NaOH ; (C) : Agitation**

J. Détection des anthocynes

La présence des anthocynes dans un décocté ou infusé est indiquée par une coloration rouge qui s'accentue par l'addition de **HCl** dilué et vire au bleu-violacé-verdâtre par l'ajout d'**ammoniaque (Wagner et *al.*, 1984) .(figure22).**

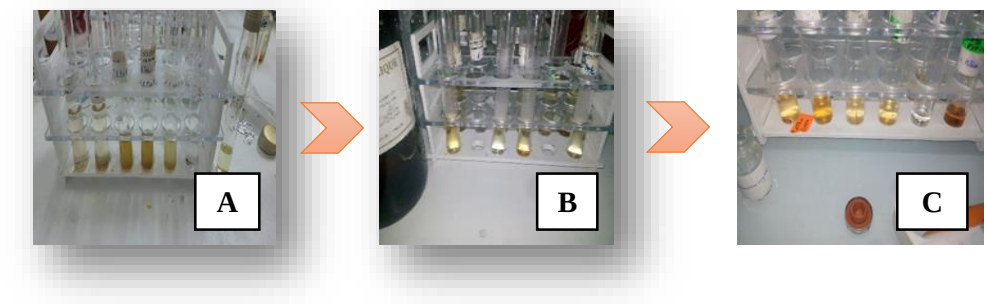


Figure 22 : Détection des anthocynes **[prise personnel].**

(A) : préparation des extraits **; (B) :** l'ajout d'**HCl ; (C) :** l'ajout d'ammoniaque.

II.2.5. Analyse quantitative

II.2.5.1.Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu selon la méthode cité par **(Wong et *al.*, 2006).**

- ✓ **Principe**

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols qui entrainent la formation d'un nouveau complexe d'oxyde métalliques tungstène (W_8O_{40}) et molybdène (Mo_8O_{23}) de couleur bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux **(Skerget et *al.*, 2005 ; Ribéreau, 1968).**

✓ **Mode opératoire**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **(Singleton et Ross, 1965).** Avec quelque modification.

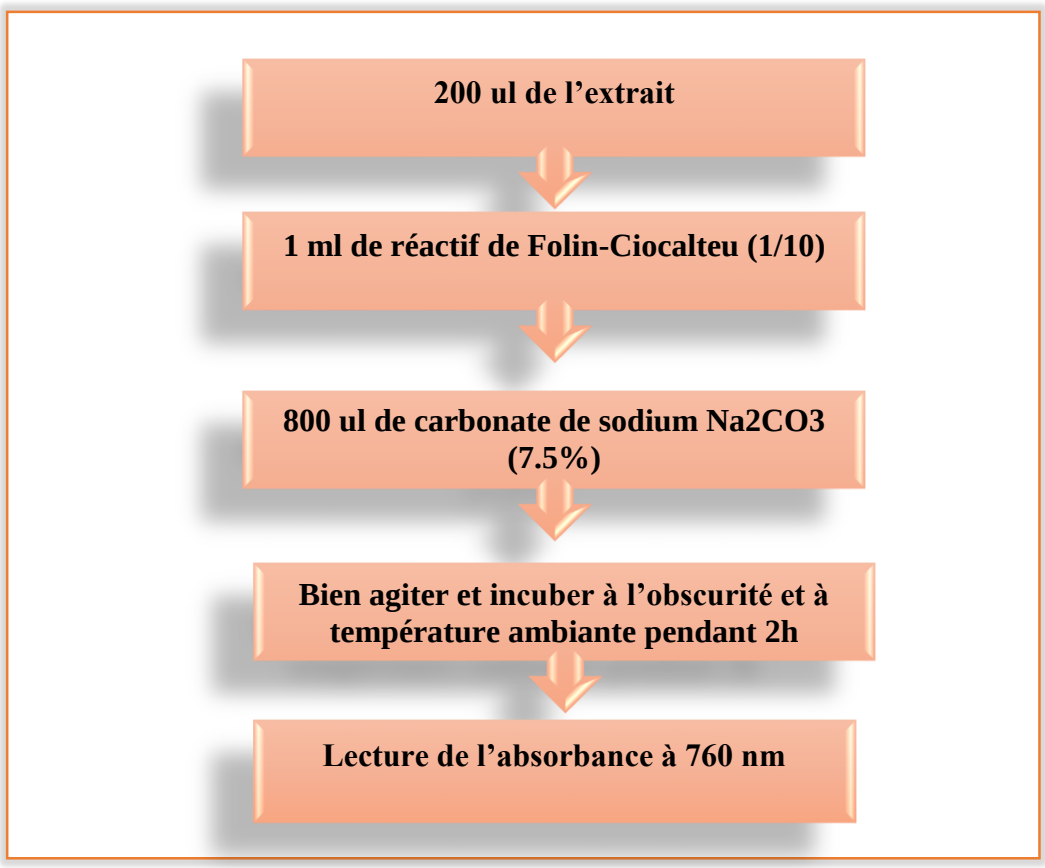


Figure 23 : Protocole de dosage des polyphénols totaux **(Singleton et Ross, 1965).**

✓ **Expression des résultats**

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (**5-200** µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg).

La formule de la régression linéaire de cette courbe d'étalonnage est de y=0,0263 x=0,1436 avec un coefficient de corrélation R^2 = à 0.9935. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans la **Figure(24).**

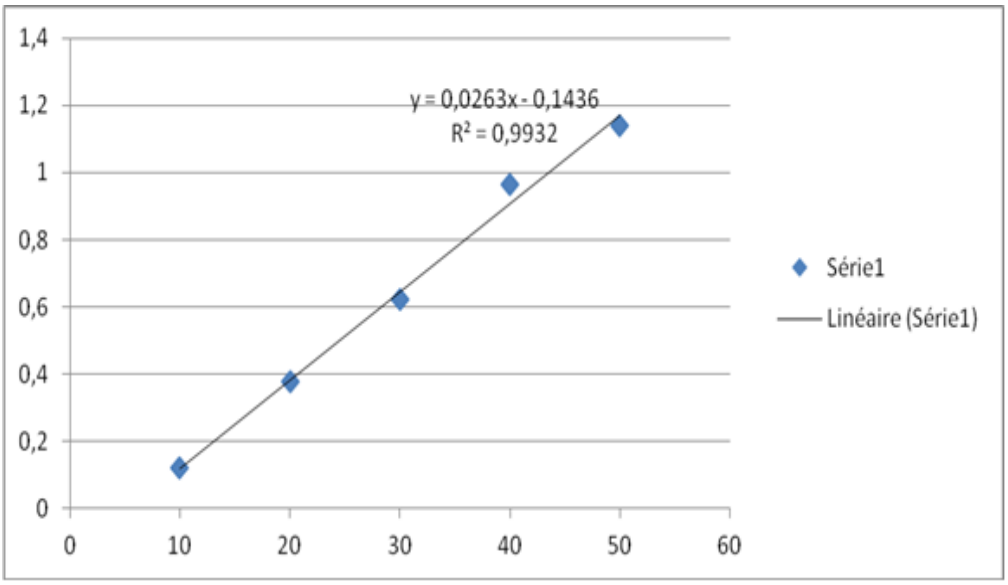


Figure 24 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

II.2.5.2.Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué avec le réactif de trichlorure d'aluminium (***$AlCl_3$***).

✓ **Principe**

Les flavonoïdes contiennent certains groupements structuraux susceptibles de former par chélation des complexes jaunâtres avec les métaux notamment le fer et l'aluminium.

✓ **Mode opératoire**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **(Djeridane et *al.*, 2006)** et **(Boudiaf, 2006).**Avec quelque modification..

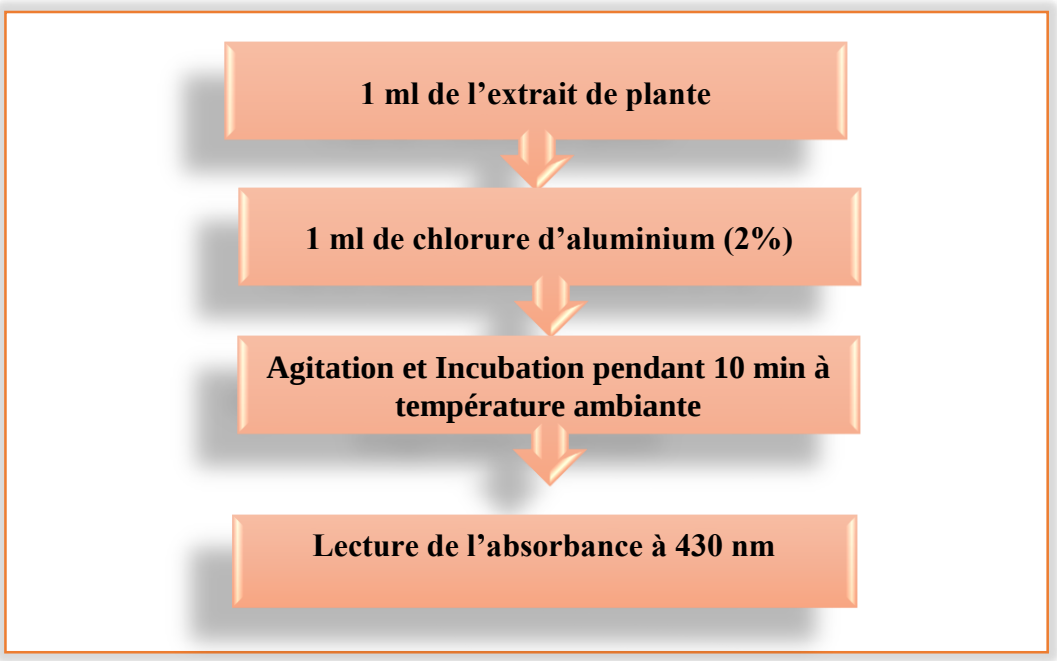


Figure 25 : Schéma représentatif du protocole expérimental de dosage des flavonoïdes. **(Djeridane et *al.*, 2006)** et **(Boudiaf, 2006).**

✓ **Expression des résultats**

La concentration en flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg Eq Qu/g d'extrait).

La formule de la régression linéaire de cette courbe d'étalonnage est y = 0,0287x-0,1574 avec un coefficient de corrélation R^2 égal à 0,9875. La courbe d'étalonnage de Quercétine est représentée dans la **Figure(26)**.

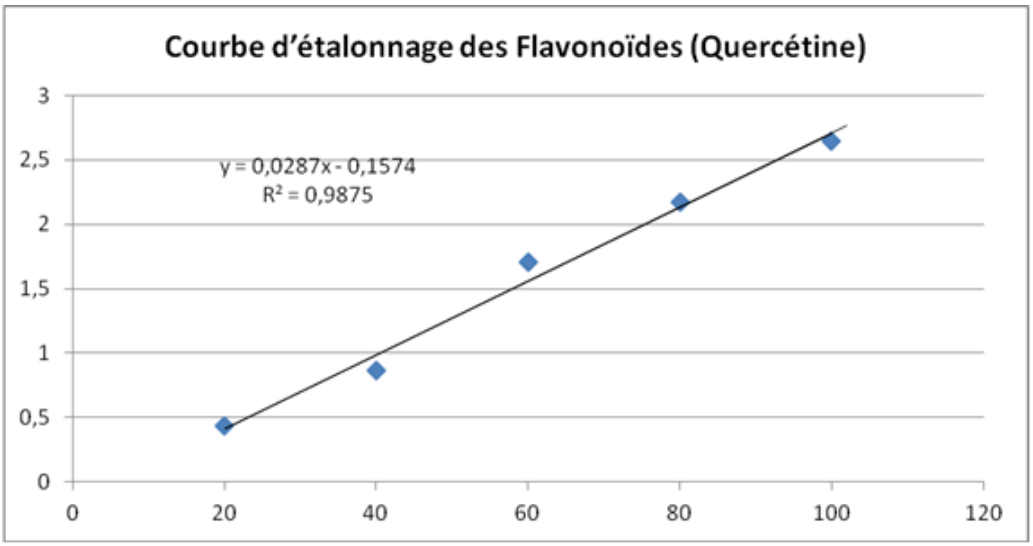


Figure 26 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

II.2.6. Activités biologiques

II.2.6.1. Activité anti-oxydante :

Les antioxydants sont des substances permettant de prévenir ou de retarder l'oxydation catalytique et le rancissement naturel **(Madrid Vicente, 2000)**. Par conséquent, les antioxydants aident à contrôler les niveaux d'espèces réactives pour minimiser les dommages oxydatifs.

Même si les antioxydants de synthèse sont efficaces 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).**

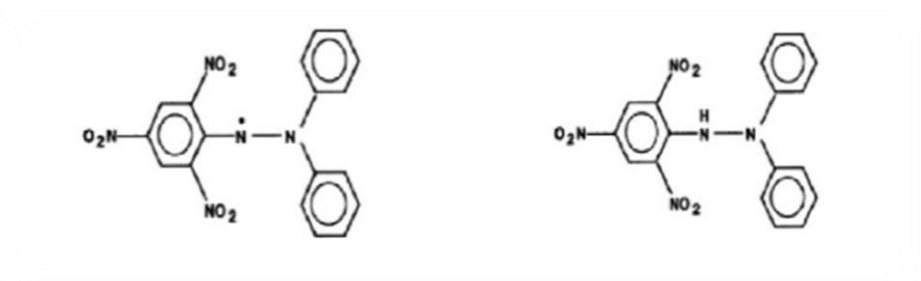
Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits naturels in vitro, différentes méthodes ont été utilisées. Ces procédés font intervenir des mélanges d'espèces oxydantes telles que les radicaux libres ou les complexes métalliques oxydés, et des échantillons contenant l'antioxydant qui inhibe la production de radicaux libres.

A. Test du pouvoir antioxydant « Test au DPPH »

L'activité du balayage des radicaux libres a été mesurée en employant le radical libre stable DPPH (C18H12N506) qui est l'un des essais principaux employés pour explorer l'utilisation des extraits d'herbes comme antioxydants **(Markowicz Bastos et *al.*, 2007).**

- ✓ **Principe**

En présence des piégeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 diphenyl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2.2 diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune**. (Maataoui et al., 2006). (Figure 27)**



Diphenolpicrylhydrazyl (Radical libre) **Diphenopicrylhvdrazyl (Forme non radicalaire)**

Figure 27 : Forme libre et réduite du DPPH **(Nlolyncux, 2004).**

- ✓ **Mode opératoire**

Cette méthode se fonde sur la mesure de l'absorbance à **517 nm** quand un radical libre stable DPPH réagit avec un antioxydant. Le DPPH, radical libre de couleur violette est réduit en un composé de couleur jaune (lediphényl-picrylhydrazine) en présence de composés anti-radicalaires. L'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à l'activité anti-radicalaire des extraits dont on souhaite déterminer l'activité**.**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par**Djeneb et *al.* (2007)** avec quelques modifications.

- ➢ **Préparation de DPPH**

Dissoudre **4** mg de DPPH dans **100** ml d'éthanol absolu pour obtenir une solution mère de **$6{,}10^{6}$** M de DPPH**.**



Figure 28 : préparation de la solution de **DPPH**

- **Préparation des extraits**

L'extrait éthanolique de nos extraits lyophilisé a été dissous dans une solution éthanol/eau (**70** % d'éthanol et **30** % d'eau) à **5** mg/ml. à différentes concentrations croissantes (**10**-**20**-**30**-**40**-**50** µg/).

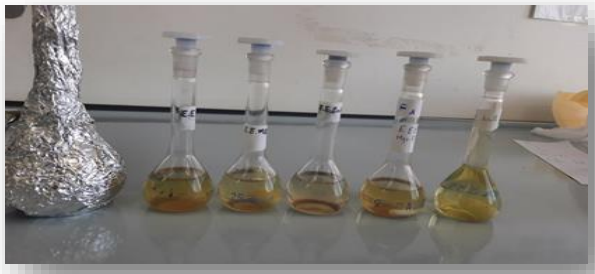


Figure 29 : préparation des extraits ethanoolique.

✓ **Mode opératoire**

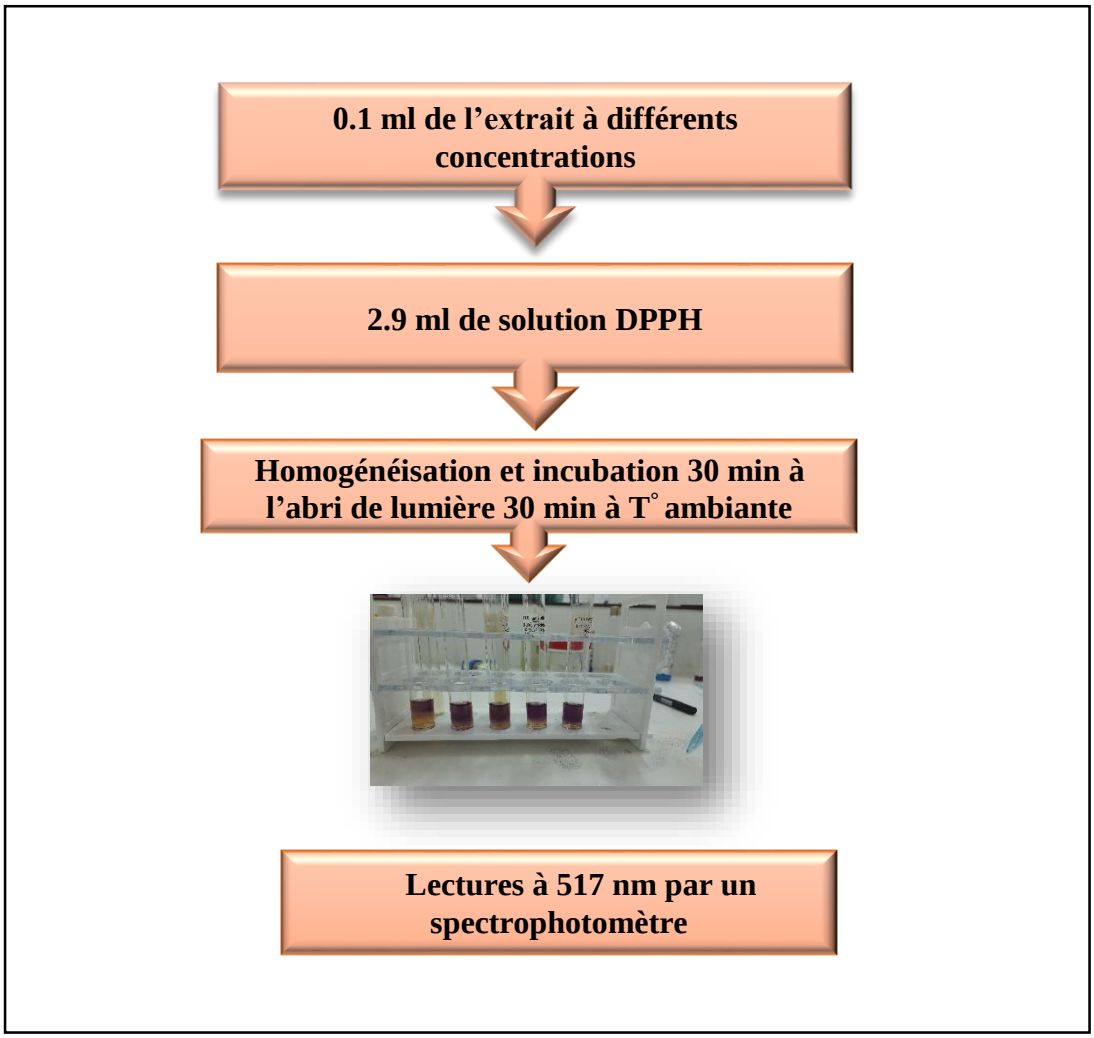


Figure 30 : Schéma représentatif du protocole expérimental de l'activité antioxydant **(Djeneb et *al.*, 2007)**.

✓ Expression des résultats

Pour obtenir la concentration efficace qui réduit la concentration initiale de DPPH de **50%**. Aussi bien que la puissance anti radicalaire (PRA égal à **1**/IC**50**) **(lieilerovà et *al.*, 2003)**. les résultats sont exprimés en activité antioxydante.

Selon **Wang et *al.*, (2002),** Le pourcentage d'inhibition de l'extrait est calculé selon l'équation suivante :

Inhibition %=(Abs contrôle – Abs test) / Abs contrôle x 100

Où

Abs contrôle : Absorbance du témoin négatif, ce dernier contient du DPPH et de l'éthanol sans extrait.

Abs test : Absorbance en présence de l'extrait.

Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures ± écart type. La valeur **EC50** (autrement appelée la valeur **IC 50**) a été déterminée pour chaque extrait. Est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de **50%** de l'activité de DPPH (couleur) ou encore. C'est la concentration de l'échantillon exigée pour donner une diminution de **50%** de l'absorbance de la solution contrôle constitué d'ethanol et DPPH. Les valeurs **EC50** moyennes ont été calculées par les régressions linéaires des trois essais séparés où l'abscisse est représenté par la concentration des composés tests et l'ordonné par activité antioxydante en pourcentage **(Mensor et *al.*, 2001).**

L'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif, est les résultats sont calculés 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.2.6.2. Activité antimicrobiennes des extraits et leur effet synergiques

Les tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne sont réalisés au niveau du laboratoire de contrôle de qualité, bloc microbiologie **Saidal-Médea.** Ce test doit être réalisé dans des conditions aseptiques strictes afin d'éviter les problèmes de contamination. De plus, les matériaux, les solutions et les milieux de cultures doivent être stérilisées à l'autoclave.

A. Souches testées

Six souches bactériennes de références (***Escherichia coli***, ***Staphylococcus Aureus, Salmonella Typhimirium, Pseudomonas Aeroginosa Staphylococcus Epidermidis et Bacillus Subtilis)*** et trois souches fongiques de références (***Saccharomyces Serevisiae, Aspergillus Brasiliensis, Candida Albicans)*** ont été testées

Ces souches ont été obtenus auprès du laboratoire de Contrôle de qualité « **Groupe Saidal** » de Médéa. Les caractéristiques des souches sont citées dans le **tableau (7)** pour les souches bactériennes et le **Tableau (8)** pour les souches fongiques.

Tableau7 : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

Famille	**Espèce**	**Gram**	**Référence**
Enterobacteriacées	*Escherichia coli*	Négatif	ATCC12228
Micrococcaceae	*Staphylococcus aureus*	Positif	ATCC6538
Enterobacteriaceae	*Salmonella typhimirium*	Négatif	ATCC14028
Pseudomonadacées	*Pseudomonas aeroginosa*	Négatif	ATCC9027
staphylococcaceae	*Staphylococcus epidermidis*	Positif	ATCC12228
Bacillaceae	*Bacillus subtilis*	Positif	ATCC6633

Tableau 8 : caractéristiques pour les souches fongiques

Famille	**Espèce**	**Référence**
Saccharomycetaceae	*saccharomyces cerevisiae*	ATCC9763
Saccharomycetaceae	*Candida albicans*	ATCC10231
Trichocomaceae	*Aspergillus brasiliensis*	ATCC16404

B. Evaluation de l'activité antibactérienne

➢ **Les milieux utilisés**

- Le **Mueller Hinton** a été préparé pour le but de repiquage des souches bactériennes et d'évaluation de l'activité antibactérienne.
- La gélose **Sabouraud** est un milieu sélectif pour la culture fongique et principalement utilisé pour l'isolement des dermatophytes, des levures et de divers autres champignons pathogènes et non pathogènes.
- Le **bouillon nutritif** a été préparé pour le but de la réactivation et l'entretien des souches bactériennes

➢ **Repiquage des souches bactériennes**

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur **gélose nutritive** en boite de pétri. A l'aide d'une anse de platine stérile, puis incubées à l'étuve à **37°C** pendant **18** à **24 heures**, afin d'obtenir une culture jeune et

des colonies isolées qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien.

- **Préparation d'inoculum**

Dans un premier temps, une suspension bactérienne d'opacité **0,5 McFarland** a été préparée à partir de jeunes cultures pures **(18 heures)**. Cette opacité équivaut à une densité optique de **0,08 – 0,1 à 625 nm**.



Figure 31 : préparation d'inoculum.

- **Préparation des disques d'aromatogramme**

Les disques sont préparés à partir de papier d'wattman, avec un diamètre de **8-9 mm**. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation.



Figure 32 : préparation des disques d'aromatogramme.

- **Préparation des dilutions des extraits**

Les extraits ont été repris avec le diméthyl sulfoxyde **(DMSO)**, les dilutions des extraits sont réalisées à analyses selon les méthodes suivantes :

a) **Solution mère SM [100%] :** 100mg d'extrait avec **1ml** de **DMSO** dilué **(80% DMSO-20% eau distillée).**
b) **d_1 [75%]** : 75 mg d'extrait avec 1ml de DMSO dilué.
c) **d_2 [50%]** : 50mg d'extrait avec 1 ml de DMSO dilué.
d) **d_3 [25%]** :25mg d'extrait avec 1ml de DMSO dilué.

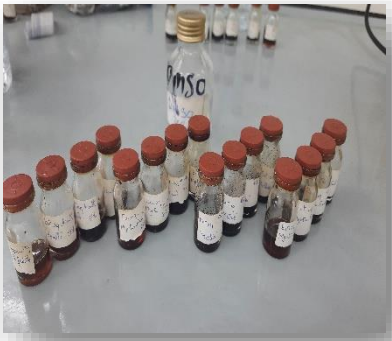


Figure 33 : préparation des dilutions des extraits

- **Ensemencement des souches**
  - La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène.
  - Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (Il est nécessaire d'évité la contamination du manipulateur et de la paillasse).
  - L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
  - Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas.
  - Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de Pétrie de **60°** à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
  - Les disques sont disposés sur la surface du milieu à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène (4 disques de l'extrait) pour chaque boite de Pétri et deux disques pour chaque boite de contrôle : disque d'antibiotique [Gentamicine pour les bactéries et Nystatine pour les champignons] pour le contrôle positif et l'autre de DMSO pour le contrôle négatif).
  - A l'aide de la micropipette, prendre **10 µl** de chaque extrait (ou ses dilutions) et mettre sur le disque qui convient.

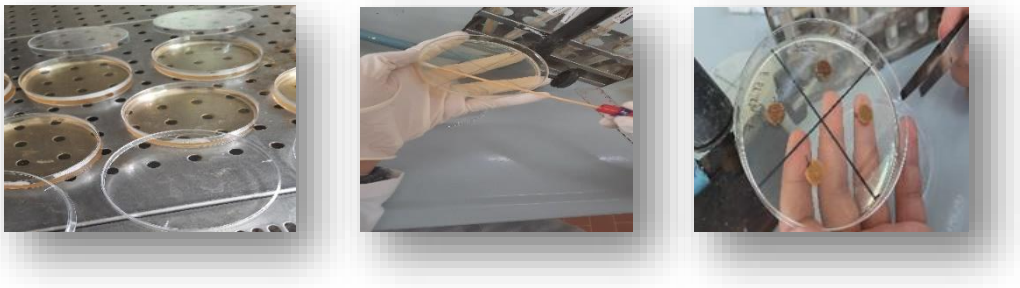


Figure 34 : ensemencement des bactéries et dépôts des disques.

- **Incubation et lecture**

Après incubation de **24-48** heures à **37C°** dans l'étuve, Les résultats sont observés, en mesurant les diamètres de la zone d'inhibition en millimètres (**Boudjouref, 2011).** 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 cinq 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.

C. Etude de l'association des extraits

- ✓ **Principe**

Bien que l'activité antibactérienne des extraits a été analysée et rapportée par plusieurs études indiquées précédemment, les traitements avec les extraits seules, nécessitent généralement, une concentration élevée de ces extraits et une longue durée d'exposition pour éliminer les bactéries cibles **(Tae Jin Cho et *al.*, 2020)**.

Par conséquent, l'utilisation de ces extraits n'a pas résolue le problème de résistance bactérienne, et les antibiotiques perdent de plus en plus leur efficacité contre les bactéries **(Yap et *al.*, 2014).**

Dans cette expérience, nous avons testé s'il existe un effet synergique entre extraits de différentes parties de la même plante et entre les extraits de plantes différentes,

ce test est appliqué aux souches bactériennes étudiées.

- **Etudes de l'association entre les extraits des plantes**

Il a été rapporté que la combinaison de certaines extraits particulières produisait des effets synergiques qui peuvent provenir soit de l'activité combinée de deux constituants principaux des extraits, ou de l'interaction entre plusieurs composants **(Chouhan et *al.*, 2017).**

Basé sur l'activité antibactérienne des extraits végétaux étudiés vis à vis les souches tests et les résultats de la mesure de la zone d'inhibition. L'association des extraits végétaux a été évaluée uniquement pour les souches sensibles à ces extraits selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme).

- ✓ **Préparation des extraits**

Etude des probabilités de l'association des extraits :

a. **Associations des extraits de différentes parties d'une plante**

Les probabilités de l'association des extraits de différentes parties de la même plante sont présentées dans le tableau suivant

Tableau 9 : les probabilités possibles d'association des extraits de différentes parties de la même plante

Plantes	**Extraction**
	Par macération et Décoction
Myrtus communis L	**l'extrait des fruits associé avec l'extrait des feuilles.**
Acanthus mollisque	**l'extrait des Racines associé avec l'extrait des feuilles.**
Erica arborea	**l'extrait des fleurs associé avec l'extrait des feuilles.**

b. **Associations des extraits des plantes différents**

Les probabilités de l'association des extraits de différentes plantes sont présentées dans le tableau suivant

Tableau10 : les probabilités possibles d'association des extraits de différentes plantes.

Probabilité	Extraction Par macération et décoction
1	**Associations des extraits de melisse oficinalis et myrtus feuille.**
2	**Associations des extraits de acanthus mollisque et myrtus feuille.**
3	**Associations des extraits de erica arborea et myrtus feuille.**
4	**Associations des extraits de acanthus mollisque et melisse officinalis .**
5	**Associations des extraits de erica arborea et melisse officinalis.**
6	**Associations des extraits de erica arborea et acanthus mollisque.**

Préparer des solutions **:**

- **SM :** 100% (50% de chaque extrait)
- **D_1 :**75%
- **D_2 :**50%
- **D_3 :**25%

Dans une combinaison, l'interaction entre les agents antimicrobiens peut aboutir à trois résultats différents, synergie, addition ou antagonisme.

La synergie : est obtenue lorsque le mélange des deux composés antimicrobiens produit une activité antimicrobienne supérieure à la somme de l'activité des composants individuels.

Un effet additif : se produit lorsque la combinaison des antimicrobiens donne un effet égal à la somme des composés individuels.

Un effet antagoniste : est obtenue lorsque les deux composés ont un effet combiné inferieure à la somme des deux effets individuels **(Davidson et Parish, 1989; Burt, 2004)**.

II.2.6.3. Activité antiinflammatoire *in vivo*

L'inflammation induite par l'induction de l'œdème de la patte postérieur de la souris par un agent chimique qui est la carragéenine à 1 %. a été évaluée selon la méthode de **(Winter et *al.*, 1972).**

A. Induction de l'œdème par la carragéenine

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration des doses égales d'extrait éthanolique de partie aérienne de *milisse officinalis et acanthe mollis* et du produit de référence utilisé (déclofenac) **(MO.C.I.P.022 SAIDAL).**

Les souris utilisées pour cette étude sont de souche Pablo, ils proviennent de l'élevage de l'animalerie Centrale de la Faculté des sciences de l'université de Médéa. Les expériences ont été réalisées chez des souris adultes, de poids compris entre 18 g et 24 g et ils ont été répartis au hasard en 4 lots homogènes de 5. Les rats ont jeuné pendant la nuit (18 heures) avant l'expérimentation.

- ✓ **Mode opératoire**

- ➢ On constitue 03 lots de 05 souris chacun :

T_0 :

- On mesure pour chaque souris le volume initial (Vo) de la patte postérieure **(figure 35).**



Figure 35 : mesurer le volume initial de patte postérieur de souris.

- 0,05 ml de solution à 1% de carragéenine a été injecté à chaque souris sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche.



Figure 36 : injection de carragéenine .

$T_{30\ min}$: les produits ont été reçus par gavage. **(figure 37)**



Figure 37 : technique de gavage.

- Un lot témoin : ont reçu l'eau distillée.
- Un lot essai 1 : le groupe de référence ont reçu le Declofenac 0.5 ml 7.5%.
- Un lot essai 2 : ont reçu 0.5 ml l'extrait éthanolique d'*Acanthe mollis.*
- Un lot essai 3 : ont reçu 0.5 ml l'extrait éthanolique de *Melisse officinalis.*

La patte postérieure droite n'est pas traitée, elle est considérée comme un témoin. L'évolution de l'œdème de la patte postérieure gauche par rapport à la patte postérieure droite a été déterminée à 1h30, 3h et 6h après l'injection de la carragéenine **(Alaoui et *al.*, 1998)**.

✓ **Expression des résultats**

Nous avons calculé pour chaque lot, la moyenne de l'augmentation de l'œdème selon la formule :

Poids patte gauche (PPG) - poids patte droite (PPD).

Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation pour chaque lot traité par les différentes doses des extraits et le médicament de référence, a été calculé en comparant la moyenne de l'augmentation de l'inflammation avec celle du lot témoin traité par l'eau distillée.

Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation est calculé selon la formule suivante reportée par **(Saénz et *al.*, 1998)**:

$$\textbf{\% d'Inhibition} = \frac{\text{M (PPG - PPD) lot témoin - M (PPG - PPD) lot traité}}{\text{M (PPG - PPD) lot témoin}} \times 100$$

II.2.7. Formulation de produits :

II.2.7.1.Préparation de produits :

La préparation du produit est effectuée selon la méthode décrite par le (**Organisation Mondiale de la Santé).**

Nous avons formulée une pommade avec l'extrait éthanolique de « ***Méllise officinalis*** », l'excipient principal était la vaseline en raison de sa stabilité et de sa compatibilité avec la plupart des principes actifs selon La formulation « **Pommade hydrophile** ». Un gel avec l'extrait éthanolique ***d'Acanthus mollis***, l'excipient principal est le propyléneglycol gélifié en raison de l'augmentation ou la diminution de la viscosité du produit selon la formulation « **Gel hydrophile** ».

✓ **Mode opératoire *:***

Désinfecter l'échantillon avec l'alcool éthylique, puis l'exposer à la lumière UV sous une hotte à flux laminaire pendant 20min.

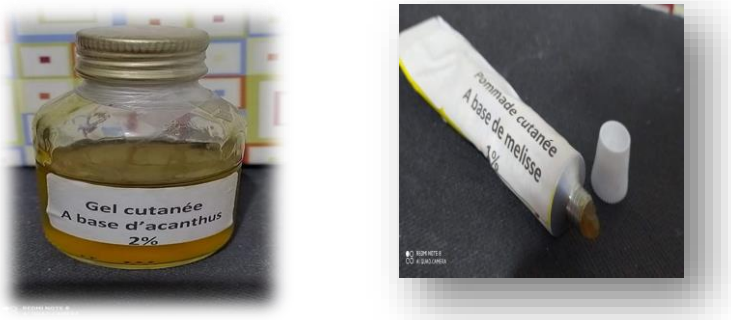


Figure 38 : Préparation de produits.

A : gel **B : pommade**

II.2.7.2.Détermination de la qualité microbiologique de produit :

A. Dénombrement des germes aérobies totaux et levures et moisissures totales :

Le choix de la méthode est déterminé par des facteurs tels que la nature du produit et la limite spécifiée pour le nombre de microorganismes.

✓ **Technique d'étalement en surface :**

-Introduire dans une boite de pétri **15-20ml** du milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja à une température ne dépasse pas **25C**°(DGAT), puis laissez solidifier.
-Faire la même démarche en utilisant le milieu Sabourand dextrose-gélosé (DMLT).
-Etaler la surface du milieu d'un volume mesuré d'au moins **0,1ml** de la solution A. (Essai effectué en double).

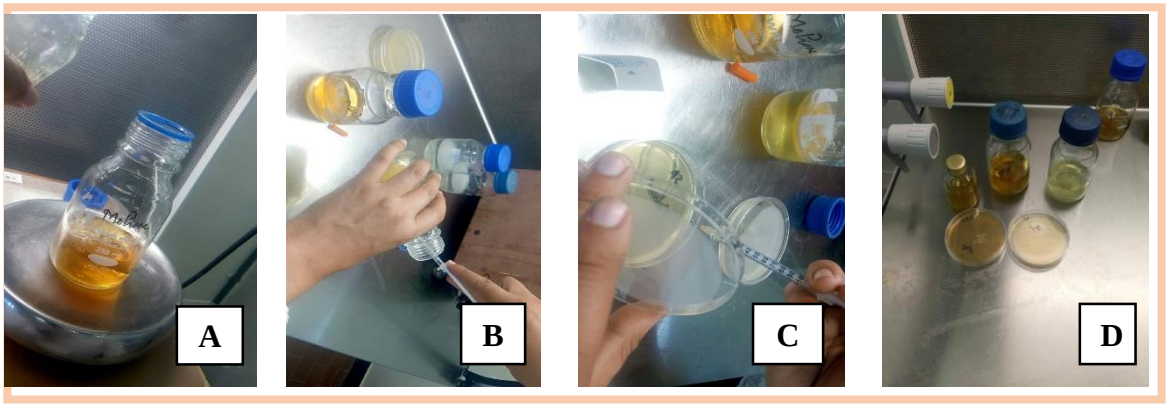


Figure 39 : détermination de la qualité des produits

A : préparation de la solution A **B : volume** de 1.5ml **C :** étalement à la surface **D :** incubation.

-Incuber les premières boites (DGAT) à (**30-35C°**) pendant (**3-4**) jours.

-Incuber les deuxièmes boites (DGAT) à (**20-30**C°) pendant (**5-7**) jours.

- ✓ **Expression des résultats**

  Evaluation de notre produit avec un produit pharmaceutique

  Selon la pharmacopée européenne la spécification technique des pommade et crèmes

Exp : Mycocide, bétasone, Kétoskin**. (Tableau 11)**

Tableau 11 : Spécification de qualité microbiologique**.**

Tests de qualité microbiologique	**Spécifications**
Germes aérobies viables totaux	< **100** UFC/g
Levure et moisissures totales	< 10 UFC/g
Staphylococcus aureus	Absence dans 1g
Pseudomonas aeruginosa	Absence dans 1g

II.3.Etude statistique

Les résultats des différents tests sont analysés par Excel 2013 pour les comparaisons simples, et les valeurs ont été exprimées en moyenne ± Ecart type, pour l'activité anti-oxydante et antimicrobiennes et les analyses quantitative.

Partie III :

Résultats & Discussion

« 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)

III. Résultats et discussion

III.1.Résultats

III.1.1.Extraction :

Pour l'obtention des différents extraits secs à partir de la poudre de chaque partie de quatre plantes étudiées, nous avons réalisé des extractions aqueuses (décoction) et des extractions Ethanoliques (macération).

Cette extraction a permis d'obtenir deux extraits bruts pour chaque partie de la plante : l'extrait aqueux(EA) extrait hydro Ethanolique (EE).

III.1.2.Détermination le rendement

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de l'extrait sec sur la quantité de la matière végétale fraiche. Il dépend de plusieurs paramètres tels que : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (**Quy Diem Do et *al.*, 2014**).

Dans cette étude, Le rendements a été déterminé par rapport au poids total de la poudre des plantes. Ce dernier montrent que les parties de quatre plantes ont donné des masses en extraits sec supérieurs à 1 g / 50 g de plante en poudre. . Ces résultats sont représentés dans **le tableau (12).**

Tableau 12 : Tableau récapitulatif regroupant les rendements des extraits des plantes étudiées.

Matériel végétale	**Organe**	**Méthode d'extraction**	**Couleur**	**Aspect**	**Rendement %**
Erica arborea	Fleure	Macération	Marron foncé	Poudre	21%
		décoction			15.1%
	Feuille	Macération	Marron claire	Poudre	17.3%
		Décoction			15%
Acanthus mollisque	Feuille	Macération	Noir	Pâteux	17%
		Décoction			13.8%
	Racine	Macération	Noir	Solide	42%
		Décoction			16.58%
Melisse officinalis	Feuille	Macération	Vert foncé	Poudre	44.85%
		Décoction			30.85%
		Macération	Rouge foncé	Pâteux	66%

Myrtus communis	Fruit	Décoction			23.8%
	Feuille	Macération	Vert	Poudre	52.1%
		Décoction			47.2%

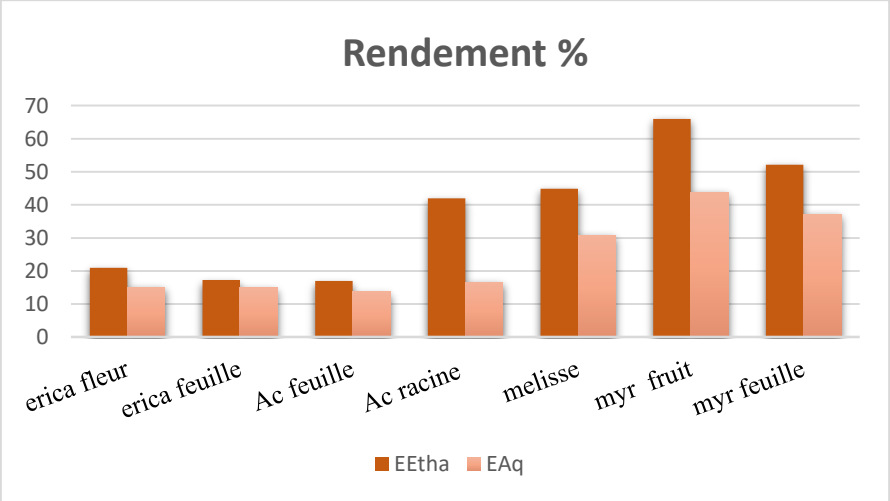


Figure 40 : Présentation du rendement des extraits des plantes étudiées.

Du point de vue rentabilité en poids et d'après le **tablx (12),** les extraits hydro Ethanolique (EE) ont donné les proportions les plus élevée par apport aux extraits aqueux(EA). 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).**

D'après **Quy Diem Do et *al.* (2014)**, l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique.

L'EE de ***Myrtus comminus*** 'fruit' représente le rendement le plus élevé (66%) suivie de l'EE ***Myrtus comminus*** 'feuille' (52%), alors que, l'EA d'***Acanthus mollisque*** 'feuille' représente le plus faible rendement avec (13,8%).

III.1.3.Analyse qualitative

III.1.3.1. Screening phytochimique

L'extrait sec ne renferme pas uniquement des polyphénols et des flavonoïdes, il contient également d'autres substances naturelles (**BÉKRO et al, 2007; Kebièche et al,2011**).pour découvrir ces substances naturelles nous avons fait le « screening phytochimique ».

La phytochimie qualitative est basée sur des réactions colorées ou de précipitation par des

réactifs chimiques spécifiques réalisée sur les extraits des quatre plantes étudiées. Le criblage phytochimique a permis de caractériser quelques groupes chimiques existants dans les extraits (polyphénols, flavonoïdes, tanins, tanins hydrolysés, saponines, alcaloïdes, coumarine, Quinones libres, anthraquinones, terpénoïdes...ect).

Les résultats de présence ou l'absence des différents groupes chimiques sont présentées dans le **Tableau (13) et les figures suivants** :

Tableau 13 : Screening phytochimique des extraits des plantes étudiées.

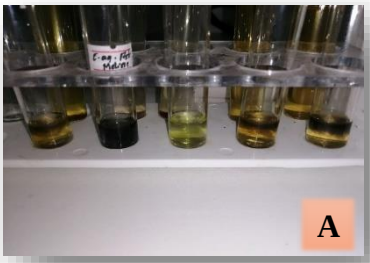
Métabolites secondaires	**Réactifs utilisés**	**Plantes**													
		My.F		**My.FR**		**Er.FR**		**Er.F**		**Melisse.f**		**AC.F**		**AC.R**	
		EE	**EA**	**EE**	**EA**	**EE**	**EA**	**EE**	**EA**	**EE**	**EA**	**EE**	**EA**	**EE**	**EA**
Polyphénol	Chlorure de fer (FeCl3)	+	++	++	+	+++	+++	+++	+++	++	+++	+	++	-	-
Anthraquinone	NH_4OH	++	++	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Alcaloïde	Réactif de Dragendorff	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	+	+++	+++
Coumarine	Naoh +hcl	+	+	-	+	-	+	+	-	++	+	++	-	-	+++
Terpènoïde	Chloroforme + H2SO4	+++	++	-	+	+++	++	++	++	++	+++	++	+++	++	+++

	concentré														
Tanins	Chlorure de fer (FeCl3)	++	+	+	-	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-
Saponine	Indice de mousse	-	+++	-	++	-	-	-	+++	-	-	-	+	-	-
Tanins hydrolysable	CH3COONa + FeCl3	+++	+	+	-	+++	+++	++	+++	++	++	-	+	-	+
Quinone libre	Dosage avec NaOH	++	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+	++	-	-	-	-
Anthocyanes	HCl dilué +NH3	+	+++	+	+++	+++	++	+++	++	++	+++	+	+	-	+

Les résultats ont été évalués comme suit : (+++) : Fortement positif ; (++) : Moyennement positif ; (-) : Négatif.

✓ **Polyphénols**

L'existence des composés phénoliques dans les extraits des plantes, a été vérifiée par la Réaction au **Fe Cl** 3.



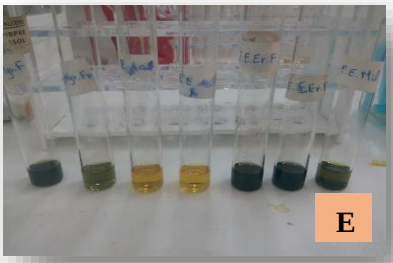


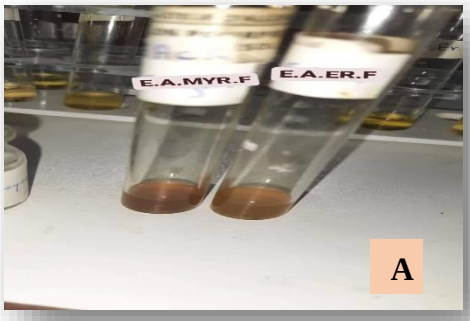
Figure 41 : Résultats de test des polyphénols

A : E.A. des plantes **E :** E.E des plantes.

Les résultats de cette manipulation indiquent clairement la présence des composés phénoliques en abondance, caractérisés par une réponse positive au test de chlorure ferrique **(Fe Cl** 3**)**, Les composés phénoliques se sont confirmés par l'apparition d'une coloration vert noirâtre.

✓ **Anthraquinone :**

la présence de l'anthraquinone a été révélée par l'apparition d'un anneau rouge



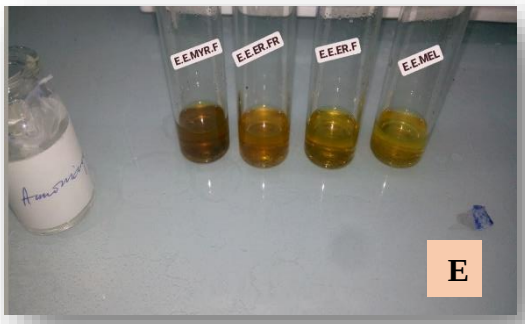


Figure 42 : Résultats de test des Anthraquinones

A : les extraits A **E :** les extraits E

✓ **Alcaloïde :**

L'existence des alcaloïdes dans les extraits des plantes, a été vérifiée par le « **Réactif de *Dragendorff*** ».

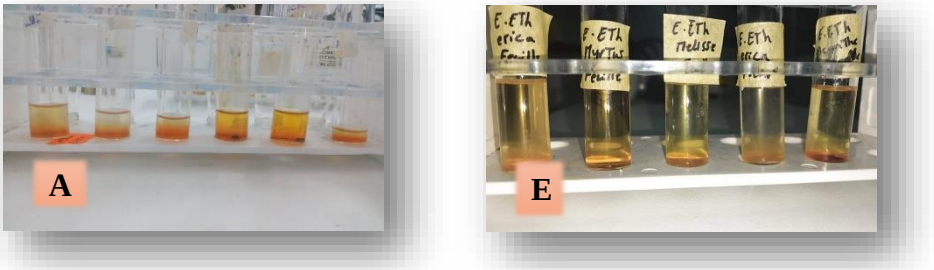


Figure 43 : Résultats de test des alcaloïdes.

A : E.A. des plantes **E :** E.E. des plantes.

Les résultats de ce test indiquent clairement la présence des alcaloïdes, par une réaction positive confirmée par l'apparition d'un précipité brun-rougeâtre remarquable.

✓ **Terpènoïde**

La présence des terpènes dans les extraits a été testée par le **Chloroforme** et l'**H2SO4** concentré.

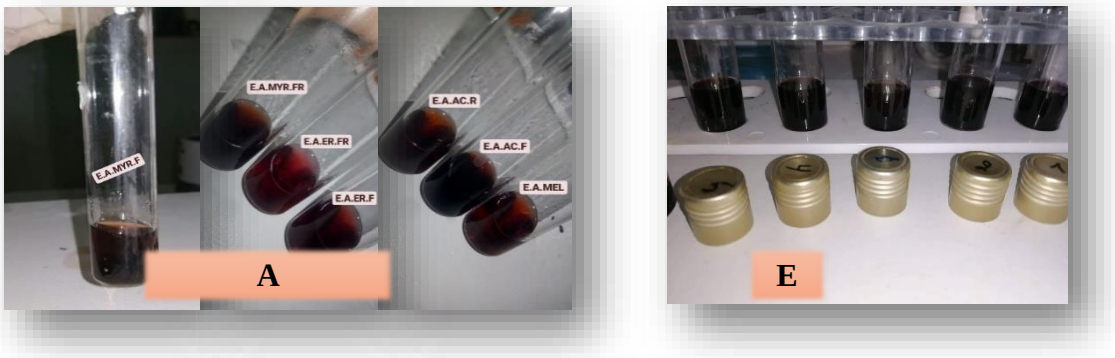


Figure 44 : Résultats de test des terpènoïdes. :

A : E.A.des plantes **E :** E.E.des plantes

L'apparition de coloration rouge-brun indique la présence des terpènes dans nos extraits en abondance.

✓ **Tanins**

La présence des tanins a été vérifiée par la solution aqueuse de **Fe cl**$_3$.



Figure 45 : Résultats de test des tanins :
A : E.A.des plantes **E :** E.E.des plantes.

Ce test a démontré l'apparition d'une couleur bleu noir ou vert, ce qui indique la présence des tanins dans certains extraits.

✓ **Tanins hydrolysable :**

La présence des tanins hydrolysable a été vérifiée par **Fecl**$_3$.

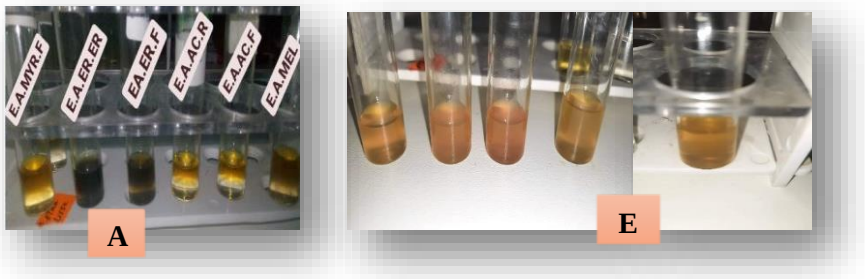


Figure 46 : Résultats de test des tanins hydrolysable :
A : E.A.des plantes **E :** E.E. des plantes.

On a remarqué l'apparition d'une teinte bleu noir pour certains extraits déclarés pourvus de tanins hydrolysables

- ✓ **Saponines**

la présence des saponines a été vérifier par l'indice de mousse.

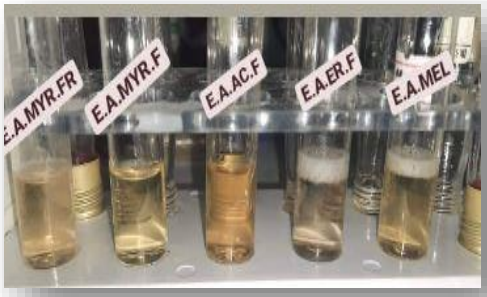


Figure 47 : Résultats de test des saponines :

Nos résultats ont montré l'apparition d'une mousse persistante seulement pour les extraits décoctées, ce qui indique la présence des saponines dans ces derniers.

- ✓ **Coumarines :**

La présence des coumarines a été vérifié par NaoH .

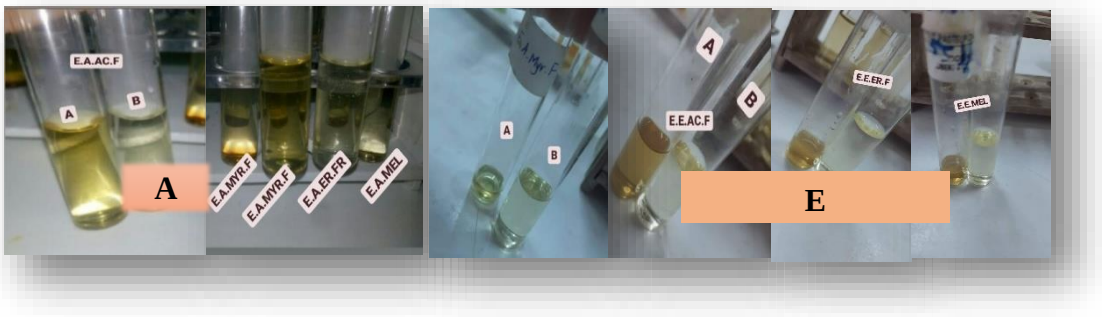


Figure 48 : Résultats de test des coumarines :

A : E.A.des plantes **E :** E.E .des plantes.

Ce test a montré que le tube dans lequel on a ajouté le réactif (B) est plus transparent que le tube témoin (A), ce qui implique la présence des coumarines dans certains extraits (Tableau 13)

✓ **Quinones libres :**

Les quinones libres sont testées par le **NaOH 1%**.

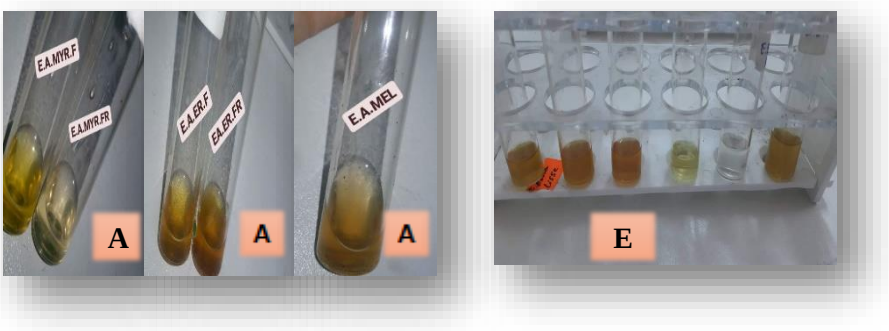


Figure 49 : Résultats de test des Quinones libres :

A : E.A.des plantes **E :** E.E .des plantes.

Les tests ont montré la présence de ces composés traduite par l'apparition de coloration qui vire en jaune ou rouge ou violet.

✓ **Interprétation des résultats :**

Nous constatons que les substances actives des extraits varient d'une plante à une autre.

Le screening phytochimique montre que : les extraits aqueux sont riche en polyphénols, alcaloïdes coumarines, quinone, tanins, saponines, terpénoide.

Quant à les extraits ethanolique, ils renferment, des polyphénols, des alcaloïdes et des terpènes Outre les tanins, les coumarines et quinine avec des quantités faible par rapport aux extraits aqueux.

Le non concordance des résultats serait dû au choix du solvant et au mode d'extraction. De plus, l'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale dépend de leur structure chimique, du type de solvant utilisé, de la méthode d'extraction de la granulométrie et du temps de macération **(Naczk et Shaidi, 2004)**.

III.1.4. Analyse quantitative

III.1.4.1.les phénols totaux :

Après l'ajout du réactif de Folin-Ciocalteu et de carbonate de sodium, une couleur bleue est obtenue dont l'intensité varie en fonction de la concentration phénolique d'extrait de la plante.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux des extraits hydro éthanolique et aqueux sont portés dans la **figure 50.**

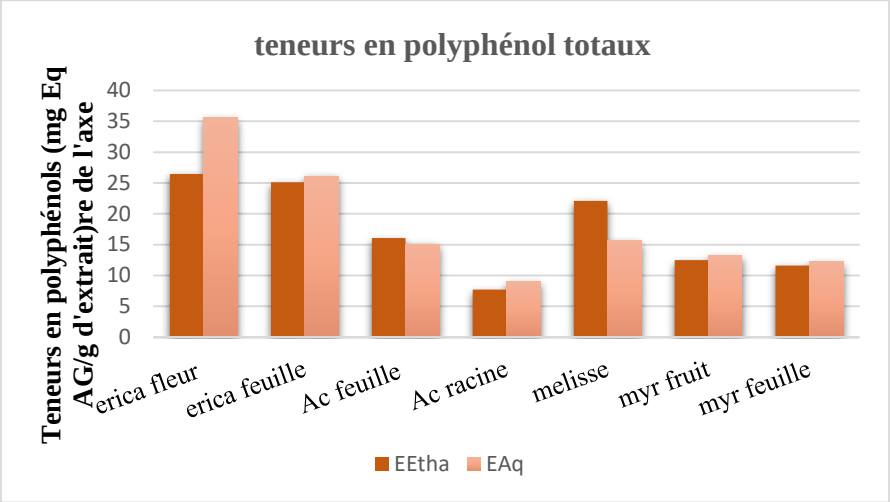


Figure 50 : teneurs en polyphénol totaux des extrais des quatre plantes étudiées.

Ces résultats indiquent que la richesse des plantes en polyphénols est importante**.**

On remarque que la teneur en polyphénol la plus élevée a été enregistrée avec les deux extraits *d'Erica arborea* avec **37,3%** et l'extrait de *Mélisse officinalis* avec **18, 88%.**

Les résultats des travaux de **Yaici et *al.*, (2019)** ont montré que ces extraits contiennent des quantités de polyphénol de **74,22** mg EAG/g et **60,88**mg EAG/g pour les feuilles et les fleurs respectivement, contrairement à nos extraits qui ont révélés des teneurs plus basse en polyphénols.

L'extrait des racines d'Acanthe mollis représente la fraction la plus pauvre en polyphénols avec 8,36%.

Les conditions géographiques et climatiques peuvent entraîner des différences significatives dans les concentrations des composés bioactifs dans les plantes, ce qui se répercute sur leurs activités biologiques. La solubilité dans les solvants organiques de ces composés phénoliques jouerait un rôle dans la quantification de ces composés.

III.1.4.2.Dosage des flavonoïdes :

Après l'addition du chlorure d'aluminium, un complexe jaune verdâtre est formé. L'intensité de cette coloration est en fonction de la concentration de l'extrait.

Les teneurs en flavonoïdes des extraits hydro-éthanolique et aqueux sont représentées dans la **(figure 51)** ci-dessous.

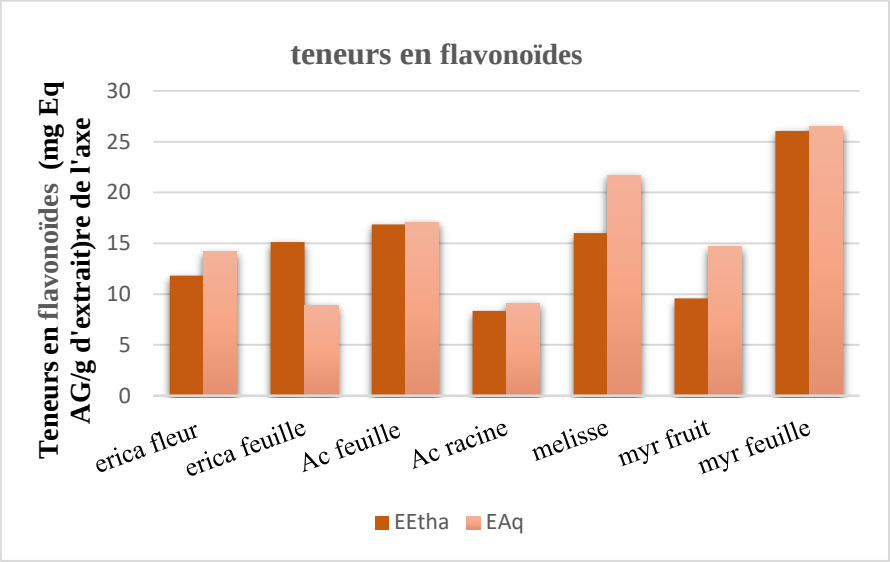


Figure 51 : teneurs en flavonoïdes des extrais des quatre plantes étudiées.

Les extraits de *Myrtus communis ainsi* que celui de *Mélisse officinalis* ont les teneurs les plus importantes avec une proportion de **38,4**% et **18,86**% successivement.

Les teneurs les plus basses ont été obtenues avec les extraits de Racine d'*Acanthe mollis* avec une proportion de **8,72**%.

D'après les résultats de **Snoussi** et ces collaborateurs (**2013),** les extraits des fleurs de *Myrtus comminus* sont les plus riches en flavonoïdes 16,9 mg Q/g. notre étude a montré une teneur en flavonoïdes deux fois plus élevé (26,46mg Q/g) que celle rapportée par **Snoussi el *al.*,(2013).**

III.2. Activités biologiques

Les extraits sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels, polarités et comportements chimiques. Cette complexité chimique des extraits pourrait mener à des résultats dispersés selon l'essai utilisé. Par conséquent, une approche avec des analyses multiples pour évaluer le potentiel antioxydant et antibactérien des extraits serait plus instructif et même nécessaire **(Ozturk et *al.*, 2010)**.

Les polyphénols sont des composés fortement hydroxyles que l'on retrouve dans diverses fractions d'extraits végétaux. Ils ont la capacité de réduire les radicaux libres dans les systèmes biologiques. Ce qui fait de ces composés de potentiels agents antioxydants et antibactériens et anti-inflammatoire **(Hagerman et al., 1998).**

III.2.1.L'activité anti-oxydante *in vitro*

III.2.1.1. Piégeage du radical libre DPPH

Les résultats de l'évaluation de l'activité Antioxydante des extraits étudiée par le test de DPPH sont exprimés par le pourcentage d'inhibition et la concentration inhibitrice 50 du radical DPPH par les extraits et sont représentés graphiquement **(Figure 52).**

À des fins comparatives, l'acide ascorbique est utilisé comme antioxydants standards, Il a montré une activité anti radicalaire très puissante avec une IC**50** de **0,06** mg/ml.

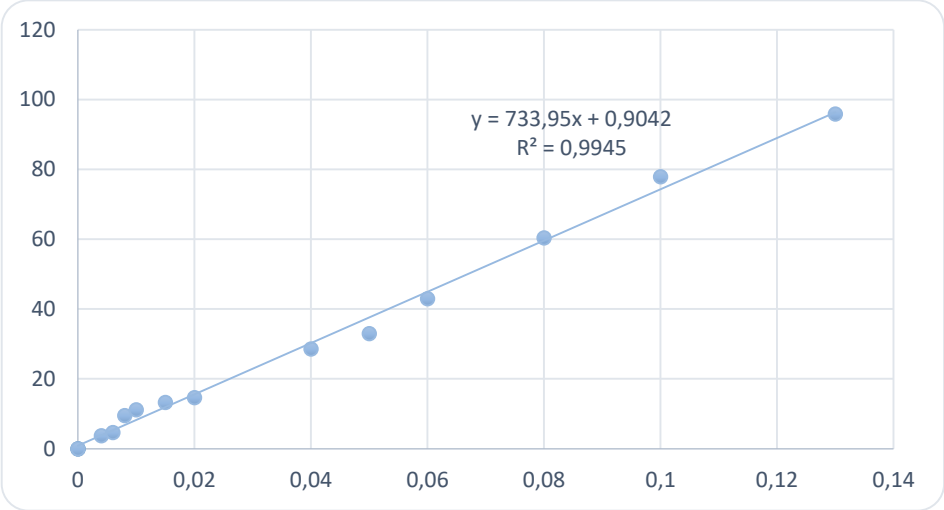


Figure 52: courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.

Selon les mesures effectuées sur les extraits Ethanoliques de nos plantes, On calcule le pourcentage d'inhibition de DPPH selon la formule indiquée dans la partie précédente.

Les profils d'activité anti radicalaire obtenus révèlent que les extraits de *Melisse officinalis, myrtus communis, Erica arborea* et *Acanthe mollis* possèdent une activité anti-radicalaire dose dépendante. Les IC50 de chacun des différents extraits ont été déterminées **(Tableau 14).**

Tableau 14 : Activité anti-radicalaire des extraits des plantes étudiées

Plante	Extrait	IC50%
Mélisse	E.E.M.F	68,81±0,21
Myrtus Communis	E.E.Myr.F	130,72±0,16
	E.E.Myr.FR	492,14±1.70
Erica Arborea	E.E.Er.F	77,37±0 ,32
	E.E.Er.Flr	36,54±0,39
Acanthe Mollis	E.E.Ac.F	75,76±0,95
	E.E.Ac.R	254,87±0,19

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type (trois essai pour chaque concentration). **E.E.M.F :** Extrait Ethanolique Mélisse Feuille**, E.E.Myr.F :** Extrait Ethanolique Myrtus Feuille, **E.E.Myr.FR :** Extrait Ethanolique Myrtus Fruit, E.E.Er.F **:** Extrait Ethanolique Erica Feuille, **E.E.Er.Flr :** Extrait Ethanolique Erica Fleur, **E.E.Ac.F :** Extrait Ethanolique Acanthe Feuille, **E.E.Ac.R :** Extrait Ethanolique Acanthe Racine.

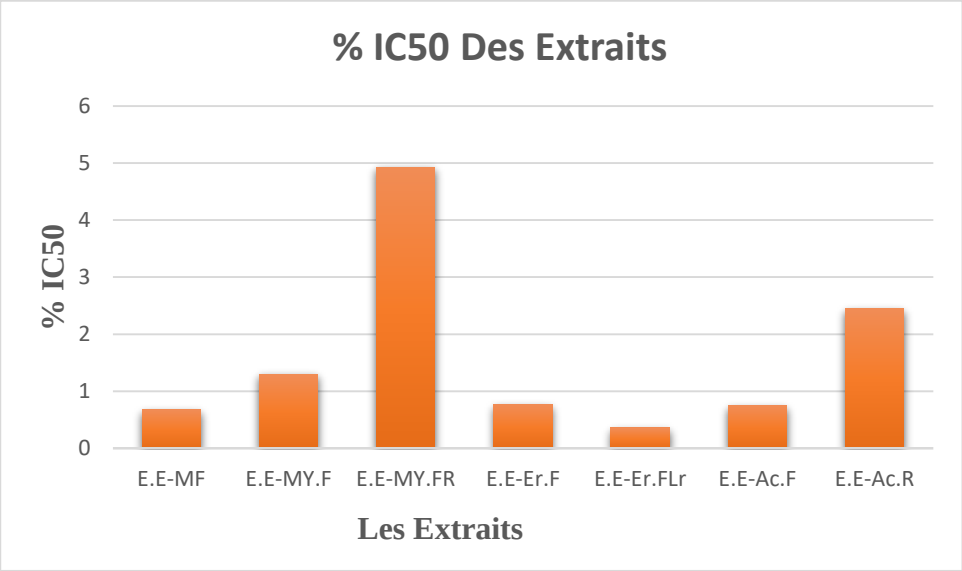


Figure 53 : Histogramme représentatif d'IC50% par les extraits Ethanoliques.

Les résultats montrent que la réduction de DPPH est efficacement inhibée par les extraits testés. En effet, la capacité anti-radicalaire la plus élevée est trouvée pour les extraits **Er.Flr** et de **M.F** avec **IC50=0,36**mg/ml et **IC50=0,68**mg/ml respectivement

Une concentration de **68,9** % de l'extrait **M.F**, et de **36,61** % de l'extrait Er.Flr inhibe **50**% de **DPPH**. De ce fait, L'**IC50** de l'extrait M.F est plus grande que celle de l'extrait Er.Flr, Ce dernier possèdes une meilleure activité anti-radicalaire par rapport à celle de la vitamine E (**IC50=0,06**mg/ml). Les autres extraits montrent des activités voisines mineures. Ces résultats montrent un meilleur effet antioxydant de ces deux extraits à une concentration de 1mg/1ml.

Une étude antécédentes menée sur les extraits de fleur d'*Erica Arborea* a révélé une CI50 de **15,31 ± 1,2** mg/ml **(Yaici et al., 2019).** alors que, nos résultats ont montré une valeur de CI**50=36,54±0,39** , ceci est probablement du au protocole expérimental suivi. L'activité antioxydante de nos extraits organisée d'ordre décroissant est comme suit :

E.Flr > M.F> E.Ac.F > E.F > Myr.F > E.Ac.R > Myr.F

III.2.2. Evaluation Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des différents extraits obtenus à partir des extraits des plantes étudiées contre un panel de neuf micro-organismes (bactéries et champignon) a été évaluée qualitativement en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Cette méthode a l'avantage de tester les différents extraits contre un seul micro-organisme dans une même boîte Pétri **(Rios et Recio, 2005).**

D'après **Roura et *al.* (2003),** la sensibilité à l'extrait a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- Non sensible (-) pour les diamètres moins de **8**mm.
- Sensible (+) pour les diamètres de **8** à **14** mm.
- Très sensible (++) pour des diamètres de **15** à **19** mm.
- Extrêmement sensible (+++) pour des diamètres plus de **20** mm.

III.2.2.1.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. Nous avons testé l'activité de l'antibiotique Amoxilline sur six souches bactériennes et la Nystatine sur trois souches fongiques par la méthode standard des disques. Les mesures des zones d'inhibition figurant dans les **tableaux (15)** et **(16)** leurs aspects sont photographiés dans la **figure 54.**

Tableau 15 : Résultat d'antibiogramme sur les souches révérencielles des bactéries**.**

Souches / **ATB**	**Les diamètres d'inhibition (mm)**					
	E. Coli	***P.aeroginosa***	***S. typhimirium***	***S. epidermidis***	***B. subtilus***	***S.aureus***
Amoxicille 30µg	35.3 mm	47.5 mm	33.9 mm	38.5 mm	43.7 mm	49.2 mm

Les résultats mentionnés montrent que toutes les souches étaient très sensibles ou extrêmement sensibles à l'antibiotique standard « Amoxilline ».

Staphylococcus aureus la souche la plus sensible avec la plus grande zone d'inhibition **43.7** mm, suivi par *Pseudomonas aeroginosa* ; *Bacillus subtilis* ; *Staphylococcus epidermidis* ; avec les zones d'inhibition respective de **47.5** mm, **43.7** mm, **38.5** mm.

Ainsi, on constate que les souches *Escherichia coli* ; *Salmonella typhimirium* sont les moins sensibles à l'antibiotique par rapport aux autres souches, avec des zones d'inhibition respectives de **35.3** mm et **33.9** mm.

Tableau 16 : Résultats de l'antibiogramme sur les souches fongiques de référence

Souches / **ATB**	**Les diamètres d'inhibition (mm)**		
	S. cerevisiae	***C. albicans***	***A. brasiliensis***
Nystatine	48.1 mm	44.6 mm	29.1 mm

D'après ces résultats qui montrent la sensibilité de toutes les souches fongiques étaient sensibles à l'antibiotique standard « nystatine ».

Saccharomyces Cerevisiae possède la plus grande zone d'inhibition **48.1** mm, suivi par *Candida Albicans* avec **44.6** mm. Alors que, *Aspergillus Brasiliensis* la souche la plus résistante que les autres avec une zone d'inhibition **29.1** mm.

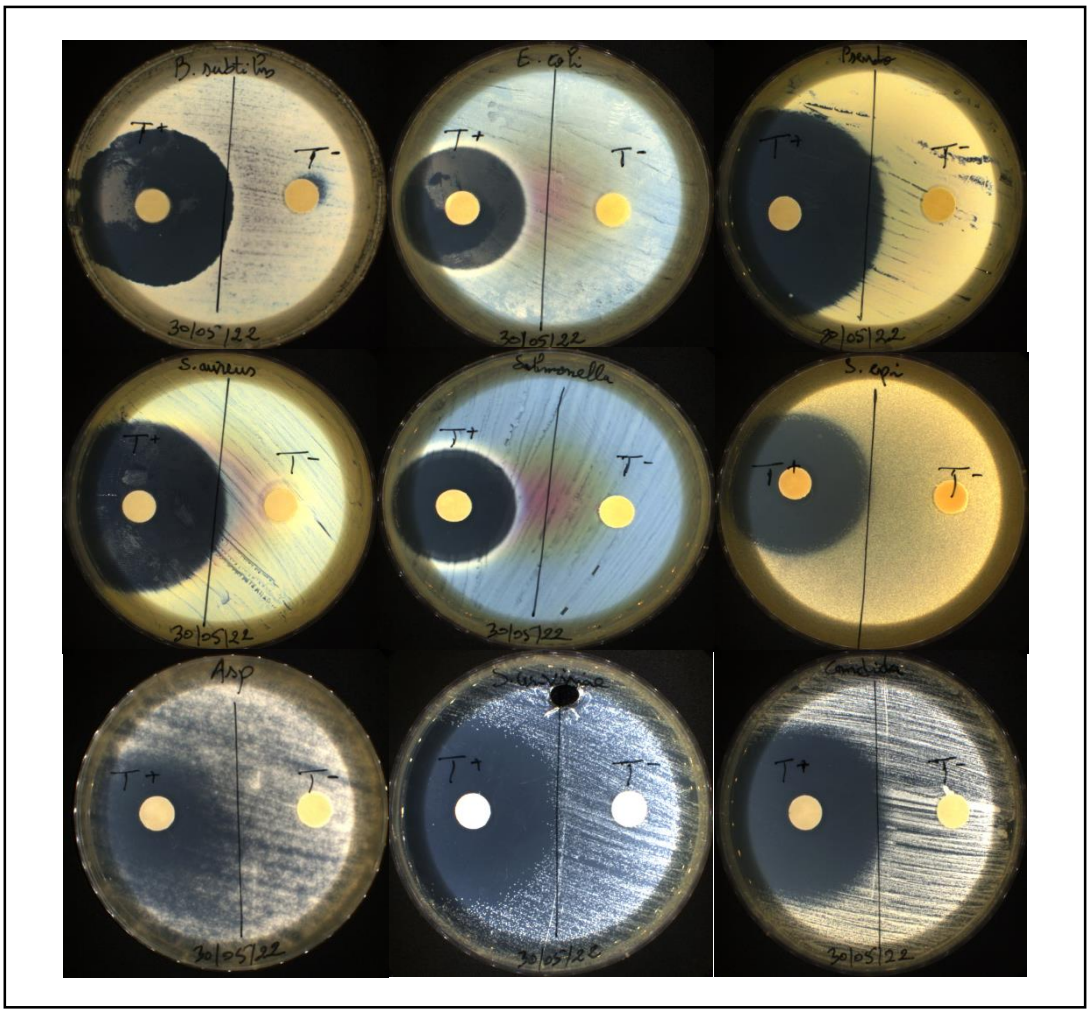


Figure 54 : Aspect des zones d'inhibition de Gentamicine vis-à-vis les souches bactériennes.

III.2.2.2. L'inhibition de la croissance bactérienne

L'effet antibactérien des extraits des plantes étudiées *est* évalué dans cette étude par la technique de diffusion sur le milieu. Les résultats obtenus sont représentés dans les **figures** suivants.

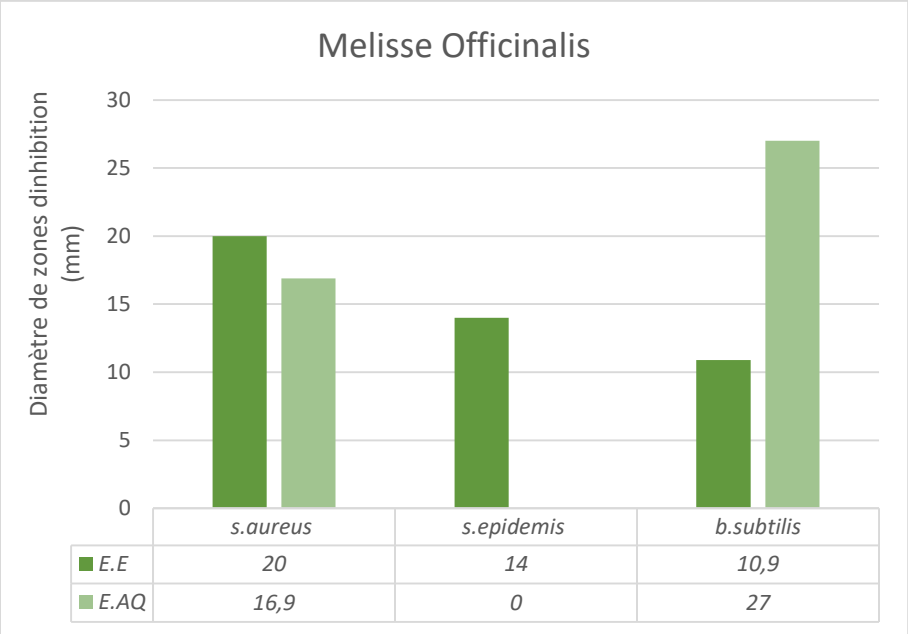


Figure 55 : Activité antibactérienne des extraits de *Melisse officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm.

L'évaluation de l'effet antibactérien des extraits ethanoliques et aqueux de feuille de *Mélisse officinalis* a une concentration de **100** mg/ ml, a montré une activité inhibitrice envers uniquement la croissance de trois souches. A savoir, *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition (**14.87** ± **3.70**) de l'extrait ethanolique importante par rapport à celle de l'extrait décocté (**7.45** ± **16.9**). *Bacillus sibtilus* avec une zone d'inhibition de l'extrait ethanolique (**13.42** ± **6.40**) faible par rapport à celle de l'extrait décocté (**20.9** ± **4.77**), et *staphylococcus epidermidis* avec une zone d'inhibition de l'extrait ethanoolique (**12.35** ± **1.24**) seulement.

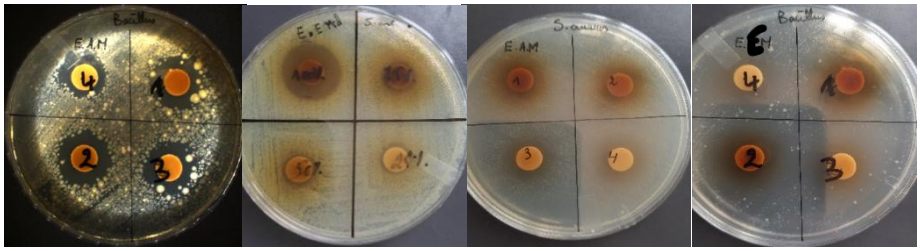
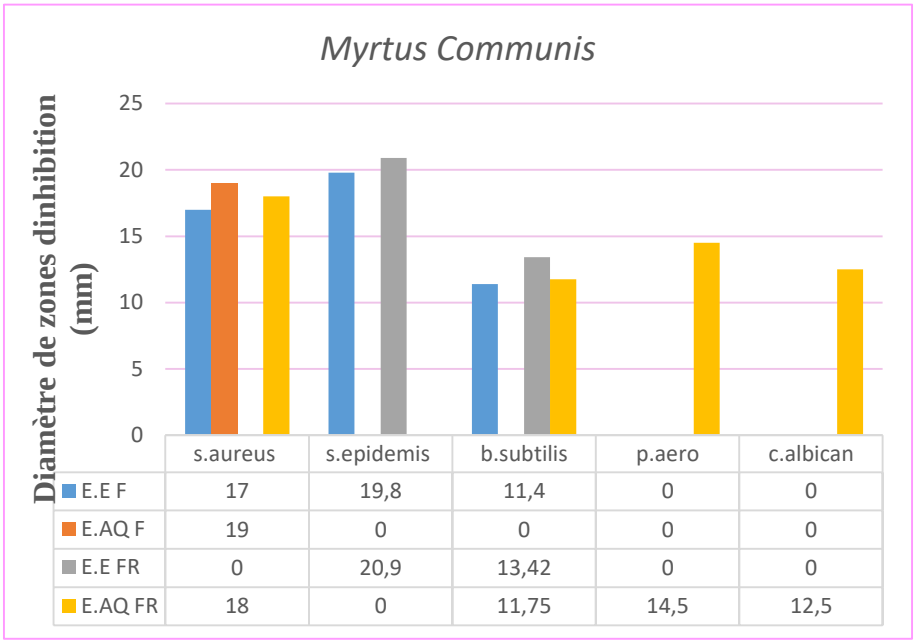


Figure 56 : Résultat de l'effet antibactérien des extraits de *Melisse officinalis.*

Les résultats de l'effet antimicrobien des extraits de *Myrtus communis* sont illustrés dans la **figure 57**.



	s.aureus	s.epidemis	b.subtilis	p.aero	c.albican
E.E F	17	19,8	11,4	0	0
E.AQ F	19	0	0	0	0
E.E FR	0	20,9	13,42	0	0
E.AQ FR	18	0	11,75	14,5	12,5

Figure 57 : Activité antibactérienne des extraits de *myrtus communis* exprimée par les diamètres des zones en mm.

D'après nos résultats, les extraits de fruits de *myrtus* ont montré un effet inhibiteur plus élevé que celui des extraits des feuilles. Ceci a été traduit par une activité inhibitrice sur presque la totalité des souches de *staphylococcus aureus*, *Staphylococcus Epidermidis*, *Pseudomonas Aerogenosa* et *Bacillus Subtilus* et aussi *Candida Albicans*, avec des zones d'inhibitions d'un diamètre variant entre **12.5**mm et **20.9** mm.

De ces résultats, il ressort également que les feuilles myrtus ont induit un effet inhibiteur plus faible que celui des fruits de la même plante, avec des diamètres entre **12.2mm** et **19.8** mm sur seulement trois souches (*Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Epidermidis* et *Bacillus Subtilus*)

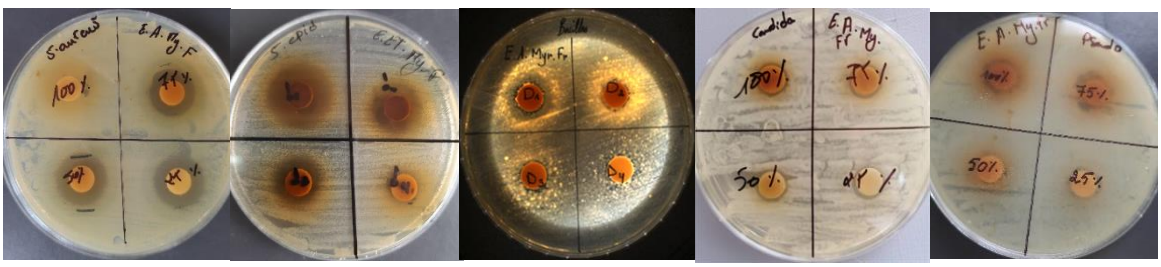
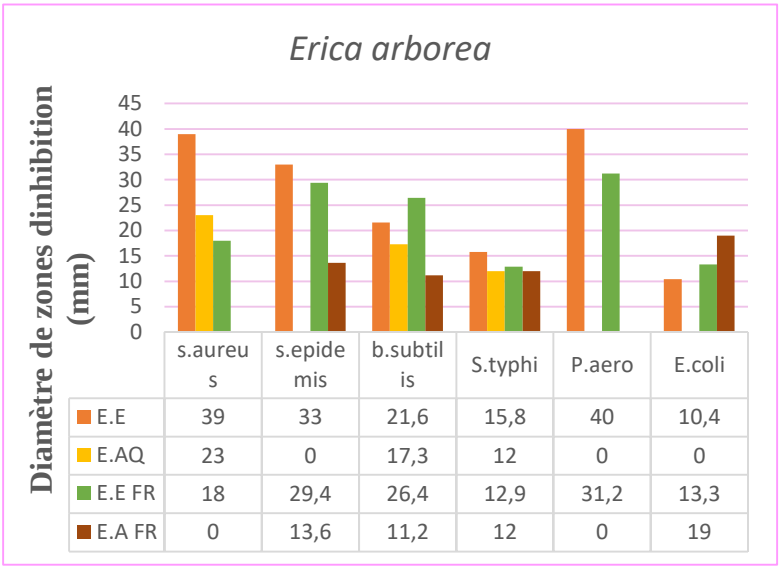


Figure 58 : Résultat de l'effet antibactérien des entraits de *myrtus communis*.

Les résultats de l'effet antibactérien des extraits d'*Erica arborea* sont présentés dans la **figure**

59.



	s.aureus	s.epidemis	b.subtilis	S.typhi	P.aero	E.coli
E.E	39	33	21,6	15,8	40	10,4
E.AQ	23	0	17,3	12	0	0
E.E FR	18	29,4	26,4	12,9	31,2	13,3
E.A FR	0	13,6	11,2	12	0	19

Figure 59 *:* Activité antibactérienne des extraits d'*erica arborea* exprimée par les diamètres des zones en mm.

L'extrait des feuilles d'erica semble avoir l'effet inhibiteur le plus élevé sur presque la totalité des souches. En effet, cet extrait a induit des zones d'inhibition d'un diamètre qui varie entre 10 mm et 39 mm. De ces résultats, il ressort également que l'extrait des fleurs d'erica a induit des effets inhibiteurs entre 9.5 mm et 31.2 mm envers six souches testées **(figure 60),** mais ces effets sont plus faibles que ceux obtenus par les Feuilles.

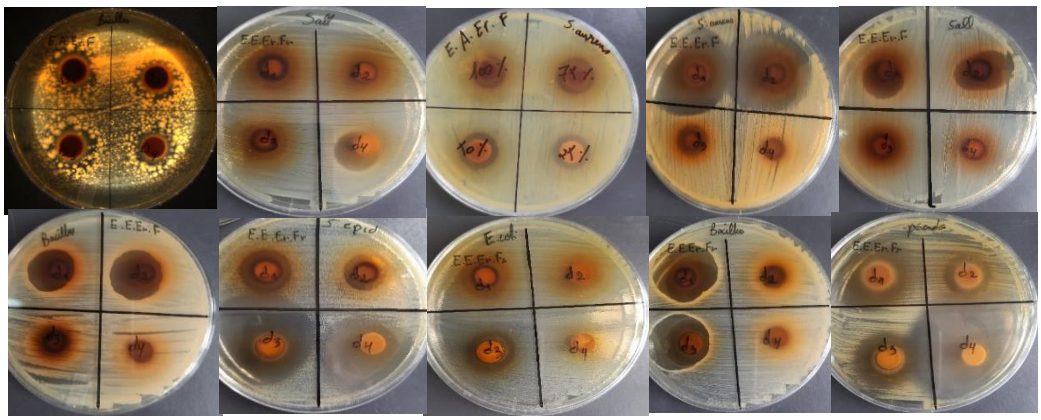
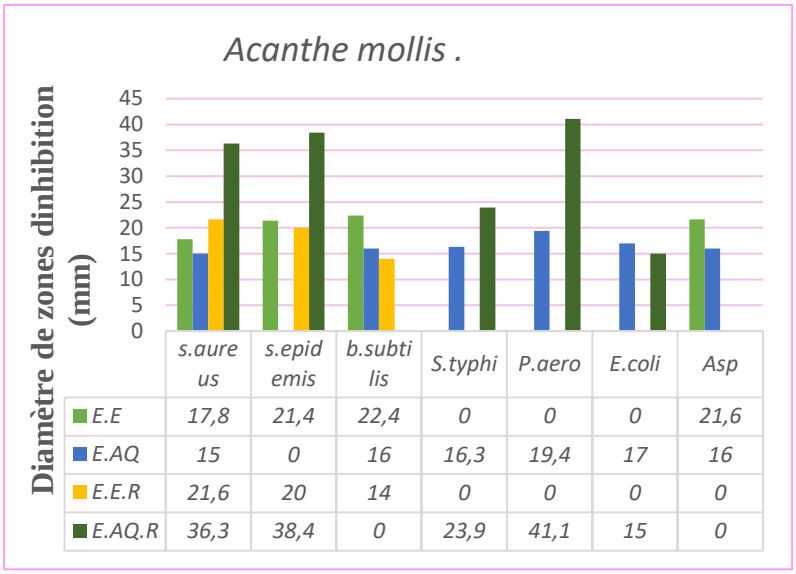


Figure 60 : Résultat de l'effet antibactérien des entraits d'Ereca *atborea*

Les résultats de L'effet antibactérien des extraits d'*Acanthe mollis* sont illustrés dans la (f**igure 61)**.



	s.aureus	s.epidemis	b.subtilis	S.typhi	P.aero	E.coli	Asp
E.E	17,8	21,4	22,4	0	0	0	21,6
E.AQ	15	0	16	16,3	19,4	17	16
E.E.R	21,6	20	14	0	0	0	0
E.AQ.R	36,3	38,4	0	23,9	41,1	15	0

Figure 61 : Activité antibactérienne des extraits d'*Acanthe mollis* exprimée par les diamètres des zones en mm.

Les extraits d'*Acanthe mollis* ont révélé une activité inhibitrice sur la majorité des souches testés. On observe que les feuilles d'*acanthe* ont donné une activité inhibitrice importante sur les souches de *staphylococcus aureus*, *staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilus*, *salmonella typhimirium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et aussi la souche fongique *aspergillus brasilensis* avec des diamètres de 17.8, 27.2, 22.4, 16.3, 19.4, 17 et 21.6 mm respectivement. Alors que, les extraits des Racines d'*Acanthe* ont marqué un effet inhibiteur sur cinq souches (*staphylococcus aureus*, *staphylococcus epidermidis*, salmonella *typhimirium*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*) avec des zones de diamètres varié entre 11.9 mm et 41.1 mm.

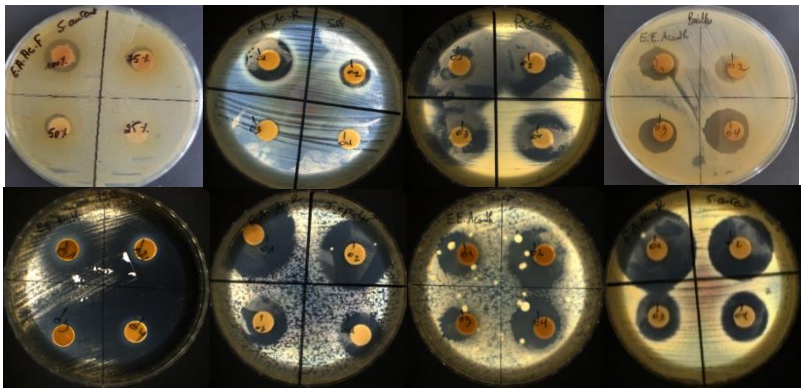


Figure 62 : Résultat de l'effet antibactérien des entraits d'Acanthe *mollis*.

III.2.2.3.Effet synergique

A. Etudes de l'association entre les extraits des plantes

Basé sur les résultats de l'activité antimicrobienne de nos extraits et pour augmenter la sensibilité des micro-organismes aux extraits étudiés. Il a été proposé d'utiliser l'association entre ces derniers.

- ✓ **Associations des extraits de différentes parties d'une plante**

Association des extraits de *Myrtus communis* .

Les résultats de l'association des extraits de *Myrtus comminus* sont présentés dans la **figure 63**.:

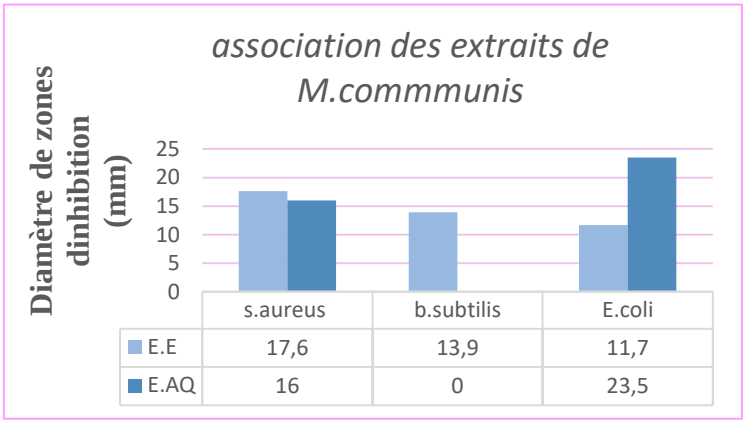


Figure 63 : Association des extraits de *myrtus communis* exprimée par les diamètres des zones en mm.

Concernant la souche *S.aureus*, on remarque que la somme des effets individuelle de chaque extrait est supérieure à celui de la combinaison à cause de la présence du **« phénomène d'Antagonisme »**. Tandis que, l'extrait aqueux contre la souche *E.coli* a révélé que la combinaison est supérieure à la somme des effets individuelle. Ceci est dû à l' **« Effet synergique ».**

A. Association des extraits d'*erica arborea*

Les résultats de l'association des extraits d'*erica arborea* sont présentés dans la (**Figure 64).**

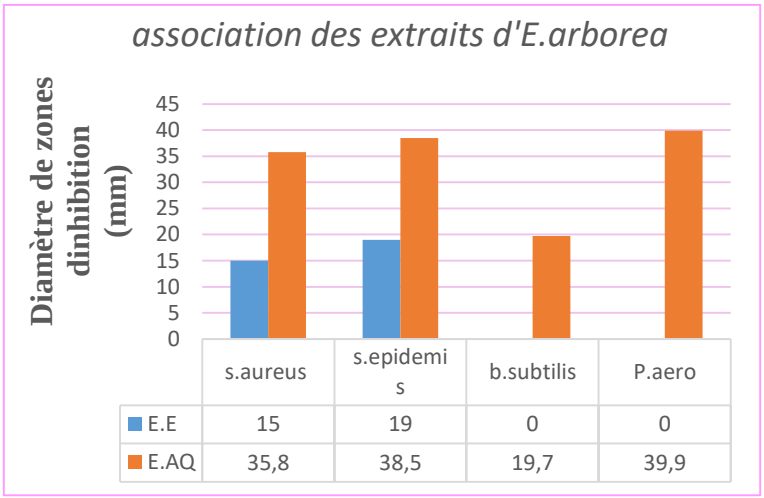


Figure 64 : Association des extraits d'*Erica arborea* exprimée par les diamètres des Zones en mm.

Les résultats de la combinaison des extraits d'*Erica arborea* « feuille avec fleur » montre que : l'effet antimicrobien de la combinaison des extraits éthanoliques est inférieur à la somme des effets individuelles, on constate alors qu'il n y'a pas d'interaction positive entre eux. **« Phénomène Antagonisme ».**

Les résultats de la combinaison des extraits aqueux signifient qu'il ya une synergie entre ces derniers **« Effet synergique »** (l'effet antimicrobien de la combinaison des extraits est supérieur à la somme des effets individuelles)

B.Association des extraits d'*acanthe mollis*.

Les résultats de l'association des extraits d'*Acanthe mollis* sont présentés dans la **(Figure 65).**

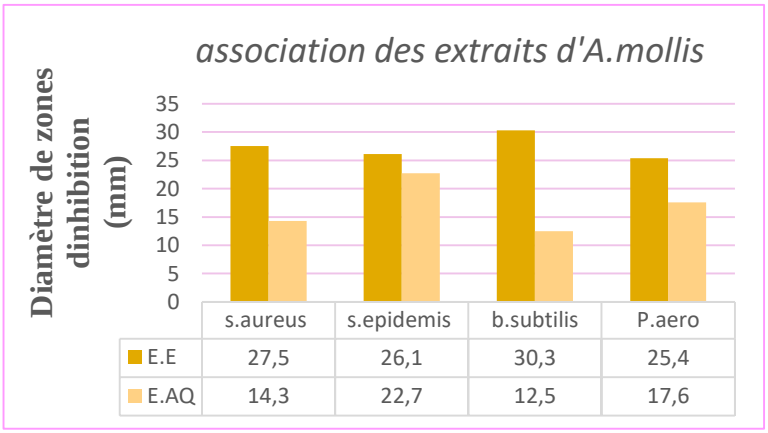


Figure 65 : Association des extraits d'acanthe mollis exprimée par les diamètres des zones en mm.

Les résultats de l'effet antimicrobien de la combinaison entre les extraits d'*Achante Mollis* montrent la présence d'interaction entre les différents extraits ethanolique, sachant que, l'effet combiné de deux extraits est égal à la somme des effets de chaque extrait pris individuellement (aucune interaction directe) **« Phénomène d'effet additif ».**

Pour les extraits aqueux, on remarque la présence d'une interaction entre les deux extraits contre la souche *P.aeruginosa* ou le résultat est supérieurs à la somme des effets individuelles **« effet synergique ».**

- ✓ **Associations des extraits de différentes plantes**

A. Association des extraits de *Melisse officinalis et myrtus communis*

Les résultats de l'association des extraits de *Melisse officinalis et myrtus communis* sont présentés dans la **Figure 66.**

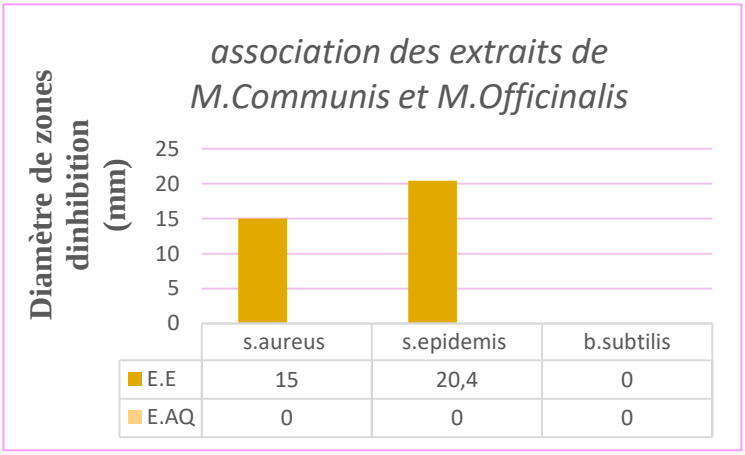


Figure 66 : Association des extraits de Melisse officinalis et myrtus communis exprimée par les diamètres des zones en mm.

Ces résultats montrent que le diamètre de la zone inhibitrice de l'extrait de combinaison entre *M.communis* et *M.officinalis* est inférieur à celui des plantes testées séparément **« Phénomène d'antagonisme ».** Cela indique que les composés d'une plante inhibent l'activité de la deuxième.

B. Association des extraits d'*Acanthe mollis* et *myrtus communis*

Les résultats de l'association des extraits d'*Acanthe mollis* et *myrtus communis* sont présentés dans la (**Figure 67)**

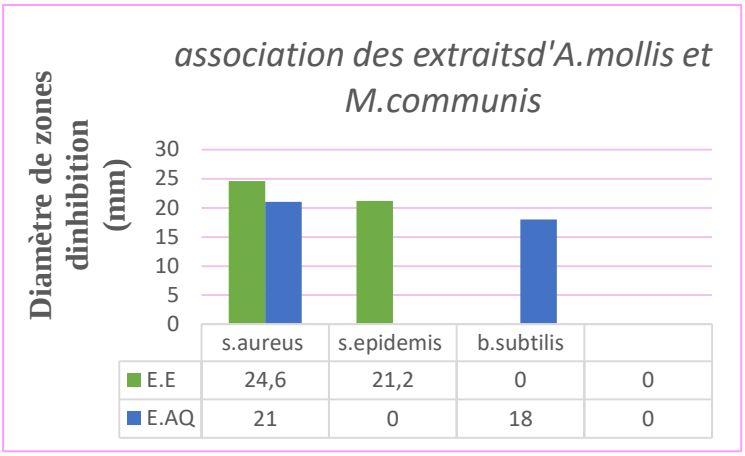


Figure 67 : Association des extraits d'*Acanthe mollis* et *Myrtus communis* exprimée par les diamètres des zones en mm.

On observe que l'association entre les extraits de *l'A.mollis* et *M.communis* n'a pas donné d'interaction positive entre eux. **« Phénomène d'antagonisme ».**

C. Association des extraits d'*erica arborea* et *myrtus communis*

Les résultats de l'association des extraits d'*erica arborea* et *myrtus communis* sont présentés dans la (**Figure 68)**

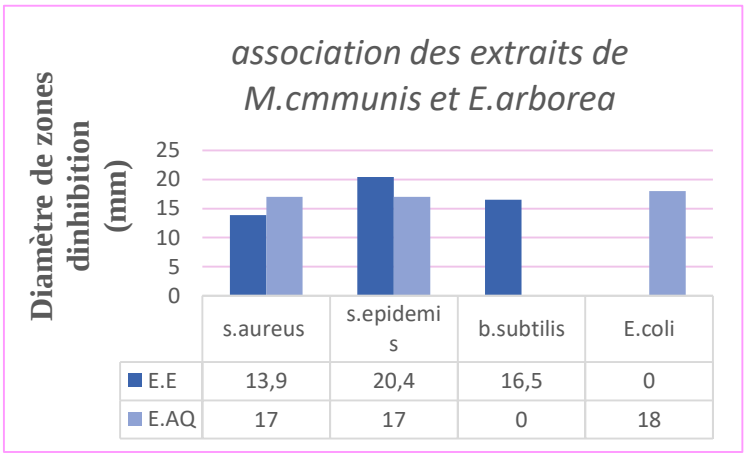


Figure 68 : Association des extraits d'*erica arborea* et *myrtus communis* exprimée par les diamètres des zones en mm.

Dans cette association entre *M.communis* et *E.arborea* on a marqué deux types de

phénomène :

Un phénomène d'antagonisme pour les extraits éthanolique **et un effet synergique** pour les extraits aqueux. Les souches *E .coli* et *S.epidermidis* ont été résistantes aux extraits seuls, alors qu'elles sont devenues sensibles au produit de la combinaison.

D. Association des extraits d'*Acanthe mollis* et *Melisse officinalis*

Les résultats de l'association des extraits d'*Acanthe mollis* et *Melisse officinalis* sont présentés dans la (**Figure 69).**

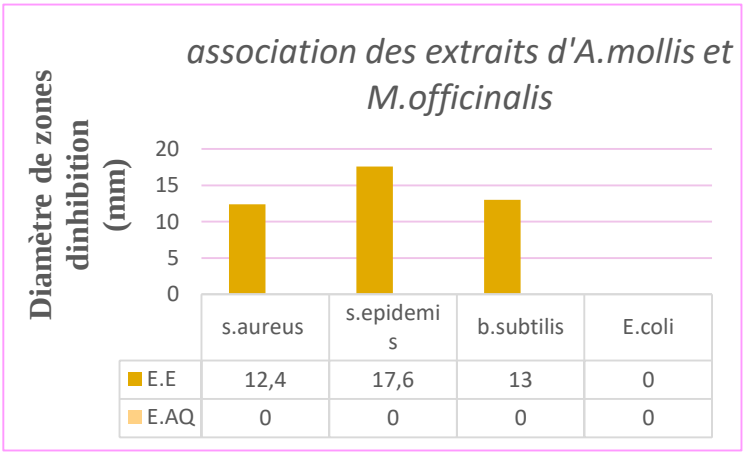


Figure 69 : Association des extraits d*'Acanthe mollis* et *Melisse officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm.

Les résultats de l'effet antimicrobien de cette combinaison ont révélé l'absence d'interaction entre *A.mollis* et M .*officinalis* **« phénomène de antagonisme ».**

E. Association des extraits d'*erica arborea* et *melisse officinalis*

Les résultats de l'association des extraits d'*erica arborea* et *melisse officinalis* sont présentés dans la (**Figure 70).**

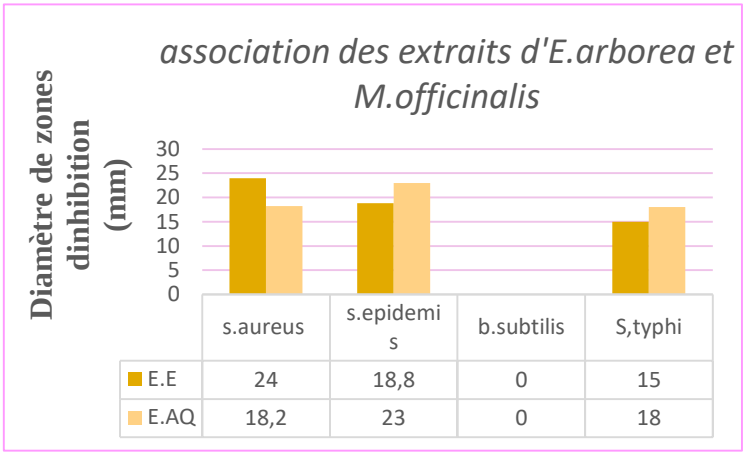


Figure 70 : Association des extraits d'*Erica Arborea* et *Melisse officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm.

L'effet de l'association des extraits aqueux d'*erica arborea* et *Melisse offcinalise* contre *S.epidermidis* est déclaré plus efficace que celui des extraits testés séparément pour l'extrait aqueux **« effet synergique »**

F. Association des extraits d'*erica arborea* et *acanthe mollis*

Les résultats de l'association des extraits d'*erica arborea* et *acanthe mollis* sont présentés dans la (**Figure 71)**

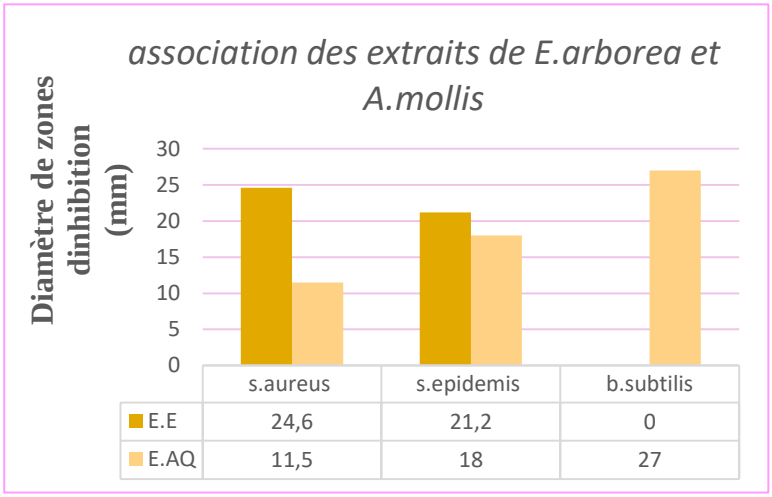


Figure 71 : Association des extraits d'*erica arborea* et *acanthe mollis* exprimée par les diamètres des zones en mm.

L'association entre les extraits *A.mollis* et *E.arborea* montre l'absence d'interaction positive entre eux **« phénomène d'antagonisme ».**

La *S.epidermidis* résistante aux extraits seules est devenue sensible au produit de la combinaison de ces derniers « **effet synergique** »

III.2.3.Activité Anti-inflammatoire *in vivo*

Lors de l'étude de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait ethanolique de *Melisse officinalis* et d'Acanthe *Mollis* contre l'inflammation induite par la carragéenine, les différences de volumes entre la patte gauche et la patte droite des animaux témoins et traités sont reportées dans le **(tableau 17).** L'injection sous plantaire de carragéenine au lot témoin entraine une augmentation significative du volume moyen de l'œdème de 1.51, 1.1, 0.49 et 0.24 ml respectivement à30min, 1h, 2h avec un maximum à 3h00. L'administration orale de médicament de référence le déclofenac réduit de façon significative l'augmentation du volume de la patte gauche avec un volume de 0.78, 0.49, 0.18 et 0.05 ml à 30min, 1h, 2h et 3h après l'injection de la carragéenine. Les extraits éthanoliques des deux plantes administrés par voie orale ont induit une diminution du volume de l'œdème par rapport au témoin à 30min, 1h, 2h et 3h, ce qui suggère que les deux plantes ont une action anti-inflammatoire.

Tableau 17: Effet anti inflammatoire d'*Acanthe mollis* et *Melissa officinalis*. Sur l'œdème induit par la carragéenine au niveau de la patte arrière chez la souris.

Groupes de traitement n=5	Variation de volume moyen de l'œdème (patte gauche-patte droite) induit par la carragéenine (ml)				
	T_0	T_{30min}	T_{1h}	T_{2h}	T_{3h}
Témoin	1.15±0.06	1.51±0.04	1.1±0.09	0.49±0.08	0.24±0.06
Lot 2 (déclofenac)	1.18±0.09	0.78±0.06	0.49±0.06	0.18±0.09	0.05±0.03
Lot 3 (EE-Ac.F)	1.17±0.06	1.43±0.1	0.73±0.08	0.27±0.06	0.11±0.07
Lot 4 (EE-Melisse)	1.10±0.01	1.56±0.08	0.86±0.06	0.42±0.08	0.14±0.04

Ces résultats sont rapportés dans la **figure 72** .

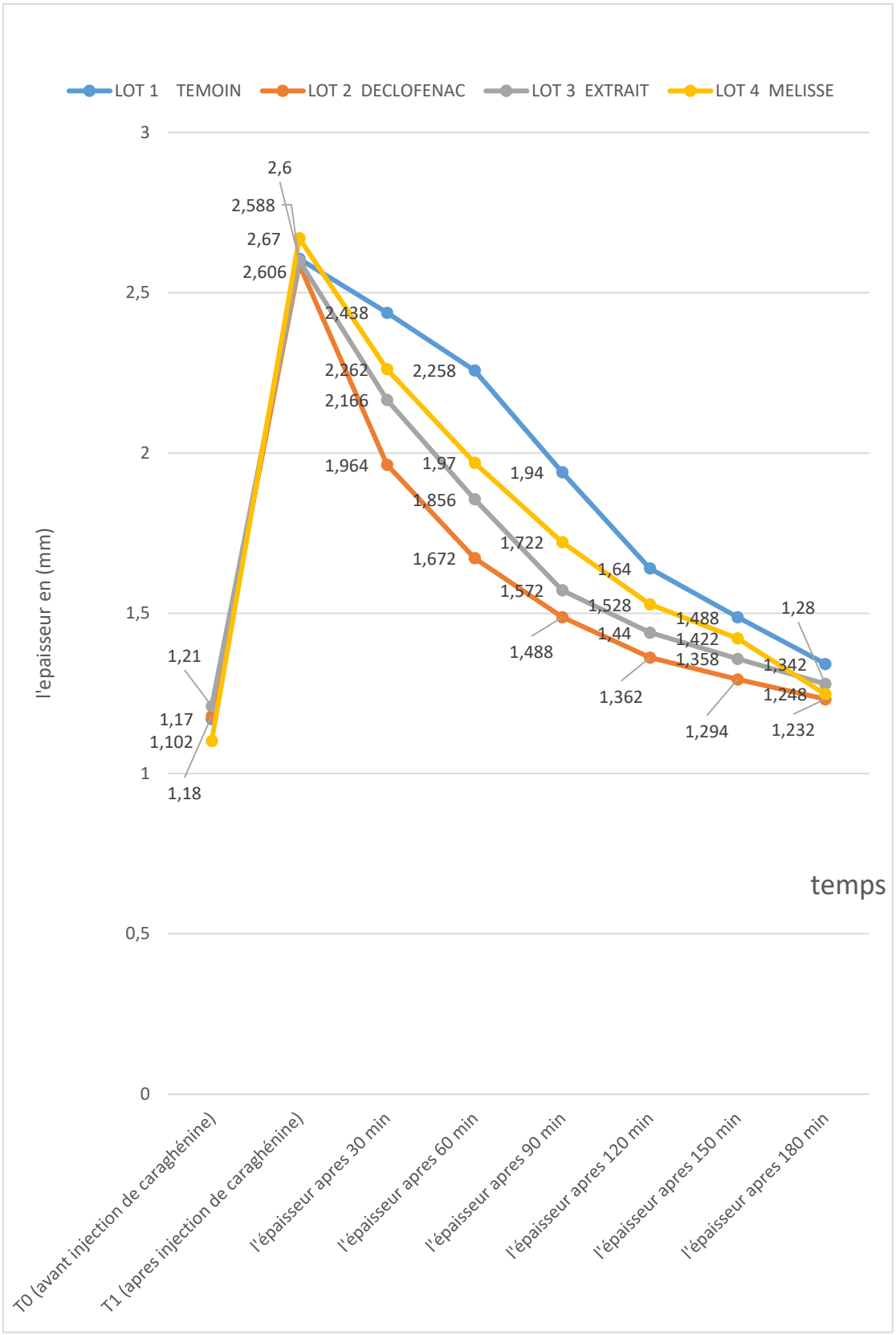


Figure 72 : Effet antiinflammatoire des extraits d'*Acanthe mollis* et *Melisse officinalis*.

Les pourcentages d'inhibition représentent la différence de volume moyen de l'œdème (patte gauche-patte droite) ± erreur standard moyenne (moyenne ± S.E.M) ; par rapport au témoin et

au médicament de référence (déclofenac). A 6h, chaque extrait des deux plantes étudiées (*Acanthe mollis* et *Melisse officinalis)* montre une inhibition importante allant de **54%** jusqu'au **41%** en comparant avec le produit de référence déclofenac qui inhibe la formation de l'œdème avec un pourcentage de **79%** (**figure 73**).

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que les extraits des deux plantes possèdent une activité anti-inflammatoire significative durant les trois phases de l'inflammation.

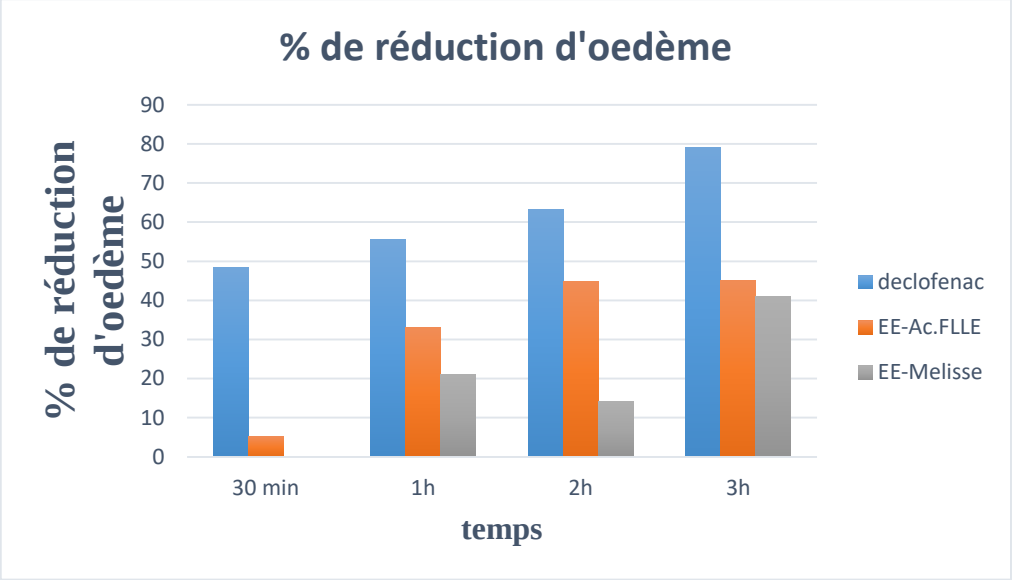


Figure 73 : Pourcentage d'inhibition du volume de patte postérieure gauche chez les rats prétraités par les extraits ethanoliques d'*Acanthe mollis* et *Melisse officinalis*

III.3. Détermination de la qualité microbiologique de produit

III.3.1 Dénombrement des germes aérobies totaux et levures et moisissures totaux

Résultats de la pommade : le résultat de la pommade est comparé avec les normes. **(Tabl 18).**

Tableau 18 : Résultats de qualité microbiologique de pommade

Teste	**Spécification**	**Résultat**
Qualité Microbiologique		
Germes aérobies viables totaux	< 100 UFC/g	**5 UFC/g**
Levure et moisissure totale	< 10 UFC/g	**1 UFC/g**
Staphylococcus aureus	Absence dans 1g	**Absent**
Pseudomonas Aeroginosa	Absence dans 1g	**Absent**

Les résultats indiquent que notre produit est conforme selon les normes de pharmacopée Européenne.

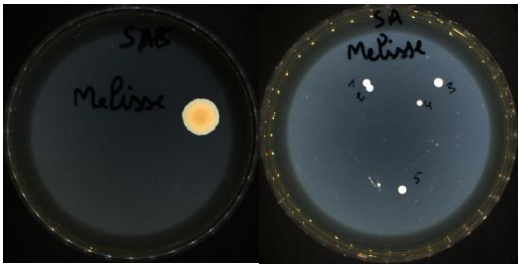


Figure 74 : Résultat de pommade

Résultat de gel : le résultat du gel est comparé avec les normes. **(Tableau 19).**

Tableau 19 : Résultats de qualité microbiologique de gel

Teste	**Spécification**	**Résultat**
Qualité Microbiologique		
Germe aérobies viables totaux	< 100 UFC/g	**1UFC / g**
Levure et moisissure totale	< 10 UFC/g	**0 UFC /g**
Staphylococcus aureus	Absence dans 1g	**Absent**
Pseudomonas Aeroginosa	Absence dans 1g	**Absent**

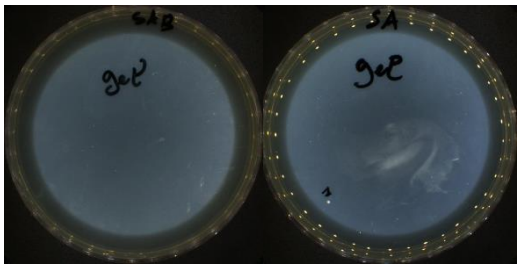


Figure 75 : Résultat de gel

Les résultats précédant indiquent que nos produits sont conformes selon les normes de pharmacopée Européenne.

Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir l'industrie, la médecine, la pharmacie et l'agriculture.
L'Algérienne est l'une des plus riches au monde et possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales et bon nombre d'entre elles sont des espèces endémiques. Elles constituent une ressource non négligeable en matière de molécules bioactives. Néanmoins, cette ressource reste peu exploitée que ce soit au niveau des études scientifiques ou au niveau économique. La région nord d'Algérie abrite plusieurs espèces endémiques et la plupart d'entre 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, s'inscrit dans le cadre de l'évaluation des activités antibactériennes de quatre plantes dans la région de Médéa, nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et activités biologiques (antioxydante, antibactérienne) ainsi que la détermination de la teneur en composé phénolique totaux des plantes sélectionnées.
Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux et flavonoïdes dans nos substrats végétaux en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu et la méthode d'**$AlCl_3$** révèlent leurs présences en quantités modérées
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'extrait **E.E.ER.FR** représente une meilleur valeur, donc cette *Erica Arborea* 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 ;;;, et les maladies cardiovasculaires. Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobien vis-à-vis 6 souche bactériennes et trois souches fongiques référencée, les résultats microbiologiques ont montré que les extraits de d'Erica Arborea et d'Acanthe mollis dont 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 ces plantes.
- ✓ 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 antioxydant.

Il serait alors très intéressant de compléter cette étude et d'encourager d'autres études complémentaires et approfondies, en utilisant d'autres méthodes d'extraction et d'analyse plus performantes ; qui permettent non seulement de quantifier mais de qualifier les composés phénoliques présents dans les différents extraits des plantes. De tester ensuite leurs efficacités sur d'autres activités biologiques et élucider leurs mécanismes d'actions.

Référence

Quezel, P ; et Santa, S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des regions désertiques Méridionale. Tome II Edition. CNRS. Paris. P 636- 637.

Barboni, T., (2006). Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, p26.

Sumbul S, **Ahmad M A**, **Asif M**, **Saud I and Akhtar M**, Evaluation of Myrtus communis Linn. berries (common myrtle) in experimental ulcer models in rats, Hum Exp Toxicol, 2010, 29(11), 935-944.

Mimica-Dukic N, **Bugarin D**, **Grbovic S, Mitic-Culafic D**, **Vukovic-Gacic B**, **Orcic D**, **Jovin E and Couladis M**, Essential oil of Myrtus communis L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents, Molecules, 2010, 15(4), 2759-2770.

Sabiha Sumbul1, M Aftab Ahmad, M Asif1 and **Mohd Akhtar**.Indian Journal of Natural Products and Resources Vol. 2(4), December 2011, pp. 395-402.

Baba Aissa F. (1999) Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident, Ed. Edas, 178 p**.**

Barboni T. (2006) Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse de doctorat. Université de Corse Pascal Paoli.

Quezel P, Santa S. Nouvelle flore de l'Algerie et des regions desertiques meridionales.Tomes 1 et 2. Paris : CNRS, 1962-1963.

Goetz, P., & **Ghedira**, K. (2012). Myrtus communis L.(Myrtaceae): Myrte. In Phytothérapie anti-infectieuse (pp. 313-320). Springer, Paris.

Naczk M. & Shaidi F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of

Chromatography, 1054: 095-111.

-**Christenhusz M.J.M et Byng. J.W., 2016**. The number of known plants species in the world and its annual increase. Phytotaxa. 261(3): 201–217.

-**Stevens PF, Luteyn J, Oliver EGH, Bell TL, Brown EA, Crowden RK, et al. In: Kubitzki K, editor. Ericaceae, the families and genera of vascular plants. Berlin: Springer-Verlag; 2004**. p. 145–94.

-**Suna S., Özcan-Sinir G., Tamer C. E., İncedayi B., Çopur, Ö. U., 2018**. Antioxidant capacity and physicochemical characteristics of carbonated Erica arborea tea beverage. Beverages, 4(3), 50.

-**Johari H, Jahromi HK (2015)** the effects of hydroalcoholic extract of Chicoree on atherosclerosis plaque formation of cardiovascular diseases in rabbit. Adv Environ Biol 9:319–25

-**Ait Youssef M., 2006**. Plantes Médicinales de Kabylie. Edition Ibis Press. Paris. Pp.37–38.

-**Akkol E K., Yesilada. E., et Guvenc. A., (2008).** Valuation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of Erica species native to Turkey. Journal of Ethnopharmacology. 116. 251–257.

-Guvenc A**., et Kendir G., (2012).** The leaf anatomy of some Erica taxa native to Turkey.Turk Journal Bot. 36. 253-262.

-**Brosse J., (2010).** Larousse des arbres : dictionnaire de 1600 arbres et arbustes : botanique, mythologies, histoire : pour tout savoir sur les espèces qui peuplent nos contrées. Larousse.

-**CHEVALIER A. (2008).** Note Sur Erica arborea et sur l'Emploi de ses Souches Pour la Fabrication des Pipes. Revue de Botanique Appliquée et d'Agriculture Coloniale, 74, 649-656.

-**Nazemiyeh .H. Bahadori .F. Delazar. A., Ay .M. Topcu.G. Kolak .U. Nahar .L. A. Auzie .A. ET Sarker .S.D. (2008).** Tricetin 4'-o-a-l- rhamnopyranoside: a new flavonoid from the

aerial parts of Erica arborea. Chemistry of Natural Compounds, Vol. 44, No. 2, 2008

-**Guvenc A., et Kendir G., (2011).** The leaf anatomy of some Erica taxa native to Turkey. Turk J Bot 36 (2012) : 253-262.

-**Amezouar F., Benaissa M., Hsaine M., Badri W., Bourhim N., et Fougrach N., (2010**).Contribution à la valorisation des ressources naturelles marocaines via une étude phytochimique et biologique des feuilles de la Bruyère arborescente (Erica arborea L.). Gestion Environnementale des Produits Chimiques Proceedings GEPROC4. 2. 1-10.

-Dupont F., Guignard J.L., 2007. Botanique : Systématique moléculaire. 14ème Edition Masson. Paris. France. 286 p.

-**Quézel P et Santa S., 1963**. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris. 603 p.

-**Yaici K., 2020**. Etude floristique et Ethnobotanique des plantes médicinales dans le Tell Sétifien (forêt de Tamntout, Beni Aziz), Essai de caractérisation biologique et pharmacopée de l'espèce *Erica arborea* L. Thèse de doctorat, Département Ecologie et Environnement, Univérsité Ferhat Abbas Sétif1, Algérie. 180p.

-HAMIM H., LUCIE MICHE B., AHMED DOUAIK C., MRABET R., **OUHAMMOU A., ROBIN D. and HAFIDI M. (2017).** Diversity of Fungal Assemblages in Roots of Ericaceae in Two Mediterranean Contrasting Ecosystems. *Académie des Sciences*, Elsevier Masson SAS, 1, 1-12.

-**Aubert G., (1978).** Relations entre le sol et cinq espèces d'Ericacées dans le Sud-est de la France. *Oecol Plant.*13. 253–269.

Bessah R et Benyoussef E.H., 2014. Essential oil composition of Erica arborea L. leaves from Algeria. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 17 (5): 931-935.

-**Zengin G., Cvetanović A., Gašićc U., Stupard A., Bulute G., Senkardese I., Dogane A.,**

Seebaluck-Sandoramf R., Rengasamyg K.R.R., Sinana K.I., Mahomoodallyf M.F., 2019. Chemical composition and bio-functional perspectives of Erica arborea L. extracts obtained by different extraction techniques: Innovative insights. Ind. Crop. Prod.142, 111843.

Cornara L., La Rocca A., Marsili S., Mariotti M.G., 2009. Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy). Journal of Ethnopharmacology. 125 (1) : 16-30.

Darias V., Martín-Herrera D., Abdala S., de la Fuente D., 2001. Plants Used in Urinary Pathologies in the Canary Islands. Pharmaceutical Biology. 39 (3): 170–180.

Benarba B., Belabid L., Righi K., Bekkar A.A., Melouissi M., Khaldi A., Hamimed A., 2015. Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). J. of Ethnopharmacol. 175: 626–637.

Eddaikra N., Boudjelal A., Sbabdji M.A., Eddaikra A., Boudrissa A.E.K., Bouhenna M.M., Chemat. S., Harrat Z., 2019. Leishmanicidal and Cytotoxic Activity of Algerian Medicinal Plants on Leishmania major and Leishmania infantum. J. Med. Microbiol. Infect. Dis. 7 (3): 66-71.

Meddour R., Meddour-Sahar O., 2015. Medicinal plants and their traditional uses in Kabylia (Tizi-Ouzou. Algeria). AJMAP. 1 (2) : 137-151.

RHATTAS M. (2016). Etude Ethnobotanique des Plantes Médicinales dans le Parc National de Talassemtane (Rif Occidental du Maroc). *Journal of Applied Biosciences,* **97,** 36-37.

DERBEL S. (2005). Les Phytonutriments et leur Impact sur la Santé. *Phytothérapie*, *3*(1), 28–34.

CHIKHI K. (2016). Bruyère Blanche : Vertus Therapuetiques Divers. *Phytothérapie*, 14, 57-60.

BENNANI M., JEAN FIETB H. et ADLOUNIA A. (2009). Impact des Huiles Essentielles sur le Cancer de la Prostate : Etude de l'Effet Antiproliférati f des Polyphènols.

Revue Francophone Des Laboratoires, 56 (2), 23-26.

AMEZOUAR F., BADRI W., HSEINE M., BOURHIM M. and FOUGRACH H. (2013). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Moroccan Erica arborea L. Pathology-Biology, 61(6), 254-258

Annex

Matériel et méthode

Annex I :

Tableau 01 :le matériel de laboratoire

Verreries et matériel en plastique	**Solvants**
- Pipettes	- Ethanol
- Micro pipette (1000 µl, 200 µl)	- L'eau distillée
- Tubes à essai	- Acide chlorhydrique(HCl)
- Flacons (250 ml)	- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Erlenmeyer	- chloroforme
- Béchers	- Chlorure de fer (FeCl3)
- Spatule	- Hydroxyde l'ammonium (NH4OH)
- Para film	- Acide sulfurique **(**H2SO4)
- Tube en plastiques citratés	- Folin-Ciocalteu
- Eprouvette graduées	- Acide gallique
-Papier filtre (0.45µm).	-Aide ascorbique
- Burette graduée	- Carbonate de sodium (Na2CO3)
- Cuve en verre	- Acide sulfurique
- Tubes à essais	- Réactif de Dragendorff
- Embouts	-Réactif de Burchard
- Fioles	- Réactif de FCR (Folin- Ciocalteau)
- Tubes secs à bouchons	- Carbonate de Sodium
- Flacons en verre ambré	- Quercétine
- Papier film	- Potassium acétate
- Porte tube à essai	- Le chlorure d'aluminium
- Papier d'aluminium	-Limailles de Magnésium
- Entonnoir en verre	
- Compte-gouttes	
- Écoviont	

Annexe II : Appareillages de laboratoire



Balance



Ph mètre



Etuve



Centrifugeuse



Bain marie



Rotavepeur



Pied a colis



Doncitomètre



Bec benzèn



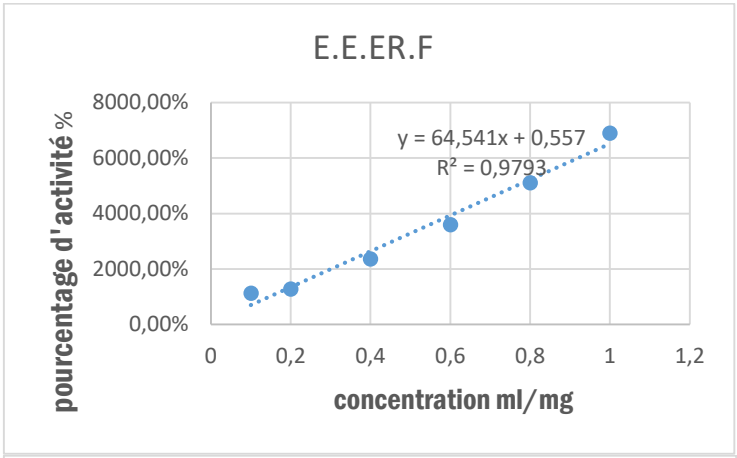
Agitateur

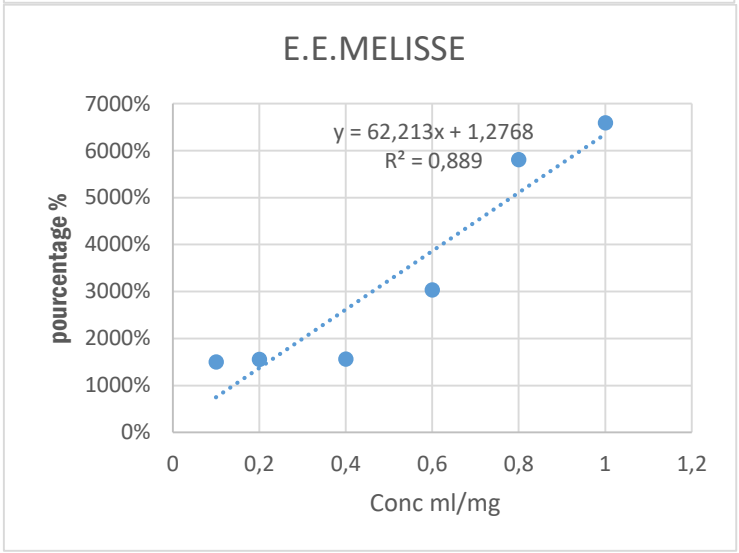
Figure 01 : appareillage de laboratoire

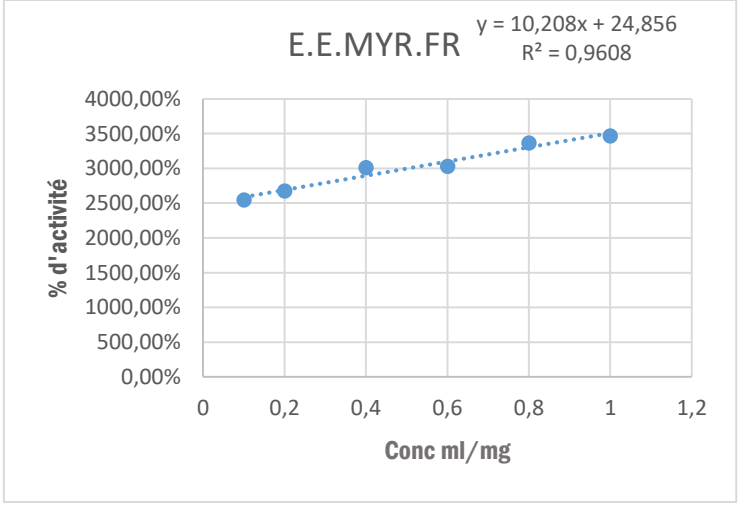
Résultat et discussion

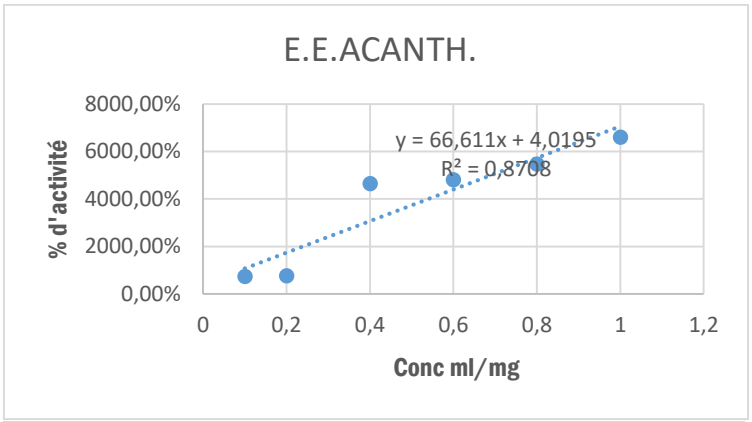
Annex III :

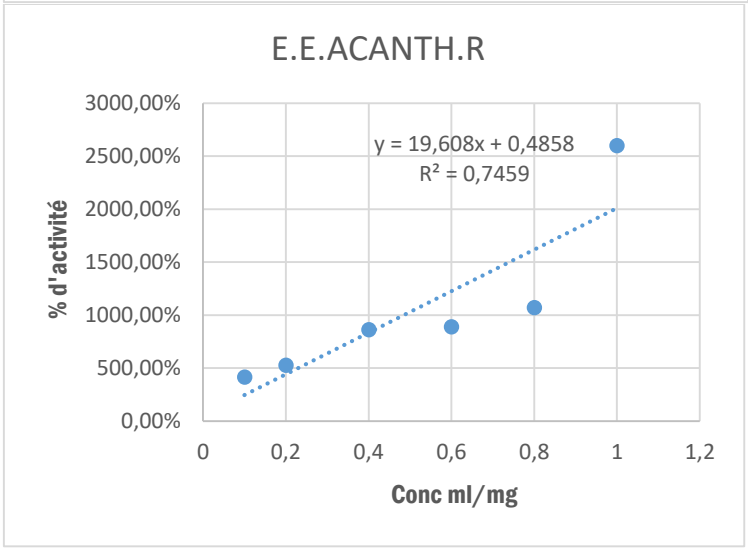
I- Activités antioxydant

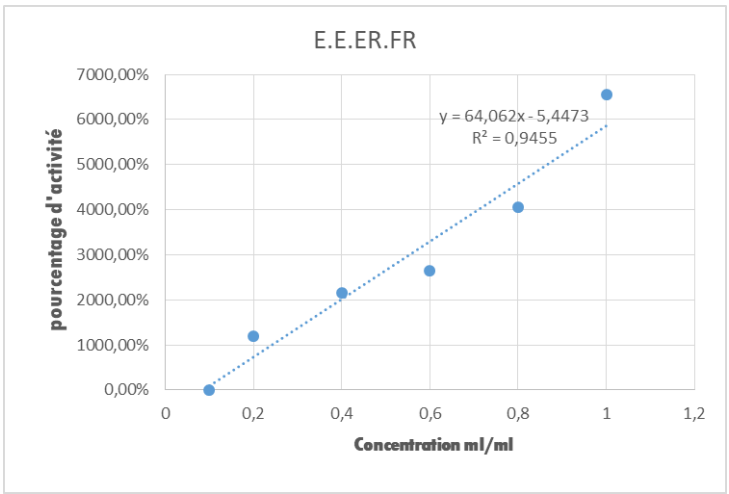


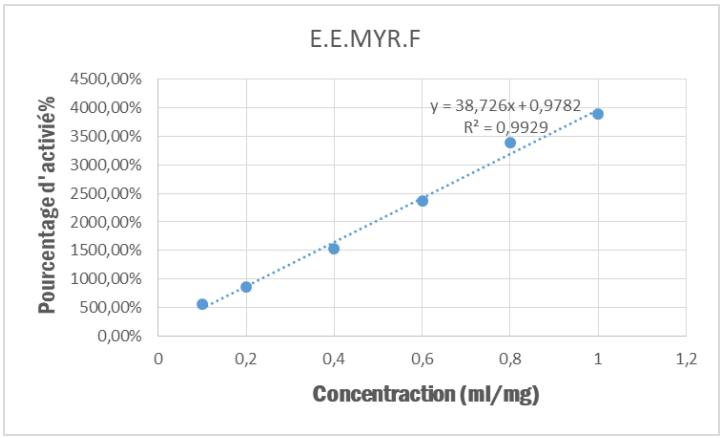





E.E.ACANTH.
8000,00%
6000,00%
4000,00%
2000,00%
0,00%
% d'activité
y = 66,611x + 4,0195
R² = 0,8708
0
0,2
0,4
0,6
0,8
1
1,2
Conc ml/mg


E.E.ACANTH.R
3000,00%
2500,00%
2000,00%
1500,00%
1000,00%
500,00%
0,00%
% d'activité
y = 19,608x + 0,4858
R² = 0,7459
0
0,2
0,4
0,6
0,8
1
1,2
Conc ml/mg


E.E.ER.FR
7000,00%
6000,00%
5000,00%
4000,00%
3000,00%
2000,00%
1000,00%
0,00%
pourcentage d'activité
y = 64,062x - 5,4473
R² = 0,9455
0
0,2
0,4
0,6
0,8
1
1,2
Concentration ml/ml



II- Effet antibacterienne

Tableau 01 : diamètre de *melisse officinalis*

Extraits / Souches	Solvant	Zone d'inhibition (mm)			
		Feuille			
		D1	**D2**	**D3**	**D4**
E.coli **ATCC12228**	ETH	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0
S.aureus **ATCC6538**	ETH	20	15	13	11.5
	AQU	0	0	12.9	16.9
S.typhimirium **ATCC14028**	ETH	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0
P.aeroginosa **ATCC9027**	ETH	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0
S.epidermidis **ATCC12228**	ETH	14	12.4	12	11
	AQU	0	0	0	0
B.subtilis **ATCC6633**	ETH	10.9	9.9	23	9.9
	AQU	27	22.4	17.2	17
C.albicans **ATCC10231**	ETH	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0
S.cerevisiae **ATCC9763**	ETH	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0
A.brasiliensis **ATCC16404**	ETH	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0

Tableau 02 : diamètre de *Erica arborea*

Extraits / Souches	Solvant	Zone d'inhibition (mm)							
		feuille				Fleur			
		D1	D2	D3	D4	D1	D2	D3	D4
E.coli **ATCC12228**	ETH	0	10.4	0	0	13.3	0	19	0
	AQU	0	0	0	0	19	16.8	0	0
S.aureus **ATCC6538**	ETH	39	32.2	16	0	18	16	13	0
	AQU	23	21	17	14	0	0	0	0
S.typhimirium **ATCC14028**	ETH	15.8	13.9	0	0	12.9	12.3	11	10
	AQU	12	11.9	11.5	11	12	0	0	0
P.aeroginosa **ATCC9027**	ETH	40	32	17	12.8	31.2	17.4	14	9.5
	AQU	0	0	0	0	0	0	0	0
S.epidermidis **ATCC12228**	ETH	33	29	14	12.2	19.8	16.8	29.4	28.2
	AQU	0	0	0	0	13.6	13	12.8	11
B.subtilis **ATCC6633**	ETH	26.4	24.9	10.8	10	26.4	24.9	10.8	10
	AQU	15.8	17.3	17	17	11.2	10.8	10.6	0
C.albicans **ATCC10231**	ETH	0	0	0	0	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0	0	0	0	0
S.cerevisiae **ATCC9763**	ETH	0	0	0	0	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0	0	0	0	0
A.brasiliensis **ATCC16404**	ETH	0	0	0	0	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0	0	0	0	0

Tableau 04 : diamètre de *acanthe mollis*

Extraits / Souches	Solvant	Zone d'inhibition (mm)							
		feuille				Racine			
		D1	D2	D3	D4	D1	D2	D3	D4
E.coli **ATCC12228**	ETH	0	0	0	0	0	0	0	0
	AQU	17	14	12	0	15	11.9	0	0
S.aureus **ATCC6538**	ETH	17.8	0	0	0	16.6	16	14	21.6
	AQU	15	11	10.6	0	36.3	29.7	23.3	22.6

S.typhimirium	ETH	0	0	0	0	0	0	0	0
ATCC14028	AQU	12.9	16.3	14.5	12.7	23.9	13.9	0	0
P.aeroginosa	ETH	0	0	0	0	0	0	0	0
ATCC9027	AQU	13.5	12.7	12.3	19.4	41.1	36.6	33.8	23.2
S.epidermidis	ETH	19.9	27.2	18.2	21.4	0	16	17	20
ATCC12228	AQU	0	0	0	0	38.4	32.7	21.7	20.4
B.subtilis	ETH	16.3	15.6	18	22.4	0	0	13	14
ATCC6633	AQU	16	13.9	12	9.8	0	0	0	0
C.albicans	ETH	0	0	0	0	0	0	0	0
ATCC10231	AQU	0	0	0	0	0	0	0	0
S.cerevisiae	ETH	0	0	0	0	0	0	0	0
ATCC9763	AQU	0	0	0	0	0	0	0	0
A.brasiliensis	ETH	21.6	21.2	19.7	0	0	0	0	0
ATCC16404	AQU	14.5	16	15.5	10.5	0	0	0	0

Effet synergique :

Tableau 05 : Association des extraits de myrtus communis exprimée par les diamètres des zones en mm.

Plantes / souches	Solvant	**Zone d'inhibition (mm)**			
		D1	D2	D3	D4
S.aureus	ETH	11.5	11.7	11.5	17.6
	AQU	16	14.5	12.2	10
E.coli	ETH	11.5	11.5	11.7	11.5
	AQU	19	23.5	0	0
B.subtilis	ETH	12.3	13.6	12	13.9
	AQU	0	0	0	0

Tableau 06: Association des extraits de erica arborea exprimée par les diamètres des zones en mm.

Plantes / Souches	Solvant	**Zone d'inhibition (mm)**			
		D1	D2	D3	D4
S.aureus	ETH	15	14.8	13.5	12

	AQU	35.8	26.2	28.9	35.3
S.epid	ETH	19	17	15	13
	AQU	38.5	30.4	18.9	14.5
P.aero	ETH	0	0	0	0
	AQU	39.9	36.2	27.6	26.1
B.subtilis	ETH	0	0	0	0
	AQU	19.7	18.5	14.5	14.3

Tableau 07 : Association des extraits d'acanthe mollis exprimée par les diamètres des zones en mm.

Plantes / souches	Solvant	**Zone d'inhibition (mm)**			
		D1	D2	D3	D4
S.aureus	ETH	27.5	23.1	20.2	24.6
	AQU	14.3	0	11.4	11.3
S.epid	ETH	26.1	21.1	12	22.6
	AQU	11.5	11.7	11.5	22.7
P.aero	ETH	25.4	22.1	14.9	23
	AQU	11.7	11.9	11.9	17.6
B.subtilis	ETH	30.3	29.6	20.2	28.4
	AQU	12.2	12.5	12.5	12.2

Tableau 08 : Association des extraits de Melisse officinalis et myrtus feuille exprimée par les diamètres des zones en mm.

Plantes / Souches	Solvant	**Zone d'inhibition (mm)**			
		D1	D2	D3	D4
S.aureus	ETH	15	0	0	0
	AQU	0	0	0	0
B.subtilis	ETH	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0
S.epid	ETH	20.4	16.8	16.8	14.2

	AQU	0	0	0	0

Tableau 09: Association des extraits de Acanthe mollis et myrtus communis exprimée par les diamètres des zones en mm.

Plantes / souches	Solvant	**Zone d'inhibition (mm)**			
		D1	D2	D3	D4
S.aureus	ETH	14.2	11.6	24.6	0
	AQU	17	16	21	0
B.subtilis	ETH	0	0	0	0
	AQU	17	17	18	15
S.epid	ETH	21.2	19.4	17.6	14.9
	AQU	0	0	0	0
	ETH	0	0	0	0

Tableau 10 : Association des extraits d'erica arborea et myrtus communis exprimée par les diamètres des zones en mm.

Plantes / Souches	Solvant				
		D1	D2	D3	D4
S.aureus	ETH	13.9	12.9	12	11.8
	AQU	17	14	14	0
B.subtilis	ETH	16.5	12.8	14.8	11
	AQU	0	0	0	0
S.epid	ETH	20.4	15.6	15.4	11.4
	AQU	16	17	17	14
E.coli	ETH	0	0	0	0
	AQU	18	11	0	0

Tableau 11: Association des extraits d'acanthe mollis et melisse officinalis exprimée par les diamètres des zones en mm.

Plantes / souches	Solvant				
		D1	D2	D3	D4
S.aureus	ETH	0	0	0	12.4
	AQU	0	0	0	0
B.subtilis	ETH	11.8	10	10.2	13

	AQU	0	0	0	0
S.epid	ETH	13.8	11.9	11	17.6
	AQU	0	0	0	0
E.coli	ETH	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0

Tableau 12 : Association des extraits d'erica arborea et melisse officinalis exprimée par les diamètres des zones en mm.

Plantes / souches	Solvant	**Zone d'inhibition (mm)**			
		D1	D2	D3	D4
S.aureus	ETH	15	24	13	10.5
	AQU	18	18.2	16.5	16.5
B.subtilis	ETH	0	0	0	0
	AQU	0	0	0	0
S.epid	ETH	18	18.8	16.4	16.2
	AQU	23	22	21	18
S.typhi	ETH	14.5	15	13.6	10.4
	AQU	18	16	15.5	0

Tableau 13 : Association des extraits d'erica arborea et acanthe mollis exprimée par les diamètres des zones en mm.

Plantes / souches	Solvant	**Zone d'inhibition (mm)**			
		D1	D2	D3	D4
S.aureus	ETH	14.2	11.6	24.6	0
	AQU	11.5	11	0	0
B.subtilis	ETH	0	0	0	0
	AQU	24	27	18	16
S.epid	ETH	21.2	19.4	17.6	14.9
	AQU	16	18	16	14

III. Activité anti inflammatoire

	LOT 1	LOT 2	LOT 3	LOT 4

	N de souris	poid (g)	T0 (avant injection de caraghénine)	T1 (apres injection de caraghénine)	l'épaisseur apres 30 min	l'épaisseur apres 60 min	l'épaisseur apres 90 min	l'épaisseur apres 120 min	l'épaisseur apres 150 min	l'épaisseur apres 180 min
LOT 1	S 1	18	1,08	2,66	2,43	2,21	2,01	1,81	1,63	1,48
	S 2	21	1,23	2,71	2,31	2,15	1,94	1,73	1,59	1,42
	S 3	19	1,15	2,63	2,39	2,23	2	1,82	1,66	1,47
TEMOIN	S 4	18	1,12	2,61	2,51	2,34	2,09	1,77	1,57	1,39
	S 5	22	1,21	2,73	2,55	2,31	2,11	1,74	1,55	1,41
	MOYENNE	19,6	1,158	2,668	2,438	2,248	2,03	1,774	1,6	1,434
	ECARTYPE	1,8166	0,0622	0,0512	0,0955	0,0769	0,0696	0,040373258	0,04472	0,0391
LOT 2	S 1	21	1,22	2,57	1,94	1,63	1,46	1,31	1,24	1,24
	S 2	19	1,11	2,51	1,97	1,66	1,51	1,4	1,25	1,16
	S 3	23	1,31	2,78	2,03	1,74	1,52	1,41	1,37	1,33
DECLOFENAC	S 4	18	1,07	2,47	1,87	1,62	1,43	1,33	1,29	1,17
	S 5	22	1,19	2,61	2,01	1,71	1,52	1,36	1,32	1,26
	MOYENNE	20,6	1,18	2,588	1,964	1,672	1,488	1,362	1,294	1,232
	ECARTYPE	2,0736	0,0943	0,1201	0,0631	0,05167	0,04087	0,04324	0,05320	0,0698
LOT 3	S 1	24	1,13	2,74	2,21	1,92	1,57	1,44	1,39	1,36
	S 2	21	1,28	2,63	2,19	1,95	1,64	1,51	1,42	1,31
	S 3	19	1,15	2,58	2,16	1,87	1,48	1,36	1,29	1,2
EXTRAIT	S 4	23	1,12	2,49	2,11	1,81	1,62	1,48	1,37	1,24
	S 5	22	1,17	2,56	2,16	1,73	1,55	1,41	1,32	1,29
	MOYENNE	21,8	1,17	2,6	2,166	1,856	1,572	1,44	1,358	1,28
	ECARTYPE	1,9235	0,0644	0,0930	0,03782	0,0882	0,0630	0,0587	0,0526	0,0620
LOT 3	S 1	19	1,09	2,64	2,31	2,01	1,69	1,57	1,43	1,26
	S 2	18	1,11	2,75	2,28	1,9	1,77	1,62	1,5	1,3
	S 3	21	1,13	2,77	2,36	2,08	1,8	1,44	1,33	1,21
Meli	S 4	19	1,08	2,51	2,14	1,86	1,71	1,53	1,46	1,25

sse	S 5	20	1,1	2,68	2,22	2	1,64	1,48	1,39	1,22
	MOYENNE	19,4	1,102	2,67	2,262	1,97	1,722	1,528	1,422	1,248
	ECARTYPE	1,1402	0,0192	0,1037	0,08497	0,0889	0,0638	0,0712	0,0653	0,0356

	TEMOIN	DECLOFENAC	EXTRAIT	MELISSE
poid (g)	19,6 ±1,8166	20,6 ± 2,0736	21,8 ± 1,9235	19,4 ± 1,1402
T0 (avant injection de caraghénine)	1,158 ± 0,0622	1,18 ± 0,0943	1,21 ± 0,0644	1,102 ± 0,0192
T1 (apres injection de caraghénine)	2,668 ± 0,0512	2,588 ± 0,1201	2,6 ± 0,0930	2,67 ± 0,1037
l'épaisseur apres 30 min	2,438 ± 0,0955	1,964 ± 0,0631	2,166 ± 0,03782	2,262 ± 0,08497
l'épaisseur apres 60 min	2,248 ± 0,0769	1,672 ± 0,05167	1,856 ± 0,0882	1,97 ± 0,0889
l'épaisseur apres 90 min	2,03 ± 0,0696	1,488 ± 0,04087	1,572 ± 0,0630	1,722 ± 0,0638
l'épaisseur apres 120 min	1,774 ± 0,04037	1,362 ± 0,04324	1,44 ± 0,0587	1,528 ± 0,0712
l'épaisseur apres 150 min	1,6 ± 0,04472	1,294 ± 0,05320	1,358 ± 0,0526	1,422 ± 0,0653
l'épaisseur apres 180 min	1,434 ± 0,0391	1,232 ± 0,0698	1,28 ± 0,0620	1,248 ± 0,0356