

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE des Sciences
DEPARTEMENT des sciences de la
Nature et de la Vie
N°.....



DOMAINE : Sciences de la Nature et de
la Vie
FILIERE : Biotechnologie
OPTION : Biotechnologie Végétale

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par :

ARIOUA Aicha, AZZOUZ Radhia et BOUDJELLAL Khawla

Intitulé :

**Phytochimie et évaluation des activités
biologiques des extraits bioactifs de
quelques plantes médicinales**

Soutenu le 14.06.2022 devant le jury composé de :

Pr. SARRI Madani	Pr	Université de Msila	Président
Dr. BENDIF Hamdi	MCA	Université de Msila	Encadreur
Dr. BENSLAMA Abderrahim	MCA	Université de Msila	Examineur

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Car l'homme propose mais Dieu dispose. Seigneur, veille toujours diriger nos pas.

*Nos vifs remerciements à notre encadreur **Dr. BENDIF Hamdi** pour ces précieux conseils, ses orientations, pour son aide et pour la confiance qu'il nous a accordé.*

*Nous adressons tous nos remerciements au **Pr. SARI Madani** d'avoir acceptée d'assurer la présidence du jury de notre travail.*

*Nous remercions également **Dr. BENSLAMA Abderrahim** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous tenons à adresser notre très sincères remerciements à notre frère doctorant **DERBAK Larbi** qui nous a guidé et aidez-nous dans notre travail, merci énormément pour nous avoir participé par conseils respectifs de cette recherche et accordé votre temps, merci d'avoir été patient avec nous.*

*Nous tenons à remercier particulièrement madame **AKRIB Fadhila** Pour son aide durant toute la période de notre travaille dans le Laboratoire.*

Enfin, finalement merci à tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

Dédicace

*A laid de dieu "ALLAH" tout puissant
Qui ma trace le chemin de ma vie
J'ai pu réaliser ce travail.*

À MES TRÈS CHERS PARENTS SAID et AKILA

Aucune dédicace, ni remerciements ne sauraient exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec vous. Puisse Dieu, le tout puissant, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À MES CHERS ET ADORABLE FRÈRES ET SŒURS ET MA BELLE SŒUR

*Zine elaabidine et Mostafa elbachir
Nadia, Halima Saadia, Fatima Zahra et Djahida*

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès. Que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

À MES CHERS PETITS NIÈCES ET NEVEUX :

Assma , Aya, Amira, Zina et Ahmed

Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

À la mémoire de regretté mes grands-parents Ahmed et Mohammed, et ma grand-mère Saadia, ceux que je n'oublierai jamais

Je prie Dieu le tout puissant de les accueillir dans son paradis.

À mon unique grand-mère Rbiha, que Dieu te donne longue vie incha'allah.

À mes tantes surtout Rabiaa et mes oncles surtout Lakhdar et Bachir

Je n'oublie pas de remercier également toute ma famille et tous mes amis et surtout à mes trinômes khawla et Rhadia.

À toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail à tous ceux que j'ai omis de citer.

Aicha

Dédicace

*Je dédie mes salutations, mes remerciements et ma reconnaissance
à mes très chers parents, qui trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien
tout au long de mes études.*

Je le dédie également à tous mes frères et sœurs

Abdel Jawad, Amer, Othman, Howayda

Fatima, Asma, Hiba et leurs maris

Avec un grand merci pour l'amour et le soutien

*A ma compagne et ma chérie **Khayra** et mon amie **Aicha** , **Radhia** et **Ibtissem***

Et à tous les amis a ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour.

Khaoula

Dédicace

A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce

Travail que je dédie :

*À mes chers parents **Lahoual Azzouz, Hadda Salah** qui ont sacrifié leur vie pour
Notre réussite. J'espère qu'un jour je pourrai leurs rendre unde ce qu'ils ont fait*

pour moi, que dieu leur prête Bonheur et longue vie

*À mes chères sœurs **Afef, Amel et Sara et Hadger, Halima.***

*Mes nièces **Chihabe etYouness***

*A mes chers frère **Walid et Moustapha Al Amine** Pour leur affection,
compréhension et patience.*

Les membres de ma famille paternelle et maternelle.

*A mes chères amies pour leur soutien : **Missoun, Zahra, Meryam, lamisse et***

Hiba, Sara, Lina, Safa, Ikram et Iman, Nour, Lamia,

*et surtout à mes trinômes **AICHA et KHAWLA***

Et toute la promotion de biotechnologie 2021/2022

Merci pour vos conseils, votre soutien, vos encouragements

Radhia

Résumé

Dans le cadre de la recherche de nouveaux composés antioxydants à partir de sources naturelles et de la contribution à la valorisation de certaines plantes médicinales en Algérie, nous avons concentrés notre étude phytochimique sur trois espèces de la flore algérienne pour but d'évaluer leur potentiel thérapeutique. Ces plantes appartiennent à trois familles différentes et qui sont *Physalis acutifolia* (Solanaceae), *Glebionis coronaria var. coronaria* (Asteraceae), *Ononis natrix ssp. Polyclada* (Fabaceae). Ce travail est divisé comme suit : l'obtention des extraits polaires à partir de ces trois plantes par macération avec un solvant organique (éthanol). L'analyse qualitative et expérimentale des extraits qui permis de mettre en évidence la présence de certains composés à savoir : les saponines, les tannins, les flavonoïdes, les triterpènes, les composé phénolique et les alcaloïdes...etc, dans les extraits des trois plantes étudiées avec des proportions variables. L'analyse quantitative à travers le processus de dosage a permis de montrer la quantité des phénols et des flavonoïdes dans les extraits des trois plantes comme suit, la teneur du type *Physalis acutifolia* égale à 50,166 mg EAG/g et 37,458 mg Qu E/g, respectivement, pour celle du type *Glebionis coronaria var. coronaria* égale 51,941mg EAG/g et 18,041mg Qu E/g respectivement, et pour l'extrait de la plante *Ononis angustissima subsp. Polyclada* cette teneur est estimée à 165,176mg EAG/g, et 25,791mg Qu E/g respectivement. Les tests de l'activité antioxydante *in vitro* et celle de l'activité antibactérienne montrent que tous les extraits étudiés présentent des propriétés antioxydantes et antibactériennes à différents niveaux, dépendantes du contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes présents dans les extraits.

Mots-clés : phytochimie, Extraits, *Physalis*, *Glebionis*, *Ononis*, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

As part of the search for new antioxidant compounds from natural sources and the contribution to the valorization of certain medicinal plants in Algeria, we have focused our phytochemical study on three species of the Algerian flora in order to evaluate their therapeutic potential. These plants belong to three different families, which are *Physalis acutifolia* (Solanaceae), *Glebionis coronaria var. coronaria* (Asteraceae), *Ononis natrix ssp. Polyclada* (Fabaceae). This work is divided as follows: Obtaining polar extracts from these three plants by maceration with an organic solvent (ethanol) The qualitative and experimental analysis of the extracts which made it possible to highlight the presence of certain compounds, namely: saponins, tannins, flavonoids, triterpenes, phenolic compounds and alkaloids...etc, in the extracts of the three plants studied with varying proportions. The quantitative analysis through the process of assay showed the amount of phenols and flavonoids in the extracts of the three plants as follows, the content of the *Physalis acutifolia* type equal to 50.166 mg EAG/g and 37.458 mg Qu E/g, respectively, for that of the *Glebionis coronaria var. coronaria* type equal to 51.941 mg EAG/g and 18.041mg Qu E/g respectively, and for the extract of the plant *Ononis angustissima subsp. Polyclada* this content is estimated at 165.176mg EAG/g, and 25.791mg Qu E/g respectively. In vitro antioxidant activity and antibacterial activity tests show that all the extracts studied have antioxidant and antibacterial properties at different levels, depending on the content of total polyphenols and flavonoids present in the extracts.

Keywords: phytochemistry, extracts, *Physalis*, *Glebionis*, *Ononis*, antioxidant activity, antibacterial activity.

المخلص:

كجزء من البحث عن مركبات جديدة مضادة للأكسدة من مصادر طبيعية والمساهمة في تنمية بعض النباتات الطبية في الجزائر، ركزنا دراستنا الكيميائية النباتية على ثلاثة أنواع من النباتات الجزائرية من أجل تقييم إمكاناتها العلاجية. تنتمي هذه النباتات إلى ثلاث عائلات مختلفة، وهي: *Physalis acutifolia* (Solanaceae)، *Glebionis coronaria var. coronaria* (Asteraceae)، *Ononis natrix ssp. Polyclada* (Fabaceae). تضمنت الحصول على المستخلصات النباتية للأنواع الثلاثة عن طريق النقع باستخدام مذيب عضوي (الإيثانول)، إضافة إجراء فحص كيميائي نباتي لهذه المستخلصات لتحديد المركبات التي تشمل عليها هذه الأنواع الفلافونيدات، التانينات، المركبات الفينولية، القلويدات، الستيروول، التربينات وسابونيسيدات... الخ، في النباتات الثلاثة التي تمت دراستها بنسب متفاوتة. كما قمنا بدراسة كمية للتقدير الكمي للمجموعات الكيميائية الرئيسية المحتواة في المستخلصات، حيث تم تقدير كمية الفينولات الكلية عند النوع *Physalis acutifolia* يساوي 50.166 mg EAG / g وعند النوع *Glebionis coronaria var. coronaria* يساوي 51.941 mg EAG / g أما عند *Ononis angustissima* يقدر بـ 165.176 mg EAG / g كمية الفلافونيدات لدى الأنواع الثلاثة *Physalis acutifolia*، *Glebionis coronaria* و *Ononis angustissima* قدرت بـ 37,458 mg Qu E / g، 18,041 mg Qu E / g و 25,791 mg Qu E / g على الترتيب. كما أظهرت تقنيات المخبرية المستعملة للكشف عن النشاط المضاد للأكسدة أن الأنواع الثلاثة تمتلك هذه الخاصية لكن بقيم مختلفة وهذا راجع لاختلاف المحتوى الكمي من الفينولات والفلافونيدات الموجودة في المستخلصات.

الكلمات المفتاحية: دراسة فيتوكيميائية، مستخلصات *Physalis acutifolia*، *Ononis angustissima*، *Glebionis coronaria var. coronaria* نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا

Sommaire

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé (Français, Anglais, Arabe)

Sommaire

Liste des figures

Listes des tableaux

Listes des abréviations

Introduction générale01

Chapitre I : Revue Bibliographique

I. Plantes médicinales et phytothérapie.....04

1. Généralités sur les plantes médicinales.....04

2. Phytothérapie et métabolites secondaires.....04

3. Aperçu sur l'utilisation des plantes médicinales.....09

II. Plante médicinale étudiée

1. *Physalis acutifolia* (Solanaceae)

1.1. Généralités sur la famille des Solanaceae.....10

1.2. Généralités sur le genre *Physalis* 10

1.3. La plante médicinale *Physalis acutifolia*

1.3.1 Description botanique11

1.3.2. Habitat et distribution géographique11

1.3.3. Utilisation en médecine traditionnelle.....13

1.3.4. Travaux antérieurs et usages thérapeutiques13

2. *Glebionis coronaria var. coronaria* (Asteracée)

2.1. Généralités sur la famille des Asteracée 13

2.2. Généralités sur le genre *Glebionis* 14

2.3. La plante médicinale *Glebionis coronaria var. coronaria* 14

2.3.1. Description botanique 14

2.3.2. Habitat et distribution géographique 15

2.3.3. Utilisation en médecine traditionnelle..... 16

2.3.4. Travaux antérieurs et usages thérapeutiques16

3. *Ononis angustissima subsp. polyclada* (*Ononis natrix subsp. polyclada*)

(Fabaceae)

3.1. Généralités sur la famille des Fabaceae.....	16
3.2. Généralités sur le genre <i>Ononis</i>	17
3.3. La plante médicinale <i>Ononis angustissima subsp. polyclada</i>	17
3.3.1. Description botanique	17
3.3.2. Habitat et distribution géographique	18
3.3.3. Utilisation en médecine traditionnelle.....	19
3.3.4. Travaux antérieurs et usages thérapeutiques	20

Chapitre II : MATERIELS ET METHODES

1. Matériel végétal.....	22
1.1. La récolte des plantes.....	22
1.2. Critères de sélection des plantes.....	24
1.3. Identification botanique.....	24
1.4. Préparation des échantillons.....	25
2. Criblage phytochimique.....	25
3. Préparation des extraits	28
Préparation des extraits bruts par macération.....	28
3.1. Extraction solide-liquide	28
3.2. Extraction liquide-liquide.....	28
4. Détermination du rendement d'extractions.....	30
5. Analyses chromatographiques par CCM.....	30
6. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie.....	31
6.1. Dosage des polyphénols totaux.....	32
6.2. Dosage des flavonoïdes.....	33
7. Activité antioxydante (Test DPPH) (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle).....	33
8. Evaluation des activités antimicrobiennes.....	34
9. Analyse des données	36

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Screening phytochimique.....	38
2. Rendement d'extractions.....	39
3. Analyses chromatographiques par CCM.....	41
4. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie.....	45
4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	45
4.2. Dosage des flavonoïdes.....	46
5. Activité antioxydante (Test DPPH) (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle).....	47
6. Activités antimicrobiennes.....	48

Conclusion generale et perspectives	51
--	----

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

N° Figure	Titre	Page
01	Structure chimique de quelques composés antimicrobiens des plantes	04
02	Squelette de base des flavonoïdes	07
03	Fèves Tonka	07
04	Structure chimique des principaux alcaloïdes de NS	08
05	Photos de certaines espèces de <i>Physalis</i>	11
06	Quelque photos de la plante médicinale <i>Glebionis coronaria</i>	15
07	Photo originale d' <i>Ononis angustissima</i> dans la région d'Ain Ben Naoui	18
08	Carte de répartition de la famille des Fabaceae (zone ombrée) à travers le monde	19
09	Localisation géographique de la wilaya de M'sila	22
10	Les parties aériennes de l'espèce <i>Physalis acutifolia</i> (Solanaceae)	23
11	Les parties aériennes de l'espèce <i>Glebionis coronaria</i> var. <i>coronaria</i> (Asteracée)	23
12	Les parties aériennes de l'espèce <i>Ononis angustissima polyclada</i> (Fabaceae)	24
13	Protocole de fractionnement par extraction liquide-liquide des extraits Bruts	29
14	histogramme présente les rendements en (%) des extractions pour les trois plantes	40
15	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	45
16	La courbe d'étalonnage de la quercétine	46
17	Représentation graphique aux Teneurs de polyphénols totaux et flavonoïdes pour les trois plantes étudiées	46
18	Courbe representele % d'inhibition du DPPH de standard Trolox en Fonction	47
19	Histogrammes exprimés IC50, illustrant l'activité antioxydante de Trolox des trois extraits éthanolique.	47
20	Résultats activité antimicrobienne des trois extraits bruts	49

Liste des tableaux

N° Tableau	Titre	Page
01	Taxonomie de <i>Physalis acutifolia</i> .	12
02	Localisation des stations d'observation de <i>P. acutifolia</i> dans la région de M'Sila.	12
03	Taxonomie de <i>Glebionis coronaria</i> .	15
04	Taxonomie de <i>Ononis angustissima</i> .	18
05	Systèmes de solvants (phase mobile) utilisés pour les 3 plantes (<i>Physalis</i> , <i>Glebionis</i> , <i>Ononis</i>).	31
06	Description et pouvoir pathogène des souches testées.	35
07	Résultats du screening phytochimique des plantes étudiées .	38
08	Le rendement de l'extraction pour les trois plantes.	40
09	Résultat de séparation des extraits de <i>Physalis</i> par CCM.	42
10	Résultat de séparation des différent extraits de <i>Glebionis</i> par CCM .	43
11	Résultat de séparation des extraits de <i>Ononis</i> par CCM.	44
12	Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tannins des trois plantes étudiées.	45
13	Résultat de l'antibacterienne des extraits.	49

Liste des abréviations

O.M.S : L'organisation mondiale de la santé

GFU: Global Facilitation Unit for Underutilized Species.

AlCl₃:Acide gallique

C₄H₁₀O : Butanol-1

FeCl₃ : Chlorure de fer +

HCl: Acide chlorhydrique concentré.

KOH :Hydroxyde de potassium

H₂SO₄:Acide sulfurique

Na₂CO₃:Carbonate de sodium

EtOH : Ethanol

C₂H₄O₂: Acide acétique

CHCl₃: Chloroforme.

AcET : Acétate d'ethyle

R%: Rendement.

UV : Ultra-violet.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

TCC: American type culture collection.

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

IC₅₀ :Concentration inhibitrice à 50%

EAG :Equivalent en Acide Gallique

EQ: Equivalent Quercétine

PI: Pourcentage d'inhibition

Introduction Générale

Introduction

Introduction

La nature est toujours un signe d'or pour montrer les phénomènes proéminents de la coexistence. Les produits naturels issus de plantes, d'animaux et de minéraux sont à la base du traitement des maladies humaines (**Firenzuoli et Gori, 2007**).

L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des maladies remonte à l'histoire de la vie humaine, c'est-à-dire que depuis que les êtres humains ont cherché un outil dans leur environnement pour se remettre d'une maladie, l'utilisation des plantes était leur seul choix de traitement (**Halberstein, 2005**).

Aujourd'hui, les plantes médicinales sont utilisées comme ressource médicale dans presque toutes les cultures. Garantir la sécurité, la qualité et l'efficacité des plantes médicinales et des médicaments à base de plantes est devenu très récemment un enjeu clé dans les pays industrialisés et en développement (**Jamshidi-Kia et al, 2018**).

En Algérie, pays très riche dans sa biodiversité florale, la médecine traditionnelle y a sa place malgré l'absence de complémentarité de la phytothérapie à la médecine. Botanistes, phytochimistes, pharmacologues et médecins sont appelés à conjuguer leurs connaissances scientifiques pour que la phytothérapie soit une discipline thérapeutique officielle comme c'est le cas dans plusieurs pays comme la Chine, la Turquie, etc (**Kabouche et al, 2005**).

En effet, l'action des plantes médicinales viennent de leurs métabolites primaires et secondaires, et sans doute, de la synergie entre les différents composés présents (**Reguieg, 2011**).

L'objectif général de ce travail est l'étude de la composition chimique et les propriétés antibactériennes et antioxydantes de trois plantes de la flore algérienne à savoir *Physalis acutifolia*, *Glebionis coronaria* et *Ononis angustissima*.

Les manipulations faites lors de ce travail sont :

- La préparation des extraits aqueux et organiques à partir des trois plantes étudiées.
- Le dosage spectrophotométrique des substances bioactives (composés phénoliques).
- L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits des plantes par la méthode de DPPH.

En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce manuscrit comporte trois parties.

La première partie, une revue bibliographique sur les plantes médicinales, et la description des espèces végétales utilisées dans ce travail. La deuxième partie, concerne le matériel

Introduction

et les méthodes utilisées, notamment l'extraction ainsi que l'analyse de la composition chimique, le fractionnement chromatographique, le dosage des polyphénols et des flavonoïdes ainsi que l'étude de leur activité antioxydante et l'évaluation de l'activité antibactérienne.

Les résultats obtenus, suivis de la discussion puis la conclusion et les perspectives feront l'objet de la troisième et quatrième partie respectivement. Les références bibliographiques constitueront la dernière partie du manuscrit.

Chapitre I

Revue bibliographique

I. Plantes médicinales et phytothérapie

1. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes qui contiennent dans l'un de ses divers organes une substance chimique efficace, avec une concentration faible ou élevée, qui les confèrent un effet médicinal ou physiologique (Al-Husseini, 1990). En effet, l'action des plantes médicinales viennent de leurs métabolites primaires et secondaires, et sans doute, de la synergie entre les différents composés présents (Reguieg, 2011). Ces métabolites ont une grande importance et jouent plusieurs rôles surtout dans la défense contre les parasites pathogènes. Ils sont classés en plusieurs groupes, le plus connu est celui des phénols qui regroupe les phénols simples, acides phénoliques, quinones, flavonoïdes, flavones, flavonols, tannins et les coumarines. Ainsi le groupe des alcaloïdes, et celui des terpénoïdes et polypeptides (toure, 2015). Selon l'O.M.S (organisation mondiale de la santé), les plantes se considèrent comme la première source de remèdes dans de nombreux pays peu développés, et l'organisation prépare d'ailleurs une gigantesque base de données afin de regrouper la totalité des principes phytochimiques découverts à ce jour (Djebali.H, 2013).

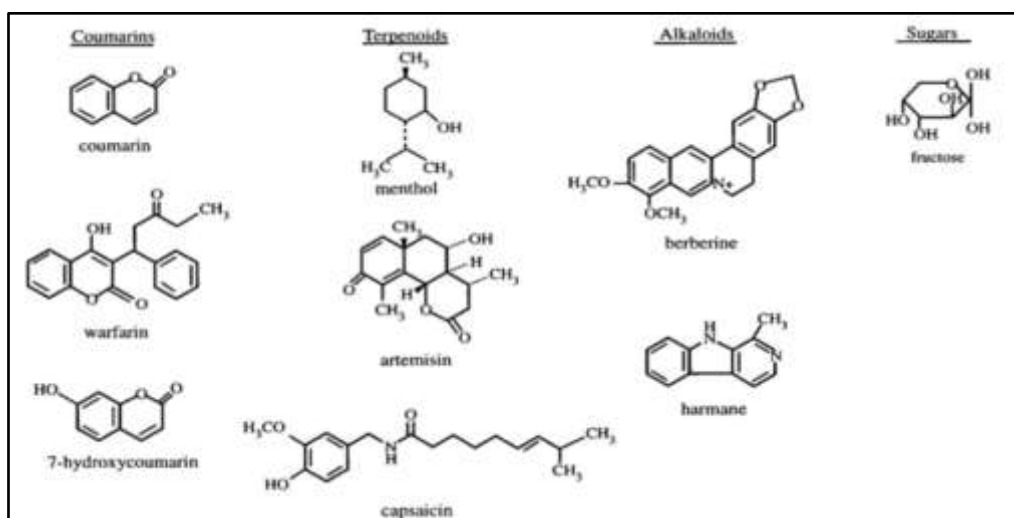


Figure01: Structure chimique de quelques composés antimicrobiens des plantes (Cowan, 1991).

2. Phytothérapie et métabolites secondaires

2.1. La phytothérapie

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs: phuton et therapeia qui signifient essentiellement « Soigner avec les plantes ». Elle est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales pour prévenir et traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états

pathologiques (**Gahbiche, 2009**). La plante peut être utilisée entièrement ou seulement par des parties ou de préparation à base de plantes, car ce n'est ni une thérapeutique spéciale ni une médecine alternative, mais juste elle fait partie intégrante du domaine thérapeutique (**Djebali, 2013**).

Depuis 1987, la phytothérapie est reconnue à part entière par l'Académie de médecine (2008), et elle se divise en deux types :

- La phytothérapie traditionnelle, elle est définie comme une thérapie alternative conçue pour traiter les symptômes d'une affection, ses origines peuvent être très anciennes. Elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement.

- La phytothérapie clinique, est une médecine de terrain où le patient précède la maladie. Une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Le mode d'action ici est basé sur un traitement au long cours agissant sur le système neuro-végétatif (**Chabrier, 2010**).

2.2. Métabolisme des végétaux

La plante est considérée comme le siège d'une activité métabolique aboutissant à la synthèse de composants bioactifs nommés, métabolites primaire et secondaire (**Hartmann, 2007**).

2.2.1. Métabolites primaires

Un métabolite primaire est un composant actif directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule. Ce sont des molécules présentes dans tout l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes, les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques (**Deffas et al, 2021**).

2.2.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des substances présentes chez un organisme et qui ne participent pas directement aux processus de base de la cellule vivante, ce sont des composés qui regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes. (**Bourgaud, 2013**). Ils se caractérisent généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux (**Djermane, 2014**).

Comme on a mentionné précédemment, il y a trois classes principales de métabolites secondaires chez les plantes et qui sont : les substances phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (**Raven et al., 2003**).

2.2.1. Les composés phénoliques

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hennebelle et al., 2004).

Les polyphénols sont les antioxydants les plus présents dans la nature et aussi dans nos assiettes. Ils permettent aux plantes de se défendre contre les phénomènes d'oxydation, certaines agressions extérieures et contre le pourrissement (Menat, 2006).

2.2.1.1. Acide phénolique

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (Thompsen et al., 1984). Les acides phénoliques sont rares dans la nature. Ce sont des dérivés du noyau benzénique issus de la décarboxylation de l'acide shikimique (Chira., et al 2008).

2.2.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétales supérieurs : racines, tiges, feuilles, pollen, grains, bois etc. (Williams et Grayer, 2004), ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux qui peuvent participer dans les processus photosynthèse comme transporteurs d'électrons (Ghestem et al., 2001).

Ils sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (Figure 02), ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques (De Souza., 2004).

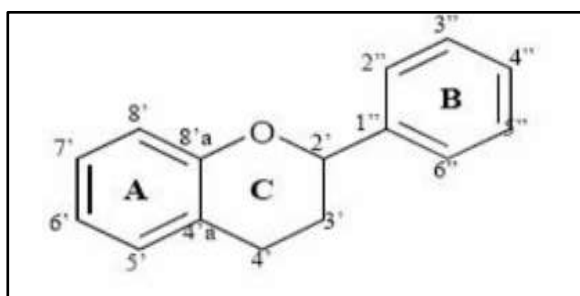


Figure 02 : Squelette de base des flavonoïdes (Korkina et Afanas'ev, 1997).

2.2.1.3. Les Tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques, hydrosolubles, ayant la propriété de tanner la peau, (**Bruneton, 1999**), ce sont des substances qui ont la propriété coaguler les albumines des muqueuses ou des tissus en créant une barrière isolante et protectrice (**Charpentier et al., 2004**). Les tanins sont plus abondants dans les dicotylédones que dans les monocotylédones (**Ferial,d et al 2021**), et ils sont localisés dans les feuilles, l'écorce et les fruits de nombreuse plantes, ainsi dans des cavités spéciales ou parfois dans des vacuoles (**Bate et al.,1962**).

2.2.1.4 Les coumarines (C6-C3)

Le nom coumarine tire son origine de « coumarou », nom vernaculaire de la fève Tonaka (coumarounaodorata) d'où fut isolée en 1820, les coumarines sont des composés phénoliques ayant un squelette de base en C6-C3. (**Zerrouki, 2009**). Les coumarines sont des composés phénoliques non volatils très répandues chez les végétaux, notamment dans les racines et les écorces. Ils sont dotés d'odeurs agréables, certaines servent en parfumerie ou pour aromatiser le tabac, d'autre sont très toxiques telles que les aflatoxines des champignons inférieurs (**Djermane, 2014**).



Figure 03 : Fèves Tonka (**Rezine et al., 2017**).

2.2.2 Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé d'origine naturelle (le plus souvent végétal), azoté plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué, à faible dose. (**Merghem, 2009**). Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine. L'intérêt qu'on leur porte reposait traditionnellement sur leur action physiologique et psychologique et particulièrement violente chez l'homme (**William, 2003**).

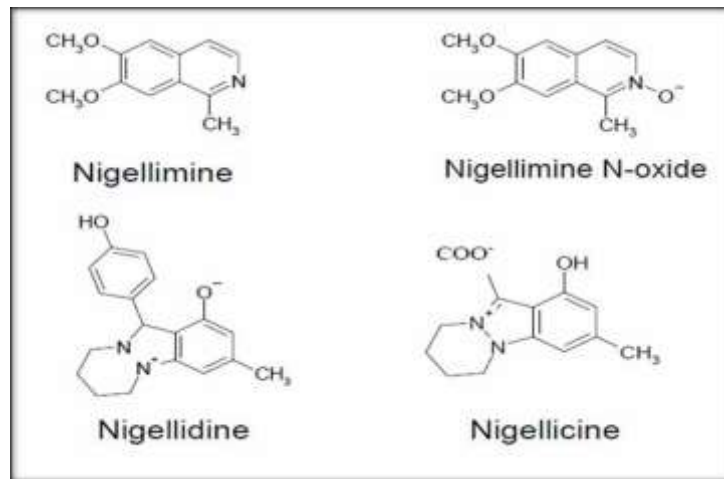


Figure04 : Structure chimique des principaux alcaloïdes de NS. (Atta-ur,1995).

2.2.3 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques (Iserin et al., 2007). Elles sont présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. (Padrini et lucheroni, 1996). Elles sont solubles dans : l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, lesémulsifiants et dans la pluparts des solvants organiques. Elles se caractérisent par :

- La densité est généralement inférieure à celle de l'eau.
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation.
- Elles sont liquides à température ambiante.
- Elles sont incolores ou de couleur jaune pale.
- Elles sont volatiles (Roux et Catier, 2007).

Les principales familles végétales susceptibles de donner des huiles essentielles sont: les Abiétacées, les Cupressacées, les Lamiacées, les Myrtacées, les Lauracées, les Rutacée, les Ericacées, les Asteracées, les Poacées et les Rosacées (Djermane,2014).

2.2.4 Saponosides

Le nom « saponine » est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie « savon », parce que les molécules de saponoside forment des solutions moussantes quand on les mélange avec de l'eau (Oleszek, 2002). Les saponosides sont des hétérosides de stéroïdes ou de triterpènes, ils sont très largement distribués dans les végétaux. (sapogénine) (Greenich, 1880). Les saponosides sont un vaste groupe de glycosides, largement distribués chez les plantes supérieures, leurs propriétés tensio-actives les distinguent des autres glycosides (Tyler et al., 1981).

3. Aperçu sur l'utilisation des plantes médicinales

L'utilisation des plantes médicinales était depuis longtemps, au passé les gens prennent ces plantes sous forme de tisanes ou de poudres, actuellement ils s'existent sous forme de gélules ou sous nombreuses formes (Jean, 2010). L'usage de plantes médicinales peut être perçu comme une alternative aux médicaments conventionnels (Niang et al., 2021). Ces plantes sont utilisées pour le traitement de plusieurs malaises tels que les toux, l'hypertension, les rhumatismes, les douleurs aux articulations, les diarrhées, la dysenterie, les problèmes d'estomac, le diabète, la migraine, les hémorroïdes, le paludisme, les morsures de serpent, les saignements, les convulsions, les vers, les douleurs menstruelles, la filariose, la gonorrhée, la stérilité, l'ovulation, l'épilepsie, et les maux les plus fréquemment traités sont les convulsions, les maladies vénériennes, les douleurs d'estomac et les maux de tête. (Jonathan et Rebecca., 1999). Par exemple, au plateau central marocain le traitement des infections et maladies touchant les voies respiratoires et les poumons se font à 76,40% par utilisation de plantes médicinales (El Hilal et al., 2015).

Aussi dans le domaine thérapeutique chez les animaux, ces plantes médicinales sont aussi utilisées, citons par exemple le Serpolet (*Thymus serpyllum* L.) qui est utilisé comme antiseptique, ou contre les entérites et les parasitoses des volailles (Jean-Yves, 2010).

II. Plantes Médicinales Etudiée

1. *Physalis acutifolia* (Solanaceae)

1.1 Généralités sur la famille des Solanaceae

La famille des Solanacées est l'une des plus grandes familles de plantes, avec près d'une centaine de genres comprenant plus de 2 500 espèces (**Olmstead, 2008**). Elles jouent un rôle important dans le monde végétal ainsi que dans la vie culturelle de l'homme (**Janet, 2001**). Cette famille a une grande importance économique et alimentaire dans le monde entier (**Samuels, 2009**), par exemple, seulement en 2010, 28 millions d'hectares de solanacées vivrières ont été cultivés dans le monde, produisant environ 540 millions de tonnes (FAO, 2012). Cependant, cela ne concerne que quatre espèces de cultures de base (pomme de terre, tomate, aubergine et poivrons) et ne prend pas en compte les autres espèces cultivées moins connues, qui sont nombreuses (GFU, 2014). Cette famille rassemble 147 genres et environ 2 900 espèces réparties dans les régions chaudes et tempérées, avec un important centre de dispersion en Amérique du Sud, d'où sont originaires les pommes de terre, les aubergines, les tomates, les piments (**Botineau, 2010**).

Les Solonaceae sont généralement divisées en 2 sous-familles : les Solanoideae et les Cestroideae. Les espèces de cette famille sont des plantes alimentaires, médicinales ou ornementales et beaucoup d'entre-elles sont nuisibles (**D'Arcy et Rakotozafy, 1994**).

1.2 Généralités sur le genre *Physalis*

Physalis est un genre important de la famille des Solanacées, créé par Linné en 1753, et contient environ 463 espèces, mais moins de 100 espèces sont bien connues et ont des noms aussi fantaisistes que l'amour en cage, la tomate balle, les baies dorées, la cerise de terre, pokpok, les tomates aux fraises, ou encore le coqueret pubescent (**El Sheikha, 2010**). Le genre *Physalis* comprend un certain nombre d'espèces comestibles et ornementales d'importance commerciale, sa haute valeur nutritionnelle et ses propriétés médicinales potentielles entraînent un intérêt commercial accru pour les produits de ce genre dans le monde entier (**Rebbas, 2018**).



Physalis ixocarpa Physalis alkekengi Physalis Peruviana

Figure 05 : Photos de certaines espèces de *Physalis* (El Sheikha, 2010).

1.3. La plante médicinale *Physalis acutifolia*

1.3.1. Description botanique

Physalis acutifolia (Miers) Sandw est une plante annuelle, avec tiges et branches étalées et ascendantes, pubescentes et légèrement pubescentes sur les bords et les nervures des feuilles, plus de nsessur les nouvelles pousses, les tiges atteignant 50 cm de long; poils atteignant 1 mm de long, non glanduleux. Feuilles elliptiques, souvent étroites, parfois lancéolées ou ovales, de 4-12,5 cm de long, de 1-5 cm de large, 1,8-6 fois plus longues que larges; base aiguë à acuminée souvent obliquement ainsi; apex aigu à acuminé; bords dentés à incisés ou dentés. Fleurs de 0,7-1,2 cm de long; pédoncule de 1,2-3 cm de long, habituellement environ 2-3 fois plus long que la fleur; calice de 0,3-0,5 cm de long, les lobes étant aussi longs que le tube; corolle blanc jaunâtre, parfois avec centre obscurci orange jaunâtre, 1-2,2 cm de large; anthères jaunes, 3-4 mm de long, environ 3-4 fois plus longues que larges. Le calice ovoïde, 1,2-2,3 cm de long, 1-2 cm de large, baie de 0,6-1,3 cm de diamètre; graines lenticulaires, 2-2.2 mm de large. Floraison et fructification, Juillet-Septembre (Landrum et al. 2013).

1.3.2. Habitat et distribution géographique

Le genre *Physalis* contient environ 100 espèces et qui sont distribués au niveau de la région tropicale est subtropicale dans le monde entier (Zhang et Tong, 2016). Ce genre contient plus de 90 espèces dont 35 dans la région de Mexique (Cuevas-Arias et al., 2008). *Physalis acutifolia* est originaire des États-Unis, de la Californie au Texas, et au nord du Mexique, où il peut être trouvé dans de nombreux types d'habitats, y compris les zones perturbées. Les plantes de *Physalis* sont aussi largement répandues dans toute l'Inde, la Chine et d'autres pays subtropicaux.

Tableau 01 : Taxonomie de *Physalis acutifolia* selon le site web (www.itis.gov):

Règne	Plante
Sous-Règne	Viridiplantae
Embranchement	Tracheophyte
Sous –embranchement	Spermatophytes
Class	Magnoliopsida
Order	Solanales
Famille	Solanaceae
Genre	<i>Physalis</i>
Espèce	<i>Acutifolia</i>

L'index de Dobignard & Chatelain (2010- 2013) a cité 5 espèces de *Physalis*: *P. alkekengi*L. et *P. viscosa* L. au Maroc, *P. angulata* L. en Mauritanie, Maroc, Egypte, *P. ixocarpa*Hornem. en Egypte, *P. peruviana*L. en Madère, Mauritanie, Maroc. En Algérie, Munby (1847) a signalé *Physalis somnifera* L., sur les décombres autour d'Alger, au cimetière des Juifs à Bab-el-Oued.

En parallèle, *Physalis acutifolia* était observée en Algérie dans 5 stations (localisées dans des champs de culture du piment (**Rebbas, 2018**)).

Tableau 02 : Localisation des stations d'observation de *P. acutifolia* dans la région de M'Sila.

Station	Altitude (m)	Date
Lamarate	380	18/08/2017
Saida	376	18/08/2017
Ouled Madi	361	18/08/2017
EL Beida	424	18/08/2017
Maaza	696	15/09/2017

1.3.3. Utilisation en médecine traditionnelle

La plante *Physalis* est utilisée pour le traitement des maladies rénales (surement pour la désintégration des calculs rénaux) et les maladies des voies urinaires et semblait important dans l'activation des fonctions hépatiques. Une décoction est employée dans le traitement des abcès, de la toux, des fièvres ou de la gorge endolorie (EL Sheikha Aly, 2010). Elle a été utilisée pendant des siècles dans la médecine traditionnelle indienne, Au Yémen, où il est connu sous le nom d'ubab, les feuilles séchées sont broyées en une poudre à partir de laquelle une pâte est fabriquée et utilisée pour les brûlures et les plaies (Rebbas, 2018)

1.3.4. Travaux antérieurs et usages thérapeutiques

Cette plante de *Physalis* est utilisée actuellement pour traiter le cancer, la leucémie, l'hépatite, elle a aussi des propriétés comme hépatoprotecteur, diurétique, anti-ulcère, anti-microbienne, anti-oxydante, anti-inflammatoire, une activité protectrice rénale (Jyothibasud et Venkata 2015). Aussi, l'isolement et la caractérisation de plusieurs withanolides bioactifs à partir de ces plantes ont été signalés (Ahmed et al., 1999). Ces molécules actives ont été classées sous le nom de *Physalines*, les investissements phytochimiques et pharmacologiques indiquent que ces withanolides sont le constituant chimique le plus dominant du genre *Physalis*, ainsi, qu'il est la substance biologique responsable des effets de cette plante (Li et al., 2018 ; Tuan et al., 2018 ; Gao et al., 2018). Elles sont utilisées pour traiter le cancer, la leucémie, l'hépatite, ayant des propriétés comme hépatoprotecteur, diurétique, anti-ulcère, anti-microbienne, anti-oxydante, anti-inflammatoire, une activité protectrice rénale. (EL Sheikha Aly, 2010)

2. *Glebionis coronaria* var. *coronaria* (Asteracée)

2.1. Généralités sur la famille des Asteracée

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. C'est la plus vaste famille des spermatophytes avec près de 17 tribus, 1000 genres et au moins 25 000 espèces répandues à travers le monde, C'est une des familles les plus importantes des Angiospermes (Crete, 1965), appartenant aux plantes dicotylédones. Elles sont principalement des plantes herbacées ou vivaces, mais aussi des arbustes ou sous arbrisseaux, parfois des arbres, rarement des plantes aquatiques ou des plantes grimpantes ou encore des épiphytes (Amokrane, 2019), cette famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques : le capitule (Gaussens et al., 1982), le fruit est un akène généralement surmonté d'un pappus provenant du calice.

2.2. Généralités sur le genre *Glebionis* (synonyme= *Chrysanthemum*)

Le genre *Chrysanthemum* appartient à la famille des composées (Astéracées), sous famille tubi flore et tribu anthémideae (Quezel et Santa, 1963). Le nom chrysanthème est une combinaison des deux mots grecs chrysos « or », et anthemon « fleur », qui veut dire fleur d'or (Quattrocchi, 1999). Ce genre *Chrysanthemum* comprend environ 300 espèces, distribuées dans deux centres principaux, l'un dans la région méditerranéenne, l'autre en Chine et au Japon (Lograda et al., 2013). À cause de ses propriétés ornementales et cosmopolites ce genre est largement répandu dans le monde entier. Ses espèces sont souvent cultivées dans les jardins pour leurs qualités décoratives en variétés de couleurs. En Algérie, il compte environ 20 espèces dont 8 sont endémiques (Quezel et Santa, 1963). Les Chrysanthèmes sont des plantes annuelles ou vivaces de 20 à 120 cm de haut, à tiges dressées. Les feuilles sont alternes, à marge dentée en scie ou parfois entière. Les capitules sont à fleurs centrales jaunes et agrandis et à fleurs ligulées jaunes, blanches, orangés ou pourprés. L'involucre de bractée possède des écailles à marge membraneuses très larges, à chaînes de deux sortes, les extrêmes différentes de celles du centre du capitule. Les fruits sont des akènes de 2-3 mm munis de 5-10 côtés (Gaussen et Leroy, 1982).

2.3. La plante médicinale *Glebionis coronaria* var. *coronaria*

2.3.1. Description botanique

Glebionis coronaria ou *Chrysanthemum coronarium* est une plante annuelle, de nom vernaculaire arabe « Mourara » ou « Rezaïma » et nom vernaculaire français « Chrysanthème des jardins » (Quezel et Santa, 1963). En effet Le *Chrysanthemum coronarium* (*Chrysanthème à couronne*) a été transféré dans le genre *Glebionis*, créé en 1826 par Alexandre de Cassini, devenu *Glebionis coronaria*, mais ce nom générique a été récemment revenu en utilisation après la conservation de *Chrysanthemum* (Flann et al., 2010). Elle croit principalement dans les terrains cultivés, les friches et elle est aussi commune dans le Tell, sa période de floraison est du mois de février jusqu'à le mois de Juin (Quezel et Santa, 1963). C'est une plante non visqueuse, à ligules entièrement ou seulement partiellement jaunes, avec un akène du rayon triquètres aux trois arêtes ailées ; ceux du disque ailé sur un côté. Les feuilles sont bipinnati partites, les inférieures pétiolées, les supérieures auriculées-embarassantes. La plante est glabre, puissante, à gros capitules avec des bractées de l'involucre largement scarieuses (Quezel et Santa, 1963). Deux variétés de cette plante sont distinguées, la première se caractérise par des fleurs uniformément jaunes et qui est la variété *coronarium* (Sell et Murrell, 2006), et la deuxième se diffère par des fleurs périphériques à ligules blanchâtres à base jaune et qui est la variété *discolor* (Beniston, 1984).



Figure 06 : Quelques photos de la plante médicinale *Glebionis coronaria* (Msanda,2016).

Tableau 03 : Taxonomie de *Glebionis coronaria* selon (Randhawa et Mukhopadhyay, 1986)

Règne	Plante
Sous-Règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Sous –embranchement	Angiospermae
Class	Dicotyledonae
Order	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Glebionis</i>
Espèce	<i>Coronaria</i>

2.3.2.Habitat et distribution géographique

Cette espèce est largement distribuée dans la région Méditerranéenne, l'ouest de l'Afrique et en Asie (Jaime et al., 2004). Les composées connaissent une distribution géographique mondiale à l'exception de l'Antarctique. Elles s'acclimatent bien aux régions tropicales et subtropicales semi-arides, à la toundra alpine et arctique et aux régions tempérées. Elles sont, en revanche, peu présentes dans la forêt tropicale (Macheix et al., 2005). En Algérie elle compte environ 109 genres et plus de 408 espèces (Quezel et al., 1962).

2.3.3. Utilisation en médecine traditionnelle

Le *Glebionis* est connu comme une plante efficace possédant de nombreuses vertus médicinales, son utilisation dans la médecine populaire était depuis longtemps. Parmi ses diverses propriétés, le chrysanthème est utilisé pour traiter les infections, les problèmes oculaires, pour les maux de tête et les rhumes, et abaisser la pression artérielle. Une infusion chaude de fleurs de *chrysanthème* peut être utile pour soulager la fatigue oculaire, une vision floue et les yeux secs. Les fleurs de thé chrysanthème étaient utilisées pour soulager le corps de l'accumulation de l'excès de toxines dans le sang (**Boutaghane, 2013**). Selon **Roberts** en **2000**, l'infusion des feuilles et des fleurs de *Glebionis coronaria* possède un pouvoir légèrement diurétique, elle est utilisée dans les cas de cystite et de rétention d'eau. Une macération à base de fleurs et de quelques feuilles a une action sur la peau grasse ainsi que sur les taches de la peau. En raison de ses propriétés toniques, cette plante est très utilisée en Chine. De par sa richesse en sels minéraux, acides aminés et vitamines A, D et E, il purifie le sang, les reins et pallie les effets du froid, comme cela a été confirmé par les travaux d'ALLIMUTHU et VENNILA (**Chooi, 2008**) en le décrivant comme antipyrétique. Ainsi d'après CHOOI (**Allimuthuet., 2005**), la décoction de cette plante est utilisée pour ses propriétés expectorantes des voies respiratoires et pour ses propriétés stomachiques en stimulant la digestion.

2.3.4. Travaux antérieurs et usages thérapeutiques

Glebionis coronaria a une grande importance, elle est utilisée dans plusieurs domaines, surtout dans l'industrie alimentaire dans les pays asiatiques, comme le Japon et la Chine, comme antioxydant, antibactérien et additif alimentaire antifongique (**Zheng et al., 2004**). Et dans le domaine médical en raison des composés qu'elle contient comme le potassium, beta carotène. Elle présente une activité antimicrobienne, antifongique, insecticide, et antioxydante en raison de la présence de camphor, des esquiterpénoides, de flavonoides et d'acides quiniques (**Evelyn, 2020**).

3. *Ononis angustissima* subsp. *polyclada* (*Ononis natrix* subsp. *Polyclada*)

(Fabaceae)

3.1. Généralités sur la famille des Fabaceae

La famille botanique des Fabaceae (de famba, la fève), représente la troisième famille d'angiospermes par le nombre, après les Astéracées et les orchidées (**Schneider & Huyghe, 2015**). Elle comporte plus de 19400 espèces et 730 genres. Cette famille est représentée par des

plantes herbacées, annuelles ou vivaces, lianes ou plantes volubiles, arbustes et même arbres, souvent de nodules racinaires fixateurs de l'azote atmosphérique grâce à une symbiose entre des bactéries du genre *Rhizobium* et différentes espèces de Légumineuses ou Fabaceae (Besbas, 2020), elle est distribuée à travers le monde dans de nombreux écosystèmes écologiques. Leur métabolisme dépendant de l'azote est considéré comme une adaptation aux variations climatiques et imprévisibles de l'habitat (Wojciecho et al., 2004).

Les fruits des Fabaceae présentent une large variabilité quant à la forme du fruit qu'elles produisent, communément appelé "gousses", il est charnu, plus ou moins allongé, le fruit dérive d'un seul carpelle. Les Fabaceae ont souvent une seule loge, uniloculaire (Schneide et Huyghe, 2015)

3.2. Généralités sur le genre *Ononis*

Le genre *Ononis* qui relève de la famille Fabaceae, est représenté par plus de 75 espèces. Ce genre est largement distribué en Europe, dans les îles de l'Atlantique, en Asie occidentale, en Afrique du Nord et dans la région méditerranéenne (Saliha, 2020).

En Algérie, les espèces principalement rencontrés sont :

O. angustissima, *O. cenisia*, *O. sicula*, *O. alba*, *O. crinita*, *O. rosea*, *O. viscosa*, *O. incisa*, *O. natrix*, *O. serotina*, *O. laxiflora*, *O. variegata* (A. Merzag, 2019).

3.3. La plante médicinale *Ononis angustissima* subsp. *polyclada*

3.3.1. Description botanique

Ononis angustissima est une plante rameuse à nombreuses tiges dressées bien verte. Elle peut atteindre 30 à 100 cm (Merzag, 2019). C'est une plante à fleurs jaunes, sur des pédoncules allongés et réunis en grappes lâches, folioles étroites presque linéaires peu ou pas dentées, petits buissons à tiges très ramifiées à la base, à rameaux persistants après la floraison et devenant un peu épineux (Bouheroum, 2007). Parmi les légumineuses une place particulière peut être accordée à l'espèce *Ononis angustissima* présente dans les dayas et les régions d'Ouargla, Ghardaïa, Biskra et Bechar D'avril à mai (nord de Sahara algérienne) (Khair et Zitouni, 2019).



Figure 07 : Photo originale d'*Ononis angustissima* dans la région d'Ain Ben Naoui(**Khair et Zitouni, 2019**).

Tableau 04 : Taxonomie d'*Ononis angustissima* selon (Bouheroum,2007).

Règne	Plante
Sous-Règne	-
Embranchement	Spermaphyte
Sous –embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Order	Rasale (Fabale)
Famille	Légumineoseae (Fabaceae)
Sous famille	Papilionacée
Tribus	Trifoleae
Genre	<i>Ononis</i>
Espèce	<i>Angustissima</i>

3.3.2.Habitat et distribution géographique

La famille Fabaceae accomode d'une très large gamme d'habitats. Ses espèces vont des herbes naines de l'arctique et des montagnes aux immenses arbres de la forêt tropicale, la famille est à distribution cosmopolite terrestre (excepté en antarctique) et bien représentée à travers le monde(Figure08) entre les régions tempérées chaudes et les régions tropicales (Wojciechowski et al., 2004). Comme l'Afrique du sud ou sur le pour tour méditerranéen. Les régions tropicales

abritent essentiellement des espèces ligneuses, tandis que les régions tempérées regorgent des espèces herbacées(Djeghim, 2016). La préférence des Fabaceae aux habitats arides à semi-arides est liée à la demande du métabolisme de l'azote, qui est considéré comme une forme d'adaptation aux variations climatiques(Sprent et McKey, 1995).



Figure08 : Carte de répartition de la famille des Fabaceae (zone ombrée) à travers le monde
(Heywood, 1996)

3.3.3.Utilisation en médecine traditionnelle

Les recherches bibliographiques réalisées sur le genre *Ononis* ont montré que de nombreuses espèces de ce genre produisant un grand nombre de composés chimiques utiles comme des médicaments, plusieurs plantes d'espèce d'*Ononis* est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de caries dentaire (Sessi et al., 2007). En Jordanie, les plantes de ce genre sont utilisées pour leur effet hypoglycémiant (Al-Aboudi et Afifi, 2011). Le genre *Ononis* a été employé pour traiter les diarrhées et quelque trouble urinaire et rhumatologique, aussi dans le traitement de la jaunisse, l'inflammation urinaire et les lithiases renales. Les racines de quelques espèces d'*Ononis* sont connues pour leur utilisation contre les irritations de la peau, les démangeaisons, les cicatrices et la dermatite et pour traiter l'arthrite rhumatoïde, les problèmes de prostate, les coliques néphrétiques et les troubles digestifs ainsi que la constipation. Les parties aériennes sont utilisées contre le cancer et les lésions cutanées et aussi utilisées pour traiter les infections des voies urinaires et les maladies de la peau (Besbas,2020).

3.3.4.Travaux antérieurs et usages thérapeutiques

Plusieurs études montrent qu'un certain nombre d'espèces du genre *Ononis* sont connues pour leurs activités biologiques : antimicrobienne, antioxydante(Mhamdi et al 2015), anti-inflammatoire et effet de cicatrisation(Süntar et al , 2011),cytotoxique (Ghribi, Let al 2016), analgésique(Mamedov et al 2005), antiprolifératrice, antifongiques(Talib et Mahasneh, 2010), et antibiofilme(Stojković et al., 2020). Outre aux propriété sapéritives, anesthésiques, anti infectieuses, anti-inflammatoires, hépatoprotecteur, neuroprotectrices, anticancéreux, et antimicrobienne... etc. (Reggadi,2021).

Chapitre II

Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur trois plantes médicinales appartenant à la flore algérienne à savoir *Physalis acutifolia* (les tiges, les feuilles, et les fruits) de la famille des Solanaceae, *Glebionis coronaria var. coronaria* (les tiges, les feuilles et les fleurs) de la famille des Asteracée, *Ononis angustissima subsp. Polyclada* (les tiges, les feuilles et les fleurs) de la famille des Fabaceae.

1.1. La récolte des plantes

Les plantes étudiées ont été récoltées au niveau de plusieurs sites de la région de Msila (Algérie).



Figure 09 : localisation géographique de la wilaya de M'sila

➤ *Physalis acutifolia*(Solanaceae)

La plante a été récoltée au début du mois d'Aout 2018 à la région de Msila (Algérie).



Figure 10 : Les parties aériennes de l'espèce *Physalis acutifolia* (Solanaceae).

➤ *Glebionis coronaria var. coronaria*(Asteracée)

Les parties aériennes d'espèce sélectionnée ont été collectées aux alentours de la région de Msila (Algérie) en Mars 2020.



Figure 11 : Les parties aériennes de l'espèce *Glebionis coronaria var. coronaria* (Asteracée).

➤ *Ononis angustissima* subsp. *polyclada* (Fabaceae)

La récolte de la plante *Ononis angustissima* subsp. *polyclada* a été réalisée en Juin 2020 dans la région de Msila (Algérie).

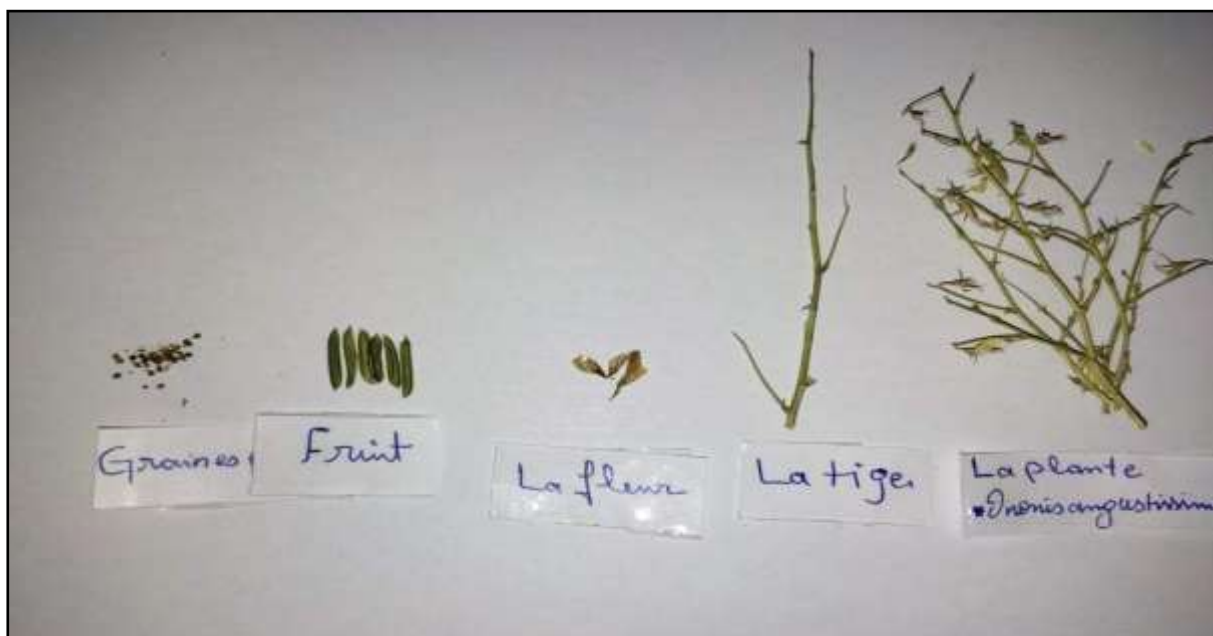


Figure 12 : Les parties aériennes de l'espèce *Ononis angustissima* subsp. *polyclada* (Fabaceae).

1.2. Critères de sélection des plantes

Pour la sélection de nos plantes, nous avons considéré un certain nombre de critères comme l'apport de la littérature, pour le présent travail, nous avons sélectionné trois espèces à savoir :

Physalis acutifolia (Solanaceae), *Glebionis coronaria* var. *coronaria* (Asteracée) et *Ononis angustissima* subsp. *polyclada* (Fabaceae). Ce sont des plantes médicinales ayant un fort potentiel d'activité du fait de leurs usages traditionnels largement répandus, aussi le manque des études et des connaissances botaniques et phytochimiques qui caractérisent ces plantes médicinales étudiées (**Annexe 01**).

1.3. Identification botanique

L'identification botanique/ taxonomique du matériel végétal a été confirmée par **Pr Rebbas**, département des SNV de l'université de M'sila, par le biais de la flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales (**Quezel et Santa 1962**).

1.4. Préparation des échantillons

Le matériel végétal utilisé est constitué de la partie aérienne (tiges, feuilles, fleurs) des plantes. Les espèces ont été collectées. Après le nettoyage, le séchage à température ambiante (20 – 25°C) et à l'abri de la lumière solaire pendant quelques jours, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, ces parties aériennes sont broyées grossièrement à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre, les échantillons ont été récupérés dans des sacs propres et stockés à l'abri de la lumière et d'humidité jusqu'à l'utilisation.

2. Criblage phytochimique

Les plantes ont subi des tests de criblage phytochimique cités par Shaikh et Patil en 2020, pour but de révéler les différents composants chimiques qu'elles contiennent.

2.1.L'épuisement du matériel végétal avec l'eau

Ont préparé l'extrait par l'infusion, une prise d'essai de 10g de poudre de chaque plante a été introduite dans une bécher contenant 100mL d'eau distillée bouillante. L'ensemble a été maintenu pendant 30 min jusqu'au refroidissement. Le mélange est filtré, et l'extrait aqueux est soumis aux différents tests.

Les tests du criblage phytochimique sont mentionnés comme suivant :

Préparation du filtrat (a) : on mélange 50 mg d'extrait sans solvant avec quelques ml de HCl dilué puis on filtre.

Préparation du filtrat (b) : on fait dissoudre 100 mg d'extrait sans solvant dans 5 mL d'eau distillée et on filtre.

Préparation du filtrat (d) : on fait bouillir un échantillon en poudre de 3 mg dans 50 ml d'eau distillée pendant 3 min. puis on filtre.

Préparation du filtrat (f) : on met une quantité de chloroforme et une autre de l'extrait de plante (la même quantité que le chloroforme) et on filtre.

Détection des alcaloïdes le test de Dragendorff

Dans un tube à essai on met quelque mL du filtrat (a) avec 1 ou 2 mL du réactif de Dragendorff. Le résultat positif est l'apparition d'un précipité brun rougeâtre.

Détection des glucides par le test starch

On met l'extrait aqueux avec 5mL de solution de KOH à 5%. Le résultat positif est l'apparition d'une coloration cinaire.

Détection des sucres réducteurs par le test de Benedict

Dans un tube à essai on met 0.5 mL du filtrat (b) avec 1 mL du réactif Benedict, puis on bouilli pendant 2 min. Le résultat positif est l'apparition d'une couleur vert ou jaune ou rouge.

Détection des glycosides le test de H₂SO₄ concentré

Dans un tube à essai, on met 5ml d'extrait de plante avec 2mL d'acide acétique glacial et une goutte de FeCl₃ à 5% et de l'H₂SO₄ concentré. Le résultat positif est l'apparition d'une bague marron.

Détection des glycosides cardiaques par le Test de Keller-Killani

Dans un tube à essai, on met 1 ml de filtrat avec 1,5 ml d'acide acétique glacial et on ajoute une goutte de chlorure ferrique à 5 % et de l'H₂SO₄ concentré (sur le côté du tube à essai). Le résultat positif est l'apparition d'une solution de couleur bleue (en couche d'acide acétique).

Détection des protéines et des acides aminés par test de biuret

Dans un tube à essai, on met 2 ml de filtrat avec une goutte de sol de sulfate de cuivre à 2 % et 1mL d'éthanol à 95% et des pastilles de KOH. Le résultat positif est l'apparition d'un sol de couleur rose (en couche éthanolique).

Détection des flavonoïdes par test de réactif alcalin

Dans un tube à essai, on met 1mL d'extrait avec 2mL de solution NaOH à 2% (on ajoute quelques gouttes de l'HCl dilué). Le résultat positif est l'apparition d'une couleur jaune intense, devient incolore par addition d'acide dilué.

Détection des composés phénoliques par test d'eau chaude

On met de l'eau chaude dans un bécher et on ajoute une partie de plante mature est trempée ensuite on réchauffe pendant une minute. Le résultat positif est l'apparition d'un anneau de couleur noir ou marron à la jonction du trempage.

Détection des tanins par le test de Braymer

Dans un tube à essai, on met 1 mL du filtrat (d) et on ajoute 3 mL de l'eau distillée et 3 gouttes de la solution de chlorure ferrique à 10 %. Le résultat positif est l'apparition d'une couleur bleu-vert.

Détection des saponines par test d'huile d'olive

Dans un tube à essai, on met l'extrait aqueux et on ajoute 5 ml d'eau distillée on secoue vigoureusement et on rajoute quelques gouttes d'huile d'olive (on secoue vigoureusement). Le résultat positif est l'apparition de la mousse.

Détection des phytostérols par test de salkowski

Dans un tube à essai, on met le filtrat (f) et on ajoute quelques gouttes de H₂SO₄ concentré (on secoue bien et on laisse reposer). Le résultat positif est l'apparition d'une couleur rouge en couche inférieure.

Détection des tepinoides

Dans un tube à essai, on met 2 ml de chloroforme et on ajoute 5 ml d'extrait de plante (évaporé sur le bain-marie) puis on ajoute 3mL de H₂SO₄ concentré (bouilli au bain-marie). Le résultat positif est l'apparition d'une solution de couleur grise.

Détection des triterpinoïdes par le test de Salkowski

Dans un tube à essai, on met le filtrat (f) et on ajoute quelques gouttes de H₂SO₄ concentré (on secoue bien et on laisse reposer). Le résultat positif est l'apparition d'une couche jaune doré (au fond).

Détection des acides carboxyliques par test d'effervescence

Dans un tube à essai, on met 1 mL de l'extrait de plante avec 1 mL de la solution de bicarbonate de sodium. Le résultat positif est l'apparition d'effervescence.

Détection des coumarines par test de NaOH

Dans un tube à essai, on met 0,5 mg d'extrait humidifié, puis on recouvert l'embouchure du tube par un papier filtre traité au NaOH 1N, puis on chauffe pendant quelques minutes au bain-marie. Le résultat positif est l'apparition d'une fluorescence jaune du papier sous la lumière UV.

Détection des Résines par test de turbidité

Dans un tube à essai, on fait dissoudre 1mL d'extrait de plante dans de l'acétone, et on verse dans de l'eau distillée. Le résultat positif est l'apparition d'une turbidité.

Détection des huiles et graisses fixes par test ponctuel

On presse une petite quantité d'extrait de plante entre les papiers filtres. Le résultat positif est l'apparition d'une tache d'huile sur le papier.

3. Préparation des extraits

Préparation des extraits bruts par macération

3.1.Extraction solide-liquide :

Cette première étape d'extraction des substances naturels est de type solide-liquide, c'est-à-dire qu'un solide (la matrice végétale) est mélangé avec un liquide (le solvant d'extraction). Les extraits éthanoliques bruts sont obtenus par trois macérations successives, macération à froid (12g pour le *Physalis acutifolia*, 50g pour *Glebionis coronaria* ainsi pour *Ononis angustissima*), le matériel végétal (la poudre végétale séchée et broyée) est mis dans un volume d'éthanol (120 ml pour le *Physalis acutifolia*, 400 ml pour *Glebionis coronaria* et pour *Ononis angustissima*) pendant 72 heures sous agitation, et à l'abri de la lumière avec renouvellement du solvant après 24 heures. Les macérats sont réunis puis filtrés sur papier filtre. Les filtrats sont ensuite évaporés à l'aide d'un rotavapor, à une température de 40°C.

3.2.Extraction liquide-liquide :

Les extraits obtenus sont évaporés, on ajoute 100 ml l'eau distillée bouillie à ces extraits, après on les filtre, on fait l'extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter par les solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, puis le chloroforme, puis l'acétate de l'éthyle et en dernière étape, le n-butanol (on ajoute un volume de 100 ml de chaque solvant). Le résumé du protocole d'extraction est illustré dans la **figure 13** et **annexe 06**.

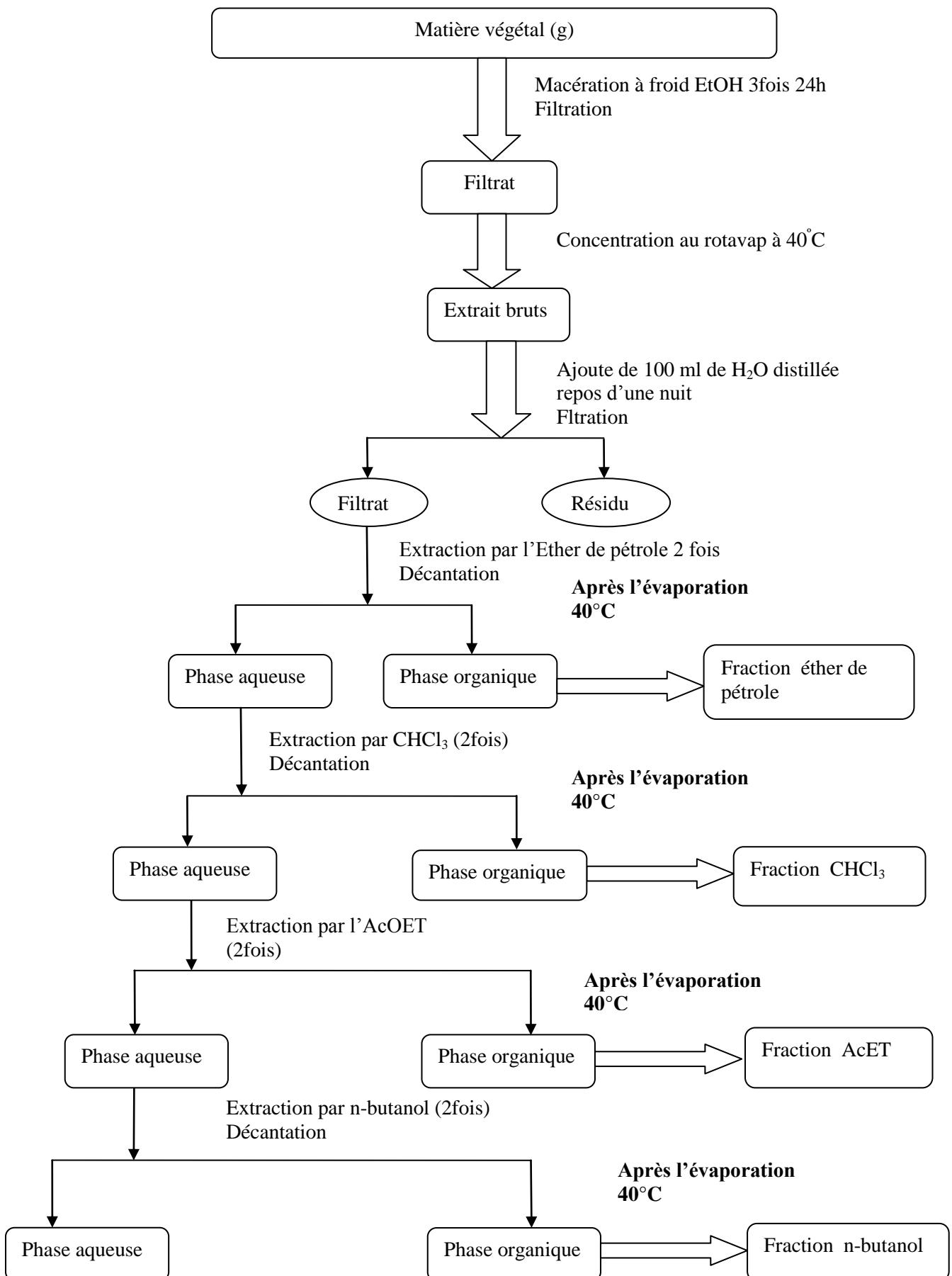


Figure 13 : Protocole de fractionnement par extraction liquide-liquide des extraits bruts

4. Détermination du rendement d'extractions

Le rendement des différents extraits obtenus est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue après évaporation et la masse initiale du matériel végétal utilisé. Ce rendement est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Rendement (R) \%} = M0 / M1 \times 100$$

M0 : Masse en gramme du résidu sec évaporé ;

M1 : Masse en gramme de la matière végétale sèche initiale

5. Analyses chromatographiques par CCM (Chromatographie sur couches minces)

Definition :

La chromatographie sur couche mince est une technique physico-chimique et analytique rapide utilisée pour la séparation et la purification des composés. Elle est applicable soit pour les composés purs pour les identifier ou pour des mélanges (les extraits et les échantillons biologiques) pour identifier leur composition. Elle repose principalement sur les phénomènes d'adsorption, d'interactions et de polarité entre les molécules en tenant compte de leurs poids et les solvants utilisés.

Principe :

Dans un support solide remplie d'un solvant (phase mobile) on place un mélange de composés qu'on souhaite séparer et que l'on appelle phase stationnaire. Par capillarité, la phase mobile se déplace le long de la phase stationnaire (Diallo, 2005) et va entraîner les composés qui migreront à une hauteur variant en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile. L'identification des composés se fait selon la distance parcourus qu'on appelle rapport frontal RF (RF est le rapport de la distance de migration du composé par rapport à celle du solvant).

Mode Opérateur :

Pour la mise en évidence des composés phénolique par la chromatographie sur couche mince, on va suivre le protocole décrit par (Wagner ,1996) et repris par (Bengag ,2009).

- ❖ La cuve de migration est partiellement remplie du mélange de solvant (phase mobile) afin qu'elle soit saturée en vapeur d'éluant qui facilite et améliore la migration.
- ❖ On prend des plaques en aluminium recouvertes de gel de silice Merck 60F254, on trace une ligne de dépôt à 1,5 cm du bord, les échantillons y sont de poses séparément sur cette ligne,
- ❖ La plaque est mise en contact avec la phase mobile dans la cuve jusqu'à migration de la phase mobile à 0,5 cm du bord supérieur de la plaque.
Différents systèmes solvants sont utilisés, la lecture des résultats des CCM se fait à l'aide d'une lampe UV (à 254 et 356 nm).

Tableau 05: Systèmes de solvants (phase mobile) utilisés pour les 3 plantes (*Physalis*, *Glebionis*, *Ononis*).

Plante	Système solvant	Volume
<i>Physalis</i>	N-butanol/Acétate d'éthyle/Eau	(5/1/1) (v/v/v)
	Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau	(8/1/1) (v/v/v)
	Chloroforme/Acétate d'éthyle	(9/1) (v/v)
	Acétate d'éthyle/hexane	(8/2) (v/v)
<i>Glebionis</i>	Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau	(8/1/1) (v/v/v)
	N-butanol/Acétate d'éthyle/Eau	(5/1/1) (v/v/v)
<i>Ononis</i>	Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau	(8/1/1) (v/v/v)
	Chloroforme/Acétate d'éthyle	(9/1) (v/v)
	N-butanol/Acétate d'éthyle/Eau	(5/1/1) (v/v/v)
	Chloroforme/méthanol	(8/2) (v/v)

6. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une structure chimique donnée en solution, sa concentration est considérée grande plus son absorbance dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer- Lambert est ainsi élevée.

6.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques des différents extraits était réalisée par l'utilisation du réactif Folin-Ciocalteu. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène –tungstène de couleur bleue qui possède une absorption maximale à 750 nm. L'intensité de la coloration produite est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits analysés (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Mode opératoire :

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit par **Singleton *et al* en 1999**. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Dans un tube à essai on a mélangé un volume de 200 µl de l'extrait éthanolique à concentration de 1 mg/ml avec 2 ml de réactif Folin-Ciocalteu à (10%), le mélange est vigoureusement agité et laissé reposer 4 min. 1800 µl d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% sont ajoutés au mélange, puis on a agité et incubé pendant 2 heures. L'absorbance est mesurée à 750 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible.

Une courbe standard d'étalonnage est établie en parallèle dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations de (0 à 400 µg /ml) comme un standard. Le contenu phénolique total était exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG / g EX).

La préparation de tube de blanc pour la calibration de l'appareil de spectrophotomètre avant la mesure d'absorbance des extraits et l'acide gallique se fait en suivant le même protocole avec la substitution de l'extrait éthanolique par un même volume d'éthanol

Le TPC a été calculé par la formule suivante : $C = x * V / m$, avec:

- **x** : la concentration d'acide gallique déterminée à partir de la courbe d'étalonnage (mg / ml).
- **V** est le volume de solution échantillon)
- **m** est le poids de l'échantillon dans le test (g).

6.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes était déterminée selon la méthode de trichlorure d'aluminium décrites par (Biesagaet *al.*2013) se basant sur les propriétés chélatrices de l'ion aluminium. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium et de soude entraînant ainsi la formation d'un complexe détecté à 510 nm.

Mode opératoire :

La concentration des flavonoïdes qu'existe dans les extraits éthanoliques des plantes était estimé par la méthode de trichlorure d'Aluminium. Dans un tube à essai, 500µl de l'extrait éthanolique à C=1mg/ml sont mélangés avec 300µl d'une solution de nitrite de sodium NaNO₂ à 5% (p/v). 5 min plus tard, 300 µl d'une solution de chlorure d'aluminium AlCl₃ à 10% (p / v) sont ajoutés, puis on laisse le mélange reposer 5 min et on ajoute après 2000 µl de solution d'hydroxyde de sodium NaOH à 1N et 1900 µl d'eau distillée et on mélange à l'aide du vortex. On incube à température ambiante et à l'obscurité pendant 15 min puis on mesure l'absorbance à λ=510 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires avec la quercitine à des concentrations de 0 à 10 mg/l comme standard. Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en milligramme équivalent quercitine par gramme d'extrait (mg EC/g EX).

La préparation de tube de blanc pour la calibration de l'appareil de spectrophotomètre avant la mesure d'absorbance des extraits et l'acide gallique se fait en suivant le même protocole avec la substitution de l'extrait éthanolique par un même volume d'éthanol.

La teneur en flavonoïdes a été calculé par la formule suivante : $C = x * V / m$, avec:

- **x** : la concentration de la quercétine déterminée à partir de la courbe d'étalonnage (mg / ml).
- **V** est le volume de solution échantillon
- **m** est le poids de l'échantillon dans le test (g).

7. Activité antioxydante (Test DPPH) (2,2-diphényle-1-1picrylhydrazyle)

De nombreuses méthodes sont utilisées pour évaluer in vitro l'activité antioxydante. Pour notre étude, nous avons utilisé le piégeage du radical 2,2diphényl-1-1-picryl-hydrazyl (DPPH).

Principe :

L'activité antioxydante est déterminée par spectrométrie UV- Visible en mesurant la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH· à 517 nm. En présence des

piégeurs de radicaux libres, le radical stable DPPH• (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) de couleur violette est réduit sous forme non radicalaire DPPH-H (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazine) de couleur jaune par les antioxydants donneurs d'hydrogènes présents dans l'extrait végétal ou par une autre espèce radicalaire (Maataoui *et al.*, 2006)

Mode opératoire:

L'activité antiradicalaire des différents extraits a été déterminée selon la méthode de (Bursal et Gulcin 2011). Pratiquement, une solution de DPPH est fraîchement préparée dans le méthanol. Un volume de 25µL des solutions des extraits et de l'antioxydant de référence à différentes concentrations, est ajouté à 975µL de DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle contenant uniquement la solution de DPPH est méthanol mesurée à 517 nm contre un blanc de méthanol. Le contrôle négatif contient tous les réactifs à l'exception de l'extrait à tester qui est remplacé par un volume égal de méthanol. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, trolox dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration. Le pourcentage de l'activité antiradicalaire, exprimé en pourcentages d'inhibition est estimé selon l'équation suivante :

$$\% I = [(Abs\ Contr\hat{o}le - Abs\ Extrait) / Abs\ Contr\hat{o}le] \times 100\%$$

- **% PI** : Pourcentage d'inhibition.
- **Abs Contrôle** : Absorbance du contrôle négatif.
- **Abs Extrait** : Absorbance de l'extrait.

Les valeurs de l'IC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire.

8. Evaluation des activités antibactérienne

L'activité antibactérienne des trois plantes était testée par la méthode de diffusion par puits sur différentes bactéries de Gram + et de Gram -. Les souches bactériennes sélectionnées sont au nombre de trois et sont: *Pseudomonas*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus*.

Tableau 06: Description et pouvoir pathogène des souches testées.

Bactéries	Espèces	Références	Habitat	Préférentiel Pouvoir pathogène
GRAM-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	Sol, eau, plantes Voies respiratoires Matières fécales Réfrigérateurs Appareils anitaires	Infections pulmonaires, Brûlures Plaies Septicémies
GRAM-	<i>Escherichia coli.</i>	ATCC25922	Matières fécales Aliments contaminés Eaux usées	Infections urinaires Plaies Septicémies Infections respiratoires
GRAM+	<i>Staphylococcus aureus.</i>	ATCC25923	Peau, cheveux Nasopharynx Périnée Poussières, Aliments contaminés	Infections cutanées, plaies, brûlures, abcès Ostéite...

Ce test a été décrit par Cooper et Woodman (1946), reprise par Shroder et Messing (1949), et qui consiste à découper des trous circulaires (puits) dans la gélose et y verser l'extrait de concentration connue. L'extrait diffus radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose ensemencée avec la suspension bactérienne (**Eymard, 2003**).

Mode opératoire :

Tout d'abord le matériel stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Les souches bactériennes sont ensemencées préalablement en gélose nutritive et incubés à 37°C pendant 24 heures pour optimiser leur croissance et obtenir des colonies isolées. Ensuite, des colonies bien séparées des souches bactériennes étudiées sont prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et homogénéisées dans d'eau physiologique. La gélose nutritive est coulée et répartie dans des boites de pétri stériles. Ces dernières sont séchées pendant 30 min à une température ambiante avant l'utilisation. Puis, un ensemencement est réalisé par écouvillonnage en stries serrées de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur les boites. Les puits circulaires sont ensuite coupés dans la gélose bien formée dans boite de pétri. Ensuite 25µl d'extrait à tester sont imbibés dans ces puits. Des puits imprégnés d'éthanol vont servir comme témoin. Les boites ont été incubées pendant 24 h à 37°C.

L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance bactérienne autour des puits contenant les substances inhibitrices testées (**Boumaza, 2011**). La lecture se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits à l'aide d'une règle (mm), qui détermine la sensibilité de la souche à l'extrait (**Benkiki, 2006**).

Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.

Sensible (+): diamètre compris entre 9 à 14 mm .

Très sensible(++) :diamètre compris entre 15 à 19 mm..

Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm.

9. Analyse des données

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne de trois répétitions \pm SD.

Les données expérimentales des dosages des taux en polyphénols totaux, en flavonoïdes, et l'évaluation de l'activité antioxydant sont des analyses effectuées en triplicata. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type.

Le coefficient de corrélation des propriétés antioxydantes a été déterminé en utilisant l'Excel 2007. Les courbes et les histogrammes ont été réalisés à l'aide de programme Microsoft Excel 2007.

Chapitre III

Résultats et discussion

1. Screening phytochimique

Les résultats des tests préliminaires du screening phytochimique des différents extraits de plantes étudiées sont mentionnés dans **le tableau07** suivant et **l'annexe05** :

Tableau 07 : Résultats du screening phytochimique des plantes étudiées

Détection	Tests	<i>Physalis acutifolia</i>	<i>Glebionis coronaria</i>	<i>Ononis angustissima</i>
Alcaloïde	Dragendorf	+++	-	++
Glucides	Starch	+	+	+
Sucres réducteurs	Benedict	+++	+	++
Glycosides	H ₂ SO ₄ concentré	++	+++	+
Glycosides cardiaques	Keller -killani	+++	++	++
Protéines et des AA	Biuret	+++	++	+
Flavonoïdes	Alcalin	+++	+++	+++
Composes phénolique	Eau chaud	+	+++	++
Tannins	Braymer	++	+++	-
Saponines	Huile d'olive	+++	+++	+++
Phytostéroles	Salkwski	+	++	++
Terpinoïde		+	++	-
Triterpinoïde	Salkowski	-	-	+
Acide carboxylique	Effervescence	+++	+	-
Coumarines	NaOH	++	+	+++
Resines	Turbidité	+	+	+
Huiles et graisses fixes	Tache ponctuel	-	+++	++

1-Réaction très positive (+++), 2-Réaction positive (++) , 3-Réaction moyennement positive (+), 4-Réaction négative (-).

La présence des composés phénoliques était détectée chez les trois plantes avec un résultat significatif pour la plante *Glebionis coronaria*, cela peut être expliqué par les conditions climatiques à savoir la température élevée, la sécheresse, forte exposition solaire et la salinité des habitats de ces plantes, qui agissent sur le métabolisme et sur la synthèse des molécules bioactives tels que les composés phénoliques. De plus plusieurs facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (environnement) influencent sur la quantité et la qualité du contenu phénolique d'une plante (**Fратиanni et al., 2007 ; Pokorny et al., 2001**). De plus, les flavonoïdes ont été détectés aussi chez les trois plantes. En effet, ce sont le groupe le plus répandu dans les composés phénolique (**Pokorny et al., 2001**) et donc, leur présence confirme la présence des composés phénoliques. Les deux tests, de Braymer et de NaOH à 10 % confirment la présence des tanins chez *Physalis acutifolia* et *Glebionis coronaria*, cela veut dire selon (**Paris et Moyes, 1965**) que ces deux plantes possèdent des propriétés astringentes et antidiarrhéiques et un effet anti-inflammatoires au cas de brûlures.

La présence des Alcaloïdes était observée chez les deux plantes *Physalis acutifolia* et *Ononis angustissima*, donc ces deux plantes sont dotées de propriétés thérapeutiques, notamment antimicrobiennes qu'à des doses très élevées, conférés par ces alcaloïdes qui possèdent des propriétés antiparasitaires, antispasmodiques et antidiarrhéiques (**Paris et Moyes, 1965**).

De plus de son utilisation dans le domaine thérapeutique, la présence chez une plante de substances naturelles telles que les tanins, coumarines et flavonoïdes qui sont dotées de couleurs diversifiées (rouge, violette, jaune, orange, brune, bleue...) permettrait son utilisation dans le domaine des cellules solaires à pigments photosensibles en raison du pouvoir de ces substances à collecter les radiations solaires, ainsi que les pigments végétaux peuvent se lier facilement et de manière covalente avec les nanoparticules du semi-conducteur (**Olounladé et al., 2011; Calogero et al., 2012; Narayan, 2012**). On note aussi la présence des saponines chez les trois plantes, alors que ces composés sont des tensioactifs possédant des propriétés hémolytiques qui les permettent de se lier avec les stérols de la membrane érythrocytaire et augmenter sa perméabilité qui conduise à l'éclatement de cette dernière, ce qui entraîne la fuite de l'hémoglobine (**Békro et al., 2007**).

2. Rendement d'extractions

Les plantes étudiées dans ce travail ont été macérées trois fois dans l'éthanol pendant 24h par fois. Ce qui a permis l'obtention des extraits bruts éthanolique. Après, ces extraits ont subi une extraction liquide-liquide par quatre solvants de polarités différentes à savoir l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol (**annexe 04**).

Les rendements de ces extractions sont mentionnés dans le **tableau08** et la **figure14** ci-dessous. Le rendement est exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante fraîche.

Tableau 08 : rendement des extractions.

Plantes	Extrait brute	Extrait Ether de pétrole	Extrait Chloroforme	Extrait Acétate d'éthyle	Extrait n-butanol
<i>P. acutifolia</i>	14.1%	6.6%	4.16%	8.83%	6.66%
<i>G.coronaria</i>	8.2%	2.4%	5.6%	5.2%	4%
<i>O.angustissima</i>	7.6%	2%	4%	1%	2%

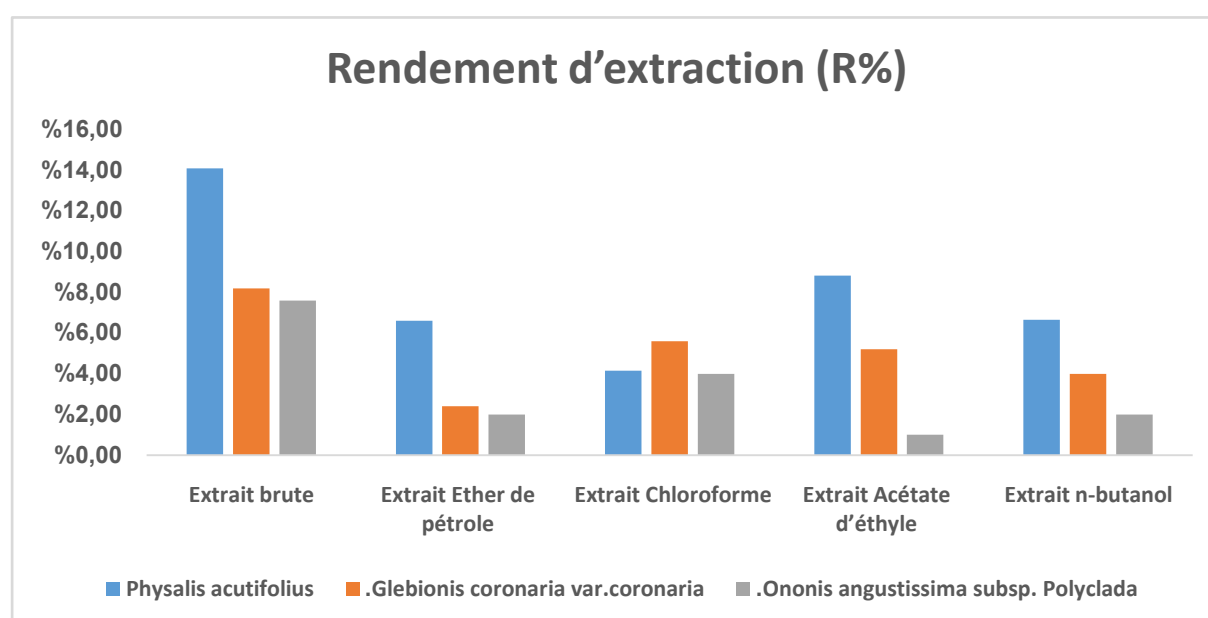


Figure 14 : histogramme présente les rendements en (%) des extractions pour les trois plantes.

Les rendements d'extraction diffèrent selon la méthode d'extraction, le solvant utilisé, et l'espèce. *Physalis acutifolia* avère le meilleur rendement d'extraction avec l'extrait brut (14.1%), l'éther de pétrole (6.6%), l'acétate d'éthyle (8.83%) et l'extrait de n-butanol (6.66%). D'un côté, *Glebionis* a le meilleur rendement avec l'extrait de chloroforme (5.6%). Tandis que le plus faible rendement était toujours avec *Ononis angustissima*, allant de 1 à 7,6%. En moyenne, le chloroforme était le solvant qui le donné un rendement le plus élevé pendant l'extraction liquide-liquide avec une valeur moyenne de rendement des trois plantes qui dépasse 4%, ce qui est en accord avec les résultats obtenus par (Harti, 2019).

3. Analyses chromatographiques par CCM

L'extrait le plus chargé en taches est toujours l'extrait brut éthanolique, les autres extraits ont soit le même nombre de taches ou moins parce qu'ils proviennent tous de ce premier par l'extraction liquide-liquide. Les taches avec une petite R_f concernent les composants les plus grands, et ceux avec un grand R_f concernent les composants les plus petits, selon la capacité de migrer pour chaque un des composés (**Tableaux 9-11**) et (**Annexe07**).

Le système Chloroforme/Acétate d'éthyle (9/1) était le meilleur système de séparation pour les échantillons de la plantes *Physalis*, avec l'apparition de 7 taches pour les deux extraits brut et chloroforme et 5 taches pour celui d'acétate d'éthyle, par contre le système acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (8/1/1) n'avait pas une grande séparation des molécules avec seulement 3 taches pour les deux extraits brut et acétate d'éthyle et deux taches pour l'extrait de chloroforme et une seule tache pour l'extrait de n-butanol. L'extrait de l'éther de pétrole n'a montré aucune tache avec les

Différents systèmes, qui peut s'explique par la non solubilité des molécules de cette plante dans ce solvant.

Les deux systèmes Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (8/1/1) et N-butanol/Acétate d'éthyle/Eau (5/1/1) ont donné une meilleure séparation pour les échantillons de la plante *Glebionis*, pour l'extrait brut par 9 spots et celui de l'acétate par 5 spots respectivement. D'un autre côté, ces deux systèmes n'ont pas donné beaucoup de spots surtout pour l'extrait d'acétate d'éthyle (2 spots pour les deux systèmes) et l'extrait de n-butanol pour le premier système (2 spots).

Les deux systèmes Chloroforme/Acétate d'éthyle (9/1) et Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (8/1/1) ont été les meilleurs systèmes de séparation pour les échantillons de la plantes *Ononis* surtout pour l'extrait brut avec 9 spots pour les deux systèmes. La couleur verte apparaît avec tous les extraits qui ont une R_f égale à 0,5, qui signifie l'existence de Flavonols, Flavonones et Aurones. L'apparition de la couleur verte, bleu blanc fluorescent avec des extraits qui ont une R_f égale à 0,92 signifié l'existence de Flavonols, Flavones, Isoflavones et Flavanones(**Ozenda, 1958**). *Ononis* est considéré comme un vaste genre d'herbes et d'arbustes vivaces de la famille des Fabacées connu pour être très riche en dérivés phénoliques (**Barrero et al., 1993 ; Abdel-Kader, 2001;Mhamdi et al., 2015**).

Tableau 09 : Résultats de séparation des extraits de *Physalis* par CCM.

Extrait	Extrait brut	Éther de pétrole	Chloroforme	Acétate d'éthyle	N-butanol
Révélateur	UV				
Système	N-butanol/Acétate d'éthyle/Eau (5/1/1)				
N° de taches	4	/	4	3	3
Couleur (Rf)	Bleu blanc fluorescent (0.21) Rouge (0.42) Orange (0.54) Rouge (0.75)	/	Rose (0.42) Rose (0.51) Orange (0.58) Rouge (0.71)	Bleu (0.18) Bleu (0.71) Rouge (0.8)	Bleu blanc fluorescent (0.2) Bleu (0.32) Bleu (0.62)
Système	Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (8/1/1)				
N° de taches	3	/	2	3	1
Couleur (Rf)	Bleu (0.28) Bleu nuit (0.61) Rouge (0.85)	/	Bleu (0.32) Orange (0.85)	Bleu nuit (0.74) Bleu (0.81) Rose (0.85)	Bleu nuit (0.62)
Système	Chloroforme/Acétate d'éthyle (9/1)				
N° de taches	7	/	7	5	/
Couleur (Rf)	Rose (0.06) Rose (0.22) Rose (0.31) Vert (0.37) Rouge (0.51) Rouge (0.82) Rouge (0.91)	/	Rose (0.05) Mauve (0.11) Rose (0.17) Vert (0.21) Bleu (0.26) Rose (0.4) Bleu blanc fluorescent (0.93)	Bleu blanc fluorescent (0.11) Rose (0.2) Bleu nuit (0.3) Rose (0.82) Bleu blanc fluorescent (0.93)	/
Système	Acétate d'éthyle/hexane (8/2)				
N° de taches	4	/	4	3	/
Couleur (Rf)	Rouge (0.26) Rouge (0.58) Mauve (0.75) Rouge (0.9)	/	Rose (0.28) Mauve (0.45) Rose (0.9)	Bleu blanc fluorescent (0.61) Bleu nuit (0.8) Rose (0.9)	/

Tableau 10 : Résultat de séparation des différents extraits de *Glebionis* par CCM

Extrait	Extrait brut	éther de pétrole	Chloroforme	acétated'éthyle	n-butanol
Révélateur	UV				
Système	Acétated'ethyle/Méthanol/Eau (8/1/1)				
N° de taches	8	4	4	2	2
Couleur (Rf)	Bleu (0.3) Vert (0.4) Rose (0.48) Bleu (0.65) Mauve (0.72) Rouge (0.77) Rose (0.81) Rouge (0.87)	Mauve (0.72) Rouge (0.77) Rose (0.81) Rouge (0.87)	Mauve (0.66) Vert (0.71) Bleu (0.75) Rouge (0.87)	Vert (0.77) Bleu(0.87)	Bleu blanc fluorescent(0.26) Bleu (0.77)
Système	N-butanol/Acétate d'éthyle/Eau (5/1/1)				
N° de taches	5	3	4	2	3
Couleur (Rf)	Bleu blanc fluorescent (0.17) Mauve (0.51) Rose foncé (0.68) Bleu nuit (0.77) Rouge (0.85)	Rose foncé (0.57) Bleu nuit (0.75) Rouge (0.85)	Bleu nuit (0.6) Rose (0.64) Bleu blanc fluorescent (0.71) Rouge (0.85)	Bleu (0.71) Bleu blanc fluorescent(0.78)	Bleu blanc fluorescent (0.32) Bleu nuit(0.52) Bleu nuit (0.75)

Tableau 11 : Résultat de séparation des extraits d'*Ononis* par CCM.

Extrait	Extrait brut	Éther de pétrole	Chloroforme	Acétate d'éthyle	N-butanol
Révélateur	UV				
Système	Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (8/1/1)				
N° de taches	9	/	7	7	1
Couleur (Rf)	Vert (0.5) Bleu (0.64) Rose (0.75) Bleu (0.78) Rose (0.82) Bleu (0.85) Bleu blanc fluorescent (0.88) Vert foncé (0.92) Rouge (0.96)	/	Rose (0.75) Bleu (0.78) Rose (0.82) Bleu (0.85) Bleu blanc fluorescent (0.88) Vert foncé (0.92) Rouge (0.96)	Bleu (0.47) Vert (0.55) Bleu blanc fluorescent (0.61) Bleu foncé (0.66) Bleu blanc fluorescent (0.88) Vert (0.93) Bleu blanc fluorescent (0.97)	Bleu (0.66)
Système	Chloroforme/Acétate d'éthyle (9/1)				
N° de taches	9	7	8	3	/
Couleur (Rf)	Bleu (0,06) Bleu blanc fluorescent (0,11) Vert (0,15) Rose (0,18) Bleu blanc fluorescent (0,25) Bleu (0,33) Mauve foncé (0,61) Rose (0,76) rouge (0,93)	Vert (0,15) Mauve (0,23) Orange (0,28) Rouge (0,35) Rouge (0,76) Bleu (0,8)	Bleu (0,06) Bleu blanc fluorescent (0,11) Vert (0,15) Bleu blanc fluorescent (0,25) Bleu (0,33) Mauve foncé (0,61) Rose (0,76) Rouge (0,93)	Bleu blanc fluorescent (0,08) Vert (0,15) Bleu (0,91)	/
Système	N-butanol/Acétate d'éthyle/Eau (5/1/1)				
N° de taches	5	3	4	5	3
Couleur (Rf)	Bleu (0.14) Rose (0.57) Bleu (0.67) Bleu blanc fluorescent (0.71) Rouge (0.78)	Vert foncé (0.5) Rouge (0.58) Rose (0.72)	Bleu (0.24) Rose (0.55) Bleu blanc fluorescent (0.64) Rouge (0.81)	Bleu (0.14) Bleu (0.27) Bleu blanc fluorescent (0.34) Vert (0.52) Bleu blanc fluorescent (0.8)	Bleu blanc fluorescent (0.14) Bleu (0.64) Bleu clair (0.71)
Système	Chloroforme/méthanol (8/2)				
N° de taches	6	3	6	1	/
Couleur (Rf)	Bleu blanc fluorescent (0.02) Bleu (0.07) Vert foncé (0.11) Rose (0.15) Rouge (0.3) Rouge (0.38)	Vert foncé (0.1) Rouge (0.14) Rouge (0.34)	Bleu blanc fluorescent (0.02) Bleu (0.07) Vert foncé (0.11) Rose (0.15) Rose (0.2) Rouge (0.45)	Bleu (0.85)	/

4. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie

4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le contenu phénolique total des extraits des trois plantes est exprimé en milligrammes d'équivalents d'acide gallique (GAE) par gramme d'extrait (**Tableau12**). La courbe d'étalonnage de l'acide gallique a donné une équation de type $y = ax + b$ (**figure 15**).

Tableau12 : Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes des trois plantes étudiées

Plantes	Phénols totaux MgEAG/g	Flavonoïdes MgQu E/g
<i>Physalis acutifolia</i>	50,166±0,623	37,458±0,589
<i>Glebionis coronaria</i> <i>var.coronaria</i>	51,941±0,635	18,041±0,155
<i>Ononis angustissima subsp.</i> <i>Polyclada</i>	165,176±1,681	25,791±0,589

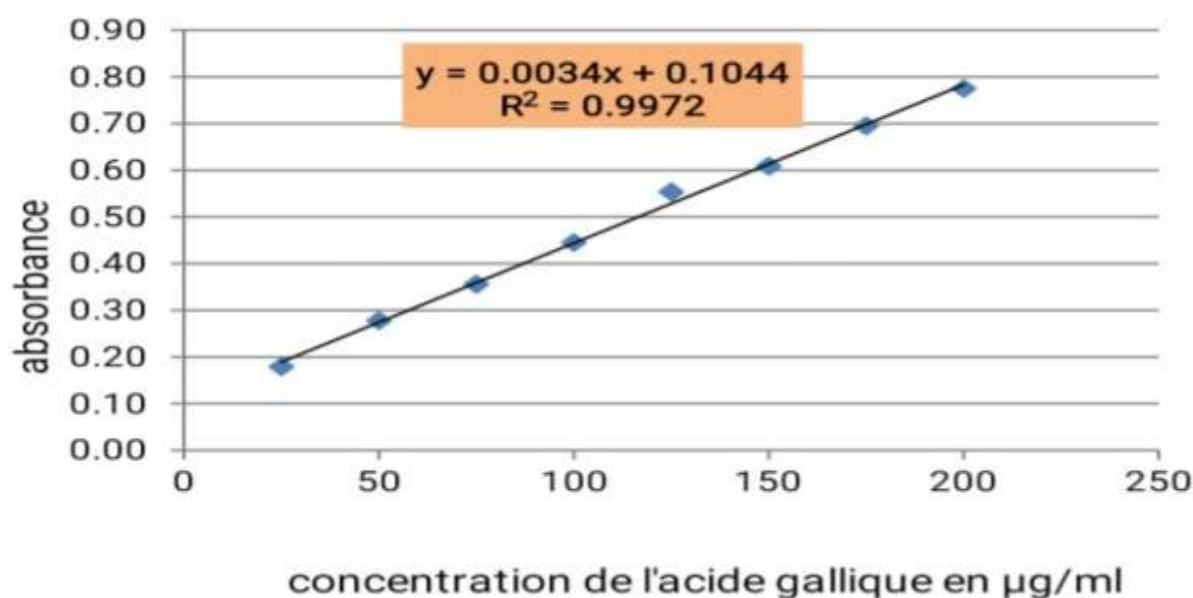


Figure15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La teneur en polyphénols pour les trois plantes est variable, la teneur la plus élevée est constatée pour *Ononis angustissima subsp. Polyclada* qui atteint 165,176 mg EAG/g et qui est en accord avec les résultats obtenus par (Guettaf et al., 2016) suivi par *Glebionis coronaria var.coronaria* et enfin *Physalis acutifolia*.

4.2. Dosage des flavonoïdes

La quercétine a été utilisée comme témoin positif pour générer une courbe d'étalonnage à partir de laquelle la teneur en flavonoïdes des extraits de nos trois plantes a été calculée (**Tableau12**), cette dernière est exprimée en mg équivalents de quercétine (EQ) par gramme d'extrait déterminées par l'équation de type $y = ax + b$ (**figure 16**).

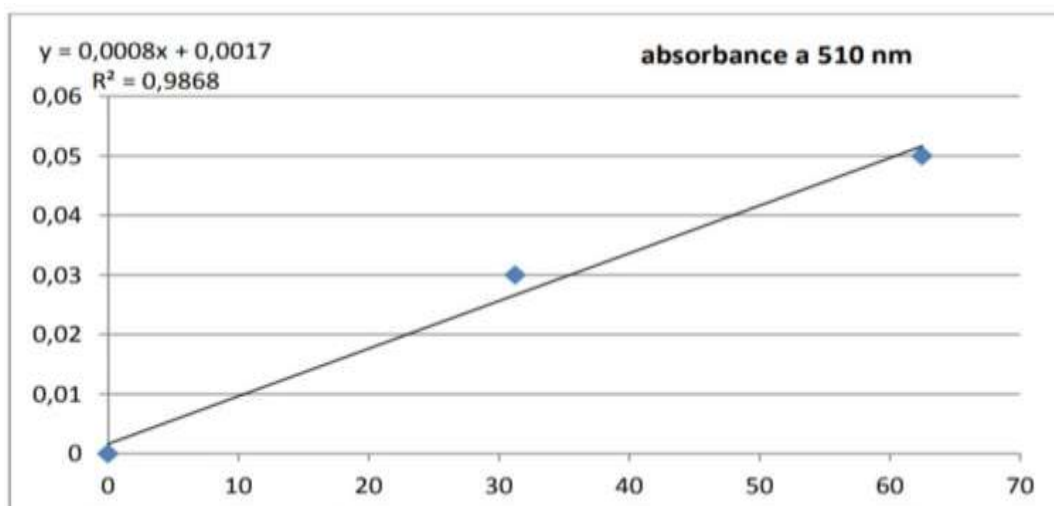


Figure16 : La courbe d'étalonnage de la quercétine.

La présence des polyphénols est confirmée par celle des flavonoïdes, En effet, ce sont le groupe le plus répandu dans les composés phénolique (**Pokorny et al., 2001**). La teneur en flavonoïdes est variable chez les trois plantes, la teneur la plus élevée est attachée à la plante *Physalis acutifolia*, est égale à 37,458 mgQu E/g, puis celle de *Ononis angustissima subsp. Polyclada*(25,791mgQu E/g)et enfin celle de *Glebionis coronaria var.coronaria*(18,041 mgQu E/g). Les résultats sont résumés dans la **figure17**.

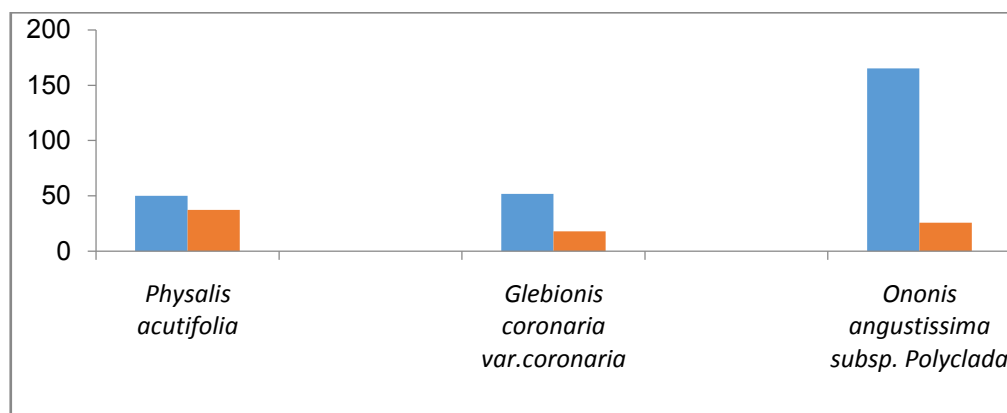


Figure17 : Représentation graphique des teneurs de polyphénols totaux et flavonoïdes pour les trois plantes étudiées.

5. Activité antioxydante (Test DPPH) (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)

L'activité antioxydante a été évaluée par le test de DPPH, qui est l'un des tests les plus utilisés en raison de sa rapidité, sensibilité, commodité et de sa reproductibilité. L'activité antioxydante a été évaluée par spectrophotométrie à 517 nm, elle est exprimée en concentration d'inhibition IC₅₀, sachant que la IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour Les profils de l'activité antiradicalaire obtenus révèlent que les trois extraits étudiés possèdent une valeur faible de CI50 indique une forte capacité de l'extrait, tandis qu'une valeur élevée indique une faible activité de l'extrait. Les résultats obtenus nous a permettent de tracer des graphes illustrent la variation de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (**figure18** et **19**).

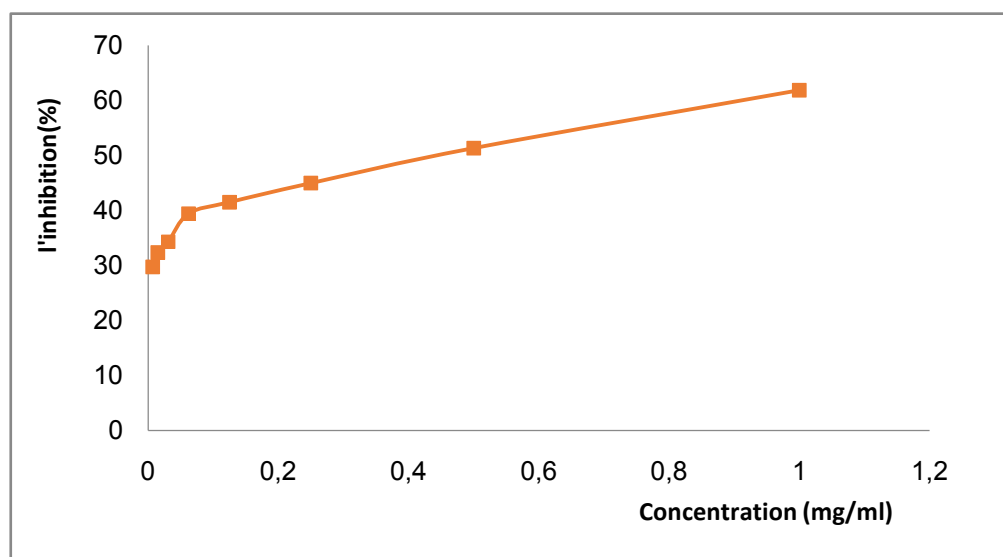


Figure18 : le % d'inhibition du DPPH par le Trolox en fonction de la concentration.

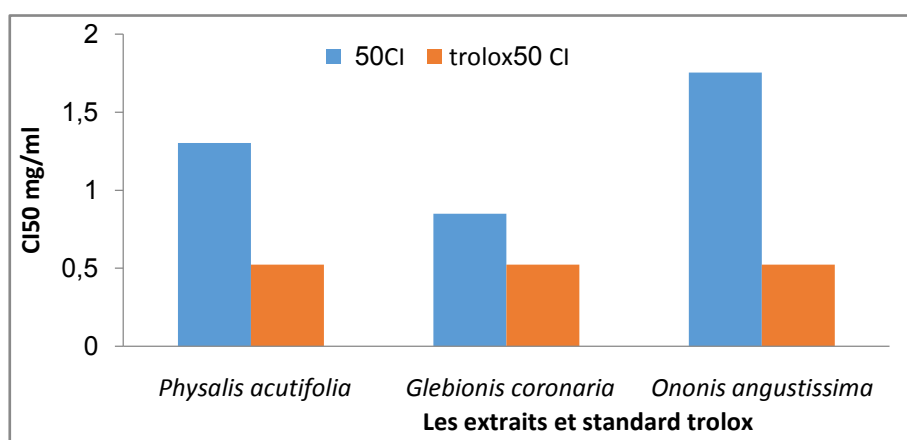


Figure 19: Histogrammes exprimés IC₅₀, illustrant l'activité antioxydante de Trolox des trois extraits éthanolique.

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement et d'une façon précise (**Cristina et al., 2009**). Dans ce travail, l'activité antioxydante des extraits des trois plantes était estimée par l'utilisation de la méthode spectrophotométrique à savoir l'activité anti-radicalaire pour le radical DPPH qui est souvent utilisé pour sa rapidité, de même qu'elle est employée pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydantes (**Yi et al., 2008**).

Les résultats obtenus montrent qu'IC₅₀ du témoin (trolox) qui égale à 0,52327557 mg/ml est meilleure par rapport aux extraits des trois plantes. La plante *Glebionis coronaria* possède l'activité la plus importante par rapport aux autres extraits de plantes avec une valeur de IC₅₀ égale à 0,84902413 mg/ml, ce résultat est en accord avec celui obtenu par (**Evelyn, 2020**). L'extrait de la plante *Ononis angustissima* était le moins actif avec une valeur de IC₅₀ = égale à 1,75373678 mg/ml, ce qui confirme les résultats obtenus par (**Guettaf et al., 2016**), quia montré que *O.angustissima* avait une faible capacité antioxydante. Ce résultat peut être attribué au taux faibles de flavonoïdes (15%) par rapport aux phénols totaux. Selon la littérature cette activité est due à la production d'une large gamme de molécules telles que les flavonoïdes, les polyphénols et d'autres molécules (**Avilalaet al., 2013**).

6. Activités antimicrobiennes

L'étude de l'activité antibactérienne des extraits des trois plantes est testée par la méthode de diffusion des puits sur un milieu gélosé face à trois souches bactériennes à savoir *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Les résultats montrent une grande sensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* face aux trois extraits des trois plantes avec une zone d'inhibition qui dépasse 19 mm pour *Physalis acutifolia* et *Ononis angustissima*, et 15 mm pour *Glebionis coronaria*. De même pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* qui présente une forte sensibilité face aux *Physalis acutifolia* et *Glebionis coronaria* par une zone d'inhibition qui dépasse 16 mm pour les deux plantes. *Escherichia coli* était moyennement sensible face aux trois extraits des trois plantes avec une zone d'inhibition autour de 10 mm. La différence de la taille du halo observé entre les isolats peut refléter une production de molécules bioactives différentes ou une production des mêmes molécules avec des concentrations différentes. De ce fait, de plus amples études sont nécessaires pour confirmer l'une ou l'autre. Ces résultats obtenus confirment les résultats obtenus par (**Jyothibasud et Venkata 2015**), (**Evelyn, 2020**) et (**Bouheroum, 2007**).

Tableau 06 : Résultat de l'antibactérienne des extraits.

Souches	GRAM	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)		
		Physalis acutifolia.	Glebioniscorona riavar.coronaria.	Ononis angustissimasubsp. Polyclada.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> TCC27853	+	16.3 ± 0.94	16.6 ± 2.49	10.6 ± 1.24
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	-	11 ± 0.8	9.6 ± 0.47	10.6 ± 1.24
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	-	19 ± 4.08	15 ± 2.44	19.6 ± 3.29
Témoin (éthanol)		0 mm	0 mm	0 mm

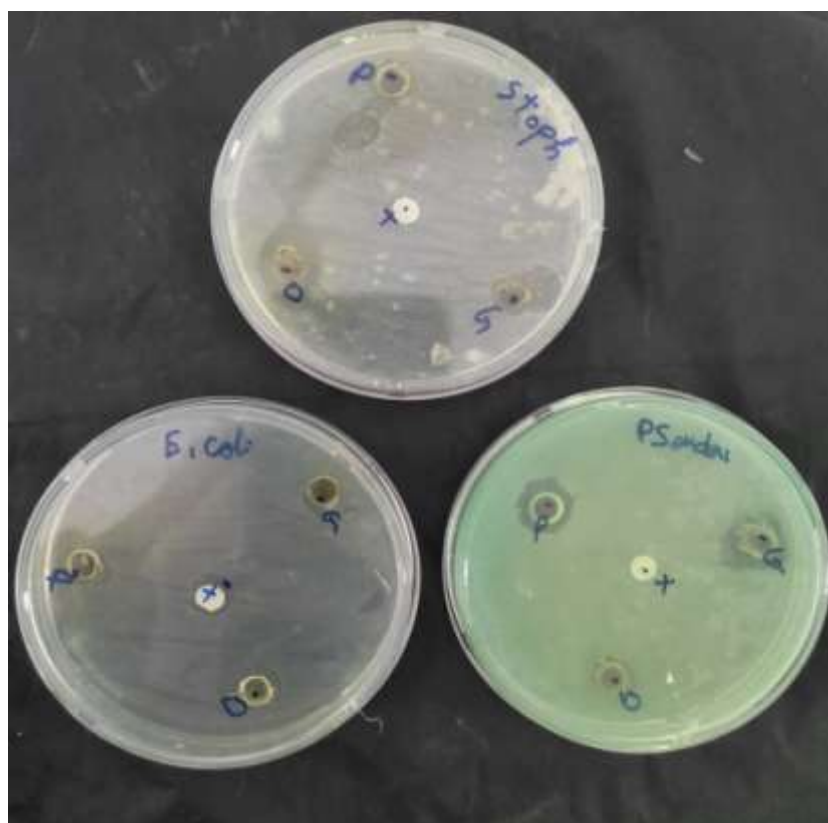


Figure20 : Résultats de l'activité antibactérienne des trois extraits bruts.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales produisent une large gamme de substances chimiques naturelles bioactives, connus pour leurs propriétés thérapeutiques. et restent la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale, en particulier dans les pays en voie de développement ou environ 40 % des médicaments sont dérivés de la nature.

L'objectif de ce travail consistait à la caractérisation phytochimique et l'évaluation des activités biologiques pour trois plantes médicinales de la flore algérienne à savoir *Physalis acutifolia*, *Glebionis coronaria var. coronaria*, *Ononis angustissima subsp. Polyclada*.

D'abord, un screening phytochimique, en tant qu'analyse qualitative, a mis en évidence la richesse de ces espèces en métabolites secondaires tels que les composés phénolique, les flavonoïdes, les saponines, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes, les coumarines, etc

Nous avons déterminé quantitativement, la teneur en phénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu, dans les extraits bruts éthanoliques obtenus par simple macération. Le dosage des flavonoïdes était effectué par la méthode d'AlCl₃, La teneur en phénols totaux, et en flavonoïdes est variable entre les trois plantes étudiées. La teneur la plus élevée des polyphénols est constatée pour *Ononis angustissima subsp. Polyclada* avec une valeur de 165,176 mg EAG/g, et celle de flavonoïdes est pour la plante *Physalis acutifolia* avec une valeur de 37,458 mg Qu E/g.

L'évaluation du potentiel antioxydant, par la technique de piégeage du radical DPPH, a révélé que l'activité antioxydante des extraits est plus importante pour *Glebionis coronaria var. coronaria*, suivie par *Physalis acutifolia*, et enfin *Ononis angustissima subsp. Polyclada*.

Au cours de cette étude nous avons également réalisé un test antibactérien vis-à-vis quelques germes pathogènes (*Pseudomonas*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*), les résultats ont montré que les trois extraits manifestent une activité antibactérienne avec les différentes souches bactérienne testé dans les trois extraits bruts des plantes étudiées.

Conclusion générale

On conclut que ce travail constitue une modeste mais efficace contribution à la valorisation de la flore de notre pays qui possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise comme un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières. Ainsi que des activités biologiques; antioxydants et antibactériennes qui demandent d'être exploitées, de ce fait, et comme perspectives on propose:

- Des travaux complémentaires sont alors nécessaires pour isoler et identifier les substances bioactives responsables des activités testées.
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- Développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes, doués des activités.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abderrahmane Mezrag, 2019. L'étude phytochimique et biologique des métabolismes secondaire de deux espèces de la famille des Fabaceae : *Ononis angustissima* Lam. Var et *Lotus corniculatus* L. Thèse Présentée en vue de l'obtention du diplôme du Doctorat en sciences , Université des freres Mentouri –Constantine Faculté des Sciences Exactes despartement de chimie ,p15.
- Ahmed, S., Yasmin, R., & Malik, A., (1999). New withanolide glucosides from *Physalis peruviana* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47, 477-480.
- Al-Aboudi , A., & Afifi, F. U.,(2011). Plants used for the treatment of diabetes in
- Al-Husseini, (1990) . Plantes médicinales cultivées par leurs composants, Bibliothèque Al-Sai Jeddah, p. 187.
- Allimuthu, M. et Vennila, M.,2005. Catalogue of Siddha Anti-Malarial Herbs, 2p.
- Amokrane Serine,2019.Evaluation du potentiel nutritif et antiméthanogénique des plantes médicinales (Asteraceae) par des procédés phytochimiques, biologiques et moléculaires.These de doctorat,l'Université des Frères Mentouri,p4,5.
- Ang-Lee MK, Moss J, Yuan CS. 2001.Herbal medicines and perioperative care. *JAMA*;286(2):208-16.
- Asma Khair et Zineb Zitouni., 2019. Evaluation de l'effet préventif de l'extrait aqueux d'*Ononis angustissima* contre la cardiotoxicité etl'hepatotoxicité induite par la Doxorubicine chez lessouris Swiss albinos. Mémoire de master, Université Mohamed Khider de Biskra,p3
- Atta-Ur-Rahman, M., HassanS., Coudhary M., NI, C., & CLARDY, J. (1995). Nigellidine: à new indazolealkaloidfrom the seeds of *Nigella sativa*.*Tetrahedronletters* (36), pp. 1993-1996.
- Barrero, A.F., Herrador, M.M., Arteaga, P., Rodriguez Garcia, I. 1993. Phytochemistry of the genus *Ononis* (Papilionaceae). Pharmacological importance. *Ars. Pharmaceutica*. 34, 47-63.
- Bate., Smithe, E.C., Swain, T .,1962. Flavonoide Compounds in comparative
- Beniston, N.T. and Beniston, W.S., 1984. Flore d'Algérie. Ed, entreprise Nationale du livre. Algerie, p.99
- Benkiki N., 2006. Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. Thèse de doctorat, Univ. HaDj Lakhdar, Batna.

Références bibliographiques

- Biesaga, M.; Pyrzyńska, K. 2013. Stability of bioactive polyphenols from honey during different extraction methods. *Food Chem.*, 136, 46–54
- Boizot N., Charpentier JP. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra* : p 79-82.
- Botineau, M. (2010). *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*, Tec& Doc (Eds.), Lavoisier.
- Bouheroum.M, Mezrage.A, Beghidja.N, Khalfaoui.A, Zaiter.L, Benayache.S, Benayache.F.,(2013). More flavonoids from the ethyl acetate extract of *Ononis Angustissima* species.
- Boumaza D., 2011. Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inula viscosa*, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran. Mémoire de magister, Univ. Mohamed Boudiaf, Oran. 39 p
- Bourgaud,F. (2013). Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière; Exemple de l'apport des sciences cognitives à la production /valorisation des métabolites secondaires d'intérêt . Unité mixte de recherche 1121 Université de Lorraine-inra, Nancy- colmar: Fondateur de la société Plant Advances Technologie
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. English.
- Bruneton,J. (1999). *Pharmacognosie. Phytochimie - plantes médicinales*. 3ème Edit. Paris.
- C. H. Zheng, T. H. Kim, K., Y. H. Leem, et H. J. Lee., 2004. Characterization of potent aroma compounds in *Chrysanthemum coronarium* L. (Garland) using aroma extract dilution analysis. *FlavourFragr. J.* 19(5):401 405
- Calogero G, Yum J-H, Sinopoli A, Di Marco G, Grätzel M, Nazeeruddin M K. 2012. Anthocyanins and betalains as light harvesting pigments for dye-sensitized solar cells. *Solar Energy*, 86(5): 1563- 1575, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.solener.2012.02.018>.
- Charpentier, B. (2004). *plantes aromatiques épice aromate condiment et huile essentielle*, Lavoisier.
- Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L., (2008). *Les polyphénols du raisin: Springer*. 6:75-82.
- Chooi Ong, H., 2008. *Vegetables for health and Healing*, Utusam, , 244p. conservation des plantes médicinales dans le sud-est du Nigeria. Thèmes de la biodiversité africaine , Le programme d'appui à la Biodiversité .
- Crete P. (1965) : *Précis de botanique* . Masson, , édition 2, Paris, P 429.

Références bibliographiques

- Daouda, T. (2015). *Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Cote d'Ivoire*. présentée pour l'obtention du titre de docteur en biologie humaine, Cote d'Ivoire: L'université Félix Houphouet-Boigny.p.05
- D'ARCY, W. G., RAKOTOZAFY, A. (1994). 176e Famille – Solanaceae , MORAT,P. H., Ministère de la Recherche Scientifique et Technologique pour le développement de Madagascar, Missouri Botanical Garden (Eds.), Flore de Madagascar et des Comores. Laboratoire de Phanérogamie. Paris, pp. 1–97.
- De Souza R.f., W.F., De Giovani., 2004. Antioxidant Properties of Complexes of Flavonoids with metal ions. Redox Report. 9(2), 97-104.
- Deffas Ferial., Achelache Faiza . ,2021.Activité anticoccidienne des plantes médicinales.Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de Master,Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila,Institut des Sciences et de la Technologie Département des Sciences de la Nature et de la Vie,p29.
- Djeghim, H. (2016). Etude phytochimique et biologique d'une plante médicinale Algérienne du Genre Genista (Fabaceae). Mémoire fin étude pour l'obtention du diplôme de master en Biochimie Moléculaire et santé, Université des Frères Mentouri Constantine, p.4, Pp.14-18.
- Djermane Nadia, 2014. Extraction des métabolites secondaires de plantes médicinales: *Pulicaria arabica* (L.) Cass. Et *Rhanterium adpressum* Coss et Durieu. Et evaluation de leurs propriétés bioactives.Memoire pour l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie Appliquée,Université Larbi Ben M'Hidi -Oum El Bouaghi.p4. 12p16
- E. Bursal, I. Gulcin, Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilized aqueous extract of kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*), *Food Res. Int.* 44 (2011) 1482 –1489.
- El Sheikha Aly,2010.Détermination de l'origine géographique des fruits du Karité et du *Physalis* par l'utilisation d'empreintes génétiques sur la communauté microbienne par PCR/DGGE. Analyse des propriétés biologiques d'extraits de fruits JURY.These pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ MONTPELLIER II.p8.p9,12.21,22.
- Evelyn Jeanette Wijaya1 et al.,2020. A Review of Phytochemical Properties and Therapeutic Activities of *Glebionia scoronari* .Indonesian Journal of Life Sciences,Vol. 02 | Number 02 | September (2020)
- Eymard. Y., 2003. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de doctorat, Univ. Nantes, France, 28-38 p.

Références bibliographiques

- Fabricant DS, Farnsworth NR.2001. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environ Health Perspect*;109 Suppl 1:69-75.
- FAO. FAOSTAT Crop Production Data for 2010.Available online: <http://faostat.fao.org> (accessed on 27 February 2012).
- Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, Soejarto DD, Guo Z. 1985.Medicinal plants in therapy. *Bull World Health Organ* ;63(6):965-81.
- Fatemeh Jamshidi-Kia, Zahra Lorigooini , Hossein Amini-Khoei. Medicinal plants: Past history and future perspective. *J Herbmед Pharmacol.* 2018; 7(1): 1-7. doi: 10.15171/jhp.2018.01
- Fatima et al .,2015.Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain.*Journal of Animal &Plant Sciences*, 2015.Vol.25, Issue 2: 3886-3897Publication date 2/6/2015, Morocco.
- Ferial,d et al., 2021. Activité anticoccidienne des plantes médicinales. Mémoire de master ,Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila,p35.
- Firenzuoli F, Gori L. 2007.Herbal medicine today: clinical andresearch issues. *Evid Based Complement ,Alternat Med.* 4(Suppl 1):37-40. doi: 10.1093/ecam/nem096.
- Flann,C. W. Greuter, et D. J. N. Hind.,2010. Cassini's Compositae genera: A nomenclatural and taxonomic assessment. *TAXON.* 59(4):1206–1244
- Fratianni, F., Tucci, M., De Palma, M., Pepe, R. et Nazzaro, F., 2007.« Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori) », *Food Chem,* , V. 104, 1282–1286.
- Gahbiche,S 2009. la phytothérapies, école supérieure des sciences et techniques de la sante de sousse.
- Gaussen H., Leroy F., 1982, Précis de botanique (Végétaux supérieurs). 2ème édition, 424- 426.
- Ghribi, L., Nejma, A. B., Besbes, M., Harzalla-Skhiri, F., Flamini, G., Jannet, H. B., 2016. Chemical composition, cytotoxic and antibacterial activities of the essential oil from the Tunisian *Ononis angustissima* L. (Fabaceae).*J. Oleo. Sci.* 1-6.
- Global Facilitation Unit for Under utilized Species (GFU). Available online: <http://www.underutilized-species.org/> (accessed on 31 July 2014).
- Greenish H. (1880). Contribution of the chemistry of *Nigella sativa* (Vol.10). *Parmac J Trans.*
- Halberstein RA.2005. Medicinal plants: historical and crosscultural usage patterns. *Ann Epidemio*;15(9):686-99. doi: 10.1016/j.annepidem.2005.02.004.

Références bibliographiques

- Hanebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). *Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif*. phytothérapie Numero1:3-6.
- Hartmann T., 2007. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry* 68: 2831 - 2846.
- Heywood, V.H. (1996). *Les Plantes à Fleurs - 306 Familles de la Flore Mondiale*. Paris, France: Nathan.
- Institut Européen des Substances Végétales (page consultée le 15/10/08).
- Iserin P, Masson M, Restellini JP., (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales* (2ème Ed), Dorling Kindersley Limited (Berlin) .pp : 239.
- Jaime A. et Teixeira. Da Silva., 2004. Mining the essential oils of the Anthemideae. *Afr. J. Biotechnol.* 3(12):706-720.
- Janet Long Towell, 2001. *UNA SEMBLANZA DE LAS SOLANACEAE* . Instituto de Investigaciones Históricas, UNAM. Coyoacán, México, D.F. *Etnobiología* 1:18-24, México.
- Jean Yves Chabrier. 2010. *Plantes médicinales et forme d'utilisation en phytothérapie*. Sciences pharmaceutiques. hal-01739123, p23
- Jonathan Okafor et Rebecca Ham., 1999. Identification, utilisation et jordan : A review of science evidence. *Pharmaceutical biology*, 48(3), 221-239.
- Junaid R Shaikh and MK Patil. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of chemical studies*. 2020 ; 8(2) :603-608.
- Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z.B. and Benlabed K. (2005). Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *International journal of aromatherapy*, 15, 129-133.
- Khellaf Rebbas, 2018. Première observation de *Physalis acutifolia* (Solanaceae) dans la région de M'Sila (Algérie), nouvelle pour l'Afrique du nord. Version of Record published online on 21 February 2018. p24.
- Korkina L.G., Afanas'ev I.B., 1997. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv. Pharmacol.* 38, pp.151-163.
- Kumar R, Sharma S, Devi L. 2018. Investigation of Total Phenolic, Flavonoid Contents and Antioxidant Activity from Extract of *Azadirachta indica* of Bundelkh and Region. *International Journal of Life Sciences and Scientific Reserch.*, 4(4):1925-1933.
- Lahat Niag et al ., 2021. Composition en métabolites secondaires et en minéraux de deux plantes médicinales : *Bauhinia rufescens* Lam et *Sclerocaryabirrea* (A.Rich.) Hochst. *Afrique SCIENCE* 19(2) (2021) 126 - 135 126, Sénégal.

Références bibliographiques

- Landrum, L. R., Barber, A., Barron, K., Coburn, F. S., Sanderford, K. & Setaro, D., 2013 : Vascular Plants of Arizona: Solanaceae Part Four : Physalis L. and Quincula Raf. Ground Cherry, Tomatillo. – *Canotia* 9: 1-12.
- Leroi-Gourhan A.1968. Le Néanderthalien IV de Shanidar. *Bulletin de la Société préhistorique française.Comptes rendus de séances mensuelles*, Vol. 65, 3, 79-83.
- Li AL et al.2018. Physalis alkekengi L. var. franchetii (Mast.) Makino: an ethnomedical, phytochemical and pharmacological review. *J Ethnopharmacol*; 210: 260–274.
- Lograda, M. Ramdani, P. Chalard, G. Figueredo, Hafsa Silini, et Meriem Kenouf. Chemical composition, antibacterial activity and chromosome number of Algerian populations of two chrysanthemum species. *Appl. Pharm. Sci.* 3(8):6-11. 2013.
- Maataoui.BS, Hunyur.A,Hilalis., 2006. Activités antiradicalaires d'extraits de jus de fruits de Figuier de Barbarie (Opuntia Ficus Indica).Lebanese Scienc Journal.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed, les presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, France. pp.86-87 : 203-204.
- Mamedov, N., Gardner, Z., Craker, L.E., 2005. Medicinal plants used in Russia and Central Asia for the treatment of selected skin conditions. *J. Herbs. Spices.Med. Plants.* 11,pp. 191-222.
- Menat,E. (2006).Les polyphénols de thé, du vin et du cacao. *Phytothérapie*, Numéro 1 :540-545
- Mergham. R. 2009. :Eléments de biochimie vegetale, Bahaeddine, Editions,Algérie, 45(5), 421-428.
- Mhamdi, B., Abbassi, F., Abdelly, C., 2015. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal *Ononis natrix* growing wild in Tunisia. *Nat. Prod. Res.* 29, 1157-1160.
- Mohamed Bouheroum, 2007. Etudephytochimique des plantes medecinales algeriennes *Rhantherium adpressum* et *ononis angustissima*.Thèse de Doctorat d'Etat En Chimie Organique Option : Phytochimie,Université Mentouri de Constantine Faculté des Sciences Exactes Département de Chimie,p10,11,15.
- Murrell P. Sell et G. 2006.Flora of great Britain and Ireland, Campunulaceae Asteraceae.
- Narayan M R, 2012. Dye sensitized solar cells based on natural photosensitizers. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(1): 208-215, doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.148>.

Références bibliographiques

- Nawel Reggadi, 2021. Evaluation des effets thérapeutiques de l'extrait d'ononis aungustissima chez des rats wistar adultes intoxiqués par L'aluminium (Etude chimique). *International Journal of Human Settlements* Vol. 5 Nr. 2 2021 ISSN: 2588-1779 p17.
- Oleszek, W., Stochmal, A., 2002. Triterpene saponins and flavonoids in the seeds of *Trifolium* species. *Phytochemistry* 61, pp.165–170.
- Olmstead, R.G., Bohs, L, Abdel Migid, H., Santiago-Valentin, E., Garcia, V.F., Collier, S.M., 2008. A molecular phylogeny of the Solanaceae. *Taxon*, 57, 1159–1181.
- Olounladé P, Hounzangbé-Adoté M, Azando E, Ha TT, Brunet S, Moulis C, Fabre N, Fouraste I, Hoste H, Valentin A. 2011. Etude in vitro de l'effet des tanins de *Newbouldia laevis* et de *Zanthoxylum zanthoxyloides* sur la migration des larves infestantes de *Haemonchus contortus*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(4): 1414-1422. doi: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i4.8>.
- Ozenda, P., 1958. Flore de Sahara Septentrional et Centrale. p. 486.
- Padrini F. et Lucheroni M.T. (1996). *Le grand livre des Huiles Essentielles- guide pratique pour retrouver vitalité, bien être et beauté avec les essences et l'aromassage. Energétiques avec plus de 100 photographies.* Ed de Vecchi, Paris.
- Paris. R. et Moyse. M., 1965 « Précis de matière médicale », Masson édit, Paris, 450p.
- Phillipson JD. 2001. *Phytochemistry and medicinal plants.* *Phytochemistry*, 56(3):237-43.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. et Gordon M., 2001. « Antioxidants in Food: Practical Applications », Woodhead Publishing, England, 7–21.
- Quattrocchi U., 1999, *CRC World Dictionary of Plant Names: Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms and Etymology.* Volume 1, CRC, Press, 728.
- Quezel P., Santa S., 1963. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales.* Tome 1, CNRS, Paris.
- Randhawa, G. S., & Mukhopadhyay, A. (1986). *Floriculture in India.* Allied Publishers.
- Raven, P. H., Evert, R. F., & Eichhorn, S. E. (2003). *Biologie Végétal.* p32,527.
- Reguieg L. 2011. Using medicinal plants in Algeria. *American journal of food and nutrition*, 1 (3), 126-127.
- Reguieg, L. 2011. Using medicinal plants in Algeria. *American journal of food and nutrition*,. 1 (3), 126-127.

Références bibliographiques

- Rezine Fethi et Fedouche Mohammed Selem.,2017.Coumarines à intérêt thérapeutique : Synthèse et contrôle analytique. Université Abou Beker Belkaid Faculté de médecine DR. B. BEN ZERDJ EB – Tlemcen,Mémoire de fin d'étude pour L'obtention de diplôme de Docteur en pharmacie, p20
- Ribéreau-Gayon, P. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Paris, France : Dunod.
- Roux D.et Catier O. (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie : Paris 3^e édition. Pp113. ISBN: N 2915585520.
- Saliha Besbas, 2020. Métabolites secondaires de *Ononis mitissima* L. (Fabaceae) et évaluation biologique. These de doctorat ,Université Hadj Lakhdar - BATNA 1,p3.
- Samuels, J. 2009. The Solanaceae-novel crops with high potential. *Org. Grow.*, 9,pp. 32-34.
- Sassi, A. B., Harzallah-Skhiri, F ., &Aouni, M., (2007). Investigation of some medicinal plants from tunisia for antimicrobial activities. *Pharmaceutical biology*,
- Schneider, A & Huyghe, C. (2015). Les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires durables. Paris, France :Quæ.
- Singh JS.2002. The biodiversity crisis: A multifaceted review. *Curr Sci.*;82(6):638-47.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, pp. 152-178.
- Smith, F. (2004). *Handbook of Forensic Drug Analysis* (1^e éd.). New York, USA: Elsevier academic press.
- Solecki R, Shanidar IV.1975. a Neanderthal flower burial in Northern Iraq. *Science*. ,190(4217):880-1. doi: 10.1126/science.190.4217.880
- Sprent, J.I & Mc Key, D., (1995). *Advances in Legume Systematics, the Nitrogen Factor* (vol.5).Kew, UK: Royal Botanic Gardens.
- Stojković, D., Dias, M. I., Drakulić, D., Barros, L., Stevanović, M., CFR Ferreira, I., D Soković, M., 2020. Methanolic Extract of the Herb *Ononis spinosa* L. Is an Antifungal Agent with no Cytotoxicity to Primary Human Cells.*Pharmaceuticals*,p 13.
- Süntar, İ., Baldemir, A., Coşkun, M., Keleş, H., Akkol, E. K., 2011. Wound healing acceleration effect of endemic *Ononis* species growing in Turkey. *J Ethnopharmacol*. 135, 63-70.
- Talib, W. H., Mahasneh, A. M., 2010. Antiproliferative activity of plant extracts used against cancer in traditional medicine. *Sci. Pharm.* 78,pp. 33-45.

Références bibliographiques

- Thompsen J. C., et Mottola H. A., 1984. Kinetics of the complexation of iron (II) with ferrozine. *Analytical Chemistry*. 56(4), 755-757.
- Tyler, N. J., L. V. Gusta and D. B. Fowler (1981). "the influence of nitrogen, phosphorus and potassium on the cold acclimation of winter wheat (*Triticumaestivum* L.)." *Canadian Journal of Plant Science* 61(4): 879-885.
- Verma S, Singh SP. 2008.Current and future status of herbal medicines. *Vet World*.;1(11):347-50. doi: 10.5455/ vetworld.2008.347-350.
- William G. H. ,(2003).*Physiologie végétale* ,Éditeur, De Boeck Supérieur, p282.
- Williams C.A., Grayer R .J., 2004. Anthocyanin and other flavonoide.*Nat .Prod .Rep.* 21(4), 539-573.
- Wojciechowski, M.F., Lavin, M & Sanderson, M.J. (2004). A phylogeny of Legumes (Leguminosae)based on analysis of the plastid MATK gene resolves many well-supported subclades within thefamily. *American Journal of Botany*, 91(11), 1846-1862.
- www.its.gov
- Yves-Alain BÉKRO, Janat A. MAMYRBEKOVA BÉKRO, Boua B. BOUA, Fézan H. 2007.TRA BI2 et Ehouan E. ÉHILÉ. Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (*Caesalpiniaceae*).*Sciences & Nature* Vol. 4 N°2 : 217 - 225.
- Zerrouki nawale ,2009.Contribution a l'étude phytochimique de la plante *Tetraclinis articulata* , activite Biologique et Biochimique de la plante, Mémoire pour l'obtention de diplôme de Magister,Université d'Oran,p16.
- Zhang W-N, Tong W-Y., 2016.Chemical constituents and biological activities of plants from the genus *Physalis*.*ChemBiodivers* , 13: 48–65
- Avilala, Janardhan, Arthala, Praveen, Kumar, Buddolla, Viswanath, Saigopal et Golla.(2013).*inomynarasimh .Production of bioactive Compounds by actinomycetes and therantioxidant Properties.* 217030,8.
- Yi Z., Yan Y., Liang Y., and Zeng B. (2008). *In vitro antioxidant and antimicrobial activities of PericarpiumCitriReticulatae of a new Citrus Cultivar and its main flavonoid.**LWT.* 41:597 603.

Annexes

Annexes

Annexe 01: Catalogue des plantes sélectionnées

Les parties utilisées : FL = fleur ; T = tige ; F = feuille ; FR = fruit ; PA = partie aérienne

Famille	Nom botanique	Nom local	Organes utilisés	Utilisation traditionnelle
Solanaceae	<i>Physalis acutifolia.</i>		PA : T+FR+F+FL	Traitement des abcès, la toux, fièvres.....



Famille	Nom botanique	Nom local	Organes utilisés	Utilisation traditionnelle
Asteraceae	<i>Glebionis coronaria var. coronaria.</i>	Mourara Rezaima	PA : T+FL+F	Traitement des cystite et des rétentions d'eau..



Annexes

Famille	Nom botanique	Nom local	Organe utilisés	Utilisation traditionnelle
Fabaceae	<i>Ononis angustissima</i> subsp. <i>Polyclada</i> .		PA : T+FL+FR+F	Traitement des infections des voies urinaire



Annexes

Annexe 02: les besoins de mémoire

Tableau : Liste d'Appareils ,Verreries et des produits

Le matériel nécessaire	Les produits nécessaire	
Bain-marie	Carbonate de bismuth	tartrate de potassium et de sodium
Agitateur avec chauffage	Iodure de sodium	NaOH
Lampe UV	Acide acétique	HCl
Papier filtre	Acide acétique glacial	H ₂ SO ₄
Eprouvette graduéede 20 ml	Acetate d'éthyle	Méthanol
Bécher de 20,50,100,1000 ml	Citrate de sodium	KOH
Tube à essai.	Iodure de potassium	Ethanol
Balance	Carbonate de sodium	Chloroforme
Pipette Pasteur	Sulfate de cuivre	acétate d'ammonium
Pipette graduée de 10	Iode	l'alcool isoamylique
Eau distillée	acétate de cuivre	Ammoniaque
Pipette graduée de 20ml	Benzène	Sulfate de cuivre
Bécher de 50ml	Ether	NaCl
Bécher de 100ml	FeCL ₃	hydroxyde d'ammonium
Bécher de 1000 ml	NaOH	hydroxyde de sodium
Ratavapor	acide nitrique	pastilles de KOH
Vortex		Tartrate de sodium

Annexe 03: Composition des réactifs utilisés pour l'étude phytochimique

❖ **Réactif de Dragendorff** : Réactif de Dragendorff en milieu acétique dont la composition est :

Solution mère : mélanger 10 ml de solution A, 10 ml de solution B, 20 ml d'acide acétique glacial et 100 ml d'eau distillée.

Solution A : dissoudre 2 g de nitrate de bismuth dans 25 ml d'acide acétique glacial et ajouter 100 ml d'eau distillée.

Solution B : dissoudre 40 g d'iodure de potassium dans 100 ml d'eau distillée. (Smith, 2004)

❖ **Réactif de Benedict** :

Préparation de la solution A : dans un bécher, on mélange dans 800 ml d'eau distillée, 173 g de citrate de sodium avec 100 g de carbonate de sodium. On fait dissoudre le mélange puis on le fait bouillir pour rendre la solution claire.

Préparation de la solution B : on fait dissoudre dans un bécher, 17,3g de sulfate de cuivre dans 100 mL d'eau distillée.

Solution de travail : on mélange dans un bécher la solution A et la solution B (Shaikh et Patil, 2020).











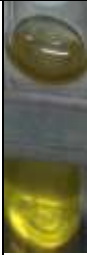





Annexe 04 : Solutions chimiques

Solutions chimiques	Compositions	Quantités
Sulfate de cuivre	CuSO₄ H₂O	2.5g 100mL
Acide chlorhydrique 4%	HCl H₂O	4mL 96mL
Hydroxyde de sodium	NaOH H₂O	4g 100mL
Chlorure de ferrique	FeCl₃ H₂O	41g 100mL
Ammoniaque 10%	NH₄OH H₂O	10mL 100mL
Hydroxyde de potassium 5%	KOH H₂O	5g 25mL
Iode	KI H₂O	1.66g 50mL













Annexes

Annexe 05: résultats des tests phytochimiques préliminaires.






Physalis acutifolia.

								
Alcaloïdes	Glucides	Sucres réducteurs		Glycosides	Glycosides cardiaques	Protéines et des AA	Flavonoïdes	Composés phénolique
								
Braymer	NaOH 10%							
Tannins	Saponines	Phytostéroles	Terpinoïde	Acide carboxylique	Coumarines	Resines		














Glebionis coronaria var. coronaria.

					
Glucides	Benedict	Fehling	Glycosides	Glycosides cardiaques	Protéines et des AA
					
Flavonoïdes	Eau chaud	Iode	Braymer	NaOH 10%	Phytostéroles
	Composés phénolique		Tannins	Saponines	

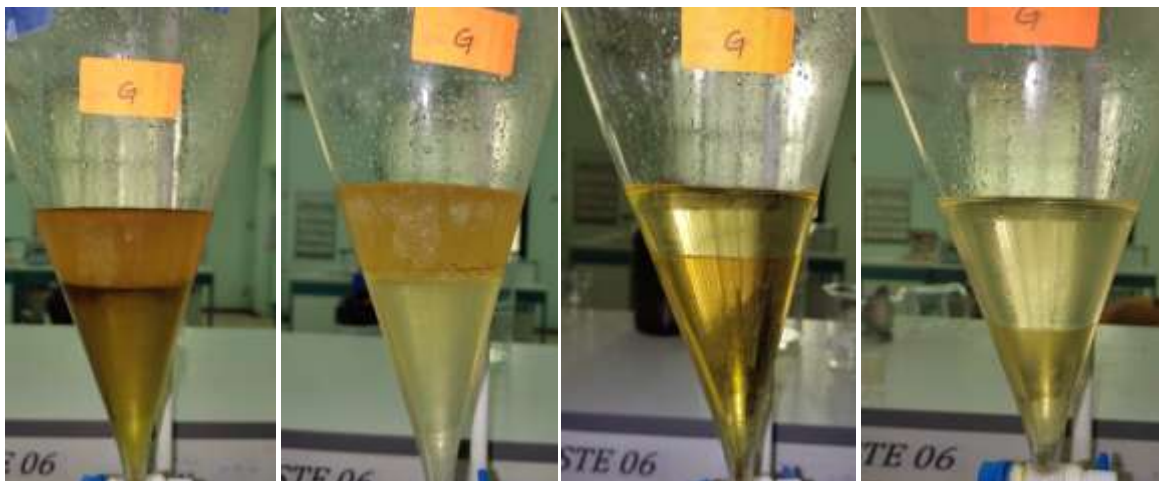
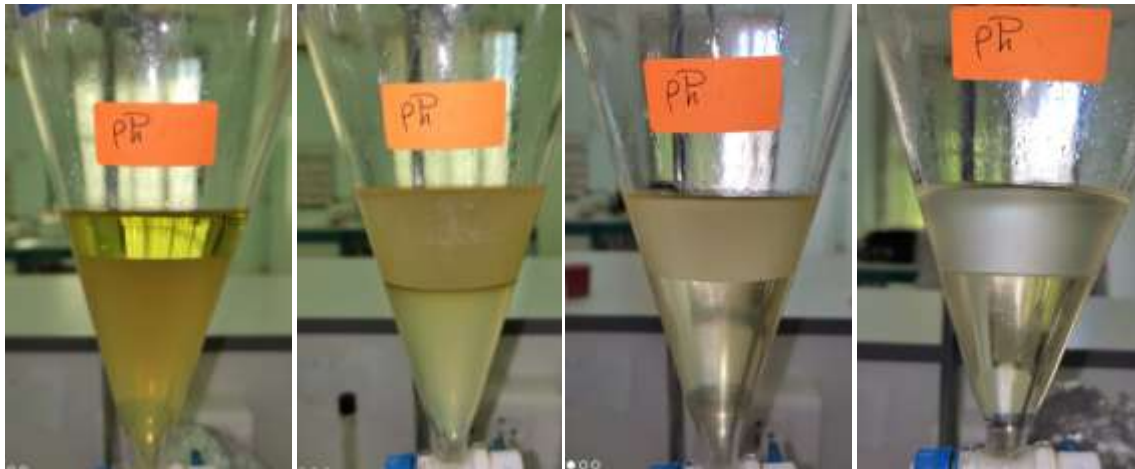
Annexes

				
Terpinoide	Acide carboxylique	Coumarines	Resines	Huiles et graisses fixes

Ononis angustissima subsp. Polyclada.

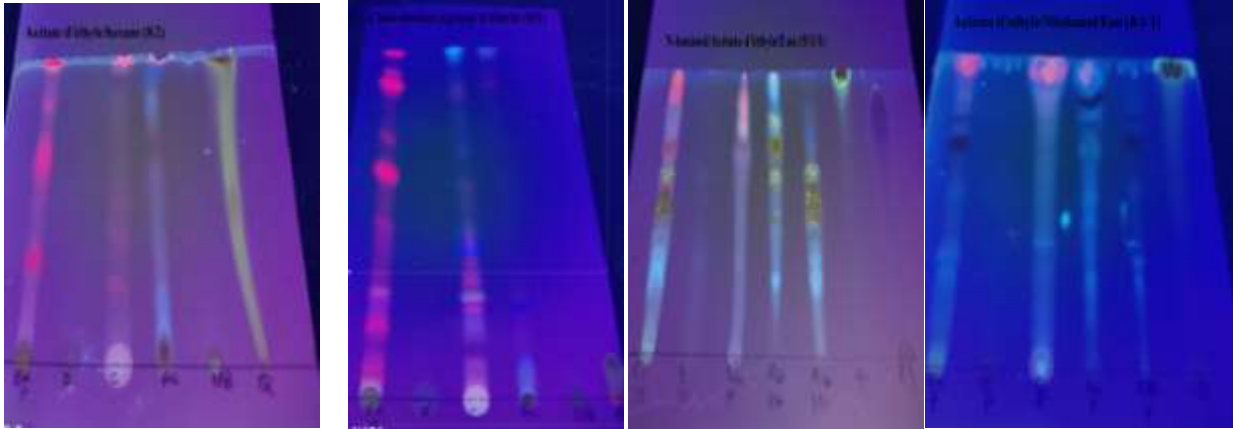
				
Alcaloïdes	Glucides	Sucres réducteurs	Glycosides	Glycosides cardiaques
				
Proteins et des AA	Flavonoïdes	Iode Eau chaud Composés phénoliques	Saponines	Phytostérols
				
Coumarines	Resines	Huiles et graisses fixes		

Annexe 06 : Extraction liquide liquide les quatre phase des trois plantes étudiées (*P.acutifolia*, *G.coronaria*, *O.angustissima*)

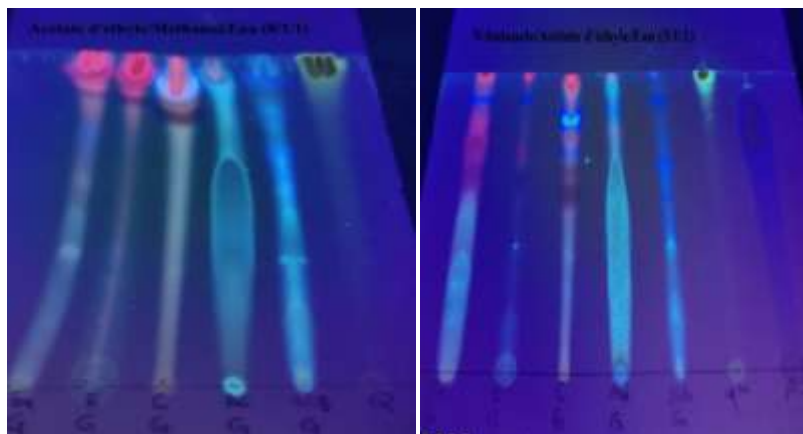


Annexe 07: Résultats des analyses chromatographique des différents extraits (système)

Physalis acutifolia.



Glebionis coronaria var. coronaria.



Ononis angustissima subsp. Polyclada.

