



MEMOIRE

Présenté

A LA FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

Pour obtenir

Le Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie (DES)

OPTION : **BIOCHIMIE**

Par

BOUKHALAT W.et DJEAIYOU F.

THEME :

**Evaluation de l'activité antioxydante de quelques plantes spontanées
médicinales de la région de M'sila
(*Globularia alypum* L, *Eucalyptus globulus* Labill, *Neurium oleandre* L)
et l'activité antifongique de *Globularia alypum* L.**

BOUDJELAL A.

MACA

Encadreur

SARI M.

MCB

Examineur

Promotion : 2010 / 2011

DES BIOCHIMIE - DES BIOCHIMIE - DES BIOCHIMIE - DES BIOCHIMIE - DES BIOCHIMIE



MEMOIRE

Présenté

A LA FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

Pour obtenir

Le Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie (DES)

OPTION : **BIOCHIMIE**

Par

BOUKHALAT W.et DJEAIYOU F.

THEME :

**Evaluation de l'activité antioxydante de quelques plantes spontanées
médicinales de la région de M'sila
(*Globularia alypum* L, *Eucalyptus globulus* Labill, *Neurium oleandre* L)
et l'activité antifongique de *Globularia alypum* L.**

BOUDJELAL A.

MACA

Encadreur

SARI M.

MCB

Examineur

Promotion : 2010 / 2011

DES BIOCHIMIE - DES BIOCHIMIE - DES BIOCHIMIE - DES BIOCHIMIE - DES BIOCHIMIE

Remerciement

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers notre **Dieu** Le Tout Puissant de nous avoir guidés dans la réalisation de ce modeste travail à bout.

Ce mémoire n'aurait pu voir le jour sans la participation de nombreuses personnes, nous allons essayer à trouver les mots justes pour exprimer spécifiquement nos reconnaissances à tous.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, et notamment à **Mme BOUDJELAL Amel** pour son aide constante et ses précieux conseils pendant toute la durée de ce travail. Nous avons été très contentes d'avoir réalisé notre rêve de travailler avec vous. Merci

Notre sincères remerciements à la plus belle personne **BAALI Faiza** pour sa bonne humeur, sa simplicité et sa générosité .à **M'elle Sara Delloum** pour l'encouragement.

A notre examinateur : vous avez accepté, prendre de votre temps, pour juger cette thèse. Tous nos remerciements.

A Ferhat Maroua et Lehouaou Amel Pour l'accueil chaleureux que vous nous avez toujours réservées dans votre laboratoire .Nous ne saurions oublier tous nos ingénieurs du Laboratoire biochimie et microbiologie

Nous tenons à remercier à monsieur **Handel .N** et le chef de département de biologie **Mr Sari.M**

Enfin, nos remerciements à nos proches collègues et surtout la promotion 2011 option Biochimie.

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I: Ethnopharmacologie	
I.1. Définition de la phytothérapie.....	02
I.2. Les composants de la phytothérapie.....	02
I.2.1. L'aromathérapie.....	02
I.2.2. La gemmothérapie	02
I.2.3. L'herboristerie.....	03
I.2.4. L'homéopathie.....	03
I.2.5. La phytothérapie pharmaceutique.....	03
I.3. Intérêt de la phytothérapie.....	03
I.4. Les plantes médicinales.....	03
I.4.1. Définition des plantes médicinales.....	04
I.4.2. Les éléments actifs des plantes médicinales.....	04
I.4.2.1. Les flavonoïdes.....	04
I.4.2.2. Les saponosides.....	04
I.4.2.3. Les alcaloïdes.....	05
I.4.2.4. Les phénols.....	05
I.4.2.5. Les tanins.....	05
I.4.2.6. Les coumarines.....	05
I.4.2.7. Les anthocyanes.....	05
I.4.2.8. Les huiles essentielles.....	06
Chapitre II: L'activité antioxydante et antifongique	
II.1. Quelques plantes antioxydante.....	07
II.1.1. <i>Globularia alypum</i> L.....	07
II.1.1.1. Description botanique.....	07
II.1.1.2. Systématique.....	07
II.1.1.3. Propriétés thérapeutique.....	07
II.1.2. <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.....	08
II.1.2.1. Description botanique.....	08
II.1.2.2. Systématique.....	08
II.1.2.3. Propriétés thérapeutique.....	08
II.1.3. <i>Neurium oleander</i> L.....	09
II.1.3.1. Description botanique.....	09
II.1.3.2. Systématique.....	09

II.3.3.2. Propriétés thérapeutique.....	09
II.2. L'activité antioxydante.....	
II.2.1. Définition d'un antioxydant.....	10
II.2.2. Mécanisme d'action des antioxydants.....	10
II.2.3. Mesure de l'activité antioxydante par le test de DPPH.....	10
II.3. L'activité antifongique.....	11
II.3.1. Généralité sur les champignons.....	11
II.3.2. Méthode de diffusion sur agar.....	12
Chapitre III: Matériels et méthodes.....	
III.1. Matériels végétaux.....	13
III.2. Champignons.....	13
III.3. Préparation des extraits.....	13
III.4. Tests phytochimiques.....	14
III.4.1. Tanins.....	14
III.4.2. Saponosides.....	14
III.4.3. Flavonoïdes.....	14
III.5. Les activités biologiques.....	14
III.5.1. L'activité antioxydante.....	14
III.5.2. L'activité antifongique.....	15
Chapitre IV :Résultats et discussion.....	
IV.1. Rendement de l'extraction.....	16
IV.2. Analyse phytochimique.....	16
IV.3. Mesure de l'activité antioxydante par le DPPH.....	117
IV.4. Mesure de l'activité antifongique	17
IV.5. Discussion	18
Conclusion.....	
Bibliographie.....	
Annexe.....	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01	Rôle de quelques éléments actifs des plantes.	06
Tableau 02	Les résultats de rendement obtenus après l'extraction par soxhlet.	16
Tableau 03	Les différents résultats des tests photochimiques.	16
Tableau 04	Pourcentage d'inhibition des radicaux libres des trois plantes.	17
Tableau 05	Résultats de l'activité antifongique de l'extrait.	17
Tableau 06	Effet inhibiteur de l'extrait de <i>Globulariaaल्पum</i> sur les cultures de champignons.	18

LISTE DES FIGURES

Figure 01	<i>Globulariaaल्पum</i> L.	07
Figure 02	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	08
Figure 03	<i>Neuriumoleander</i> L.	09
Figure 04	Structure du DPPH.	11
Figure 05	Montage d'un extracteur soxhlet	

Introduction

Introduction

L'histoire des plantes médicinales est associée à l'évolution des civilisations.

Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupées une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires.

La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs principes actifs. Ces dernières sont des produits à forte valeur ajoutées, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires, grâce à l'étude des activités biologiques et biotechnologiques des extraits de plantes [1].

Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S), la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique ou mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmise de génération en génération [2].

Notre étude comporte d'une part, une synthèse bibliographique qui s'intéresse à la phytothérapie et à l'activité antioxydante.

Et d'une autre part, une étude pratique qui comporte l'évaluation de l'activité antioxydante de trois plantes de la région de M'sila. Ensuite l'extrait méthanolique de l'une des trois plantes a été utilisé pour un test de l'activité antifongique.

Chapitre I
Ethnopharmacologie

Depuis des millénaires de nombreuses plantes sont utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques. Elles font partie de l'héritage traditionnel et médical de tout le peuple.

Il y'a environ 500.000 plantes sur terre 10.000 d'entre elles, environ, possèdent des propriétés médicinales. La majorité de ces plantes ont fait l'objet de recherches et agissent efficacement sur la sante.

De nos jours environ 20.000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. En effet 75 % des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale [3].

I.1. Définition de la phytothérapie

La phytothérapie est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels ou certains états pathologiques au moyen de plantes, des parties de plantes ou de préparations à base de plantes [4]. Donc c'est le traitement des maladies par les plantes fraîches ou desséchées ainsi que leurs extraits naturels [5].

I.2. Les composants de la phytothérapie

Elle inclut l'aromathérapie, la gemmothérapie, l'herboristerie, l'homéopathie, la phytothérapie pharmaceutique [6].

I.2.1. L'aromathérapie

Dérive du latin « *Aroma* » préfixe qui signifie « agréable odeur ». C'est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques sécrétées par de nombreuses familles de plantes. Ces huiles essentielles sont des produits complexes à utiliser avec précaution, car ils ne sont pas totalement sans danger [6].

I.2.2. La gemmothérapie

Elle dérive du latin « *Gemma* » bourgeons des plantes. Se fonde sur l'utilisation d'extraits alcooliques et glycinés de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les racelles appartenant à environ 60 plantes différentes. Les préparations sont présentées diluées au dixième [6].

I.2.3. L'herboristerie

Elle correspond à la méthode de la phytothérapie la plus classique et la plus ancienne, elle est de nos jours reprise en considération. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; elle

utilise soit la plante entière, soit une partie de celle –ci (écorce, fleur, fruit, racine). La préparation repose sur des méthodes simples les plus souvent à base d'eau : (décoction, infusion ou macération). Ces préparations sont bues ou inhalées, appliquées sur la peau ou ajoutées à l'eau d'un bain [6].

I.2.4. L'homéopathie

Elle a recourt aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive : les trois quart des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale [6].

I.2.5. La phytothérapie pharmaceutique

Elle utilise des produits d'origine végétale obtenus par extraction et qui sont dilués dans l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantité suffisante pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés comme toute autre spécialité sous forme de sirop, gouttes, suppositoires, gélules, lyophilisats, nébulisats (extraits de plantes desséchées par la chaleur) etc. [6].

I.3. Intérêt de la phytothérapie

La phytothérapie connaît de nos jours un regain d'intérêt dans le domaine des maladies internes, en dermatologie, en cosmétologie et en balnéothérapie (bain, compresses). Ce fait est en relation étroite avec les récentes découvertes dans le domaine de la biochimie, la pharmacognosie et la physiologie des substances isolées à partir de plantes réputées pour leurs vertus médicinales[7].

I.4. Les plantes médicinales

Depuis longtemps, les plantes sont utilisées en médecine populaire. Pour leurs propriétés thérapeutiques [5].

I.4.1. Définition des plantes médicinales

On appelle plante médicinale toutes plantes renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Une plante est dite médicinale lorsque « au moins une partie possède une propriété médicamenteuse » [5].

L'identité de la plante médicinale est exigée par la pharmacopée et implique la connaissance de la dénomination scientifique exacte (nom français, latin, du genre, de l'espèce) c'est la seule façon d'éviter la confusion entre les espèces [7].

I.4.2. Les éléments actifs des plantes médicinales

Le métabolite secondaire est un composé généralement de faible poids moléculaire, qui n'a pas de fonctions apparentes et vitales à l'organisme qui le produit.

La recherche bibliographique réalisée sur cet axe montre que la majorité des études phytochimiques effectués sur les plantes certifie la richesse ainsi que la diversité structurale de ces derniers en métabolites secondaires tel que : les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les terpènes, les phénols, les anthocyanes, les quinones et les coumarines [7].

I.4.2.1. Les flavonoïdes

Ce sont des pigments jaunes généralement polyphénoliques, très répandus chez les végétaux, ils sont le plus souvent sous formes d'hétérosides ou de flavonosides. Ils sont abondants chez les plantes supérieures particulièrement dans certaines familles tel que les: Rutacées, Polygonacées, Légumineuses, Ombellifères et Composées. Présentent dans tous les organes aériens. Ils ont une teneur maximale dans les organes jeunes (feuilles et boutons floraux)[8].

I.4.2.2. Les saponosides

Dont le nom dérive mot latin « *sapo* » signifie savon [4]. Sont des hétérosides de stérols ou de triterpènes [8]. Ils sont définies comme des substances végétales de nature glucosidique [9]

I.4.2.3. Les alcaloïdes

Composées organiques azotées et basique, ils sont exclusivement d'origine végétale dont la molécule renferme au moins un atome d'azote salifiable, tous les alcaloïdes ont une action physiologiques intense. On dénombre à ce jour plus de 3000 alcaloïdes, aux propriétés pharmacologiques souvent importantes [11].

I.4.2.4. Les phénols

Se sont de Petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle. Elles peuvent être également estérifié, étherifier, et liée à des sucres sous formes d'hétérosides [4].

I.4.2.5. Lestannins

Ce sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau c'est-à-dire de la rendre imputrescible ; cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines et aux alcaloïdes dans vacuoles [4].

I.4.2.6. Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom « Coumarou » nom vernaculaire de la fève « Tonka » d'où fut isolée en 1820 la coumarine, elles sont dérivées de la benzo- α -pyrone que l'on peut considérer en première approximation, comme étant les lactones des acides Hydroxycinnamique, plus d'un millier de coumarines ont été décrites et les plus simples d'entre elles sont largement distribuées dans tout le règne végétal. Elles sont surtout présentes et abondantes dans la famille ombellifère [7].

I.4.2.7. Les anthocyanes

Ce sont des composés hydrosolubles de teinte rouge, violette ou bleue. Ils colorent généralement les fleurs, fruits et parfois les feuilles. Ils sont présents dans la nature uniquement sous forme de hétérosides appelés anthocyanines ou anthocyanidines [8].

I.4.2.8. Les huiles essentielles

Essences aromatiques et concentrées des plantes, sont des corps généralement volatiles d'origine végétale on les rencontre soit perforées, soit combinées sont comptés parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles donnent aux plantes une saveur, et une partie de leurs vertus médicinales [12].

Le tableau ci-dessous représente les rôles de quelques métabolites secondaires.

Tableau 1: Rôle de quelques éléments actifs des plantes.

Composé	Rôle
Flavonoïdes	Ce sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse ; leur action se situe au niveau de petites veines ou des capillaires, elles sont des protecteurs capillaires et des toniques veineux [8].
Anthocyanes	Propriétés vitaminiques, atoxiques, dans le traitement de certaines maladies vasculaires, régénération du pourpre rétinien, certains anthocyanes sont des colorants des végétaux autorisés à usage pharmaceutique et alimentaire [8].
Tanins	Antiseptiques, antibiotiques, anti-inflammatoires et anti-diarrhéique [11].
Saponosides	Propriétés tensioactives et aphrogènes (pouvoir moussant) [8].
Alcaloïdes	Certains agissent au niveau de système nerveux centrale (excitants ou dépresseurs), d'autres sur le système nerveux autonome, anti-tumorale, et antiprotozoaires [8].
Phénols	Antiseptiques, anti-analgique anti-inflammatoires [4]
Coumarine	Action vitaminique, on les emploie ainsi que leurs dérivés contre les troubles veineux [4].
Huiles essentielles	Antiseptique, antifongiques, antibiotique, facilitent la respiration en cas d'évaporation, et désintoxiquant [12].

Chapitre II
L'activité antioxydante et
antifongique

II.1. Quelques plantes antioxydantes

II.1.1. *Globularia alypum* L

II.1.1.1. Description botanique

Arbuste rameux de 30 à 60 cm d'hauteur, feuilles coriacées glauques, de forme obovale se terminant à une pointe, feuilles toutes éparées sur les rameux persistante réunies en capitules denses à bractées ciliées ordabtes atteignant près de 2 cm de diamètre et disposées le long et aux sommets des tiges.[10]

Cette plante originaire de sud de l'Europe sur le pourtour méditerranéen jusqu'en Grèce, Afrique du nord (Algérie, Maroc) son nom *Globularia* fait référence à la forme globuleuse [16]

II.1.1.2. Systématique

Règne : plantae

Classe : Magnolipsida

Ordre : Scrophlariales

Famille : Globulariaceae

Genre : *Globularia*

Espèce : *Globularia alypum* L



Figure 1. *Globularia alypum* L

II.1.1.3. Propriétés thérapeutique

Elle est utilisée contre les ulcères, purgatifs, dépuratif, antiseptique et antimycosique [11,18].

II.1.2. *Eucalyptus globulus* Labill

II.1.2.1. Description botanique

Les eucalyptus peuvent pousser plus haut que 20 m, ils ont des feuilles vertes glauques lancéolées et parfumées, leurs fleurs aux très nombreuses étamines blanchâtres donnent des capsules, d'origine de l'Australie [11].

II.1.2.2. Systématique

Règne : plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Eucalyptus*

Espèce : *Eucalyptus globulus* Labill



Figure 2 : *Eucalyptus globulus* Labill

II.1.2.3. Propriétés thérapeutique

Elle est utilisée contre le rhume, sinusite, maux de gorge, des angines, la toux, bronchite, des infections urinaires et de la fièvre[11].

II.1.3. *Neurium oleander* L

II.1.3.1. Description botanique

Arbuste à tige nombreuse pouvant atteindre 5 cm d'hauteur, glabre au suc laiteux, feuilles opposées ou ternies coriaces longuement lancéolées aigues, à nervures secondaires fleurs roses rarement blanches, grandes et odorantes [11,19].

II.1.3.2. Systématique

Règne : plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnolipsida

Ordre : Gentianales

Famille : Apocynaceae

Genre : *Neurium*

Espèce : *Neurium oleander* L



Figure3 : *Neurium oleander* L

II.1.3.3. Propriétés thérapeutique

Elle est utilisée pour la maladie cardiaque, les problèmes respiratoires et le cancer [20,11].

II.2. L'activité antioxydante

La formation naturelle des radicaux libres par voie biochimique ou / et phytochimique, peut provoquer une oxydation de certaines biomolécules : peroxydation des lipides membranaire, dégradation de l'ADN... Les radicaux libres sont des molécules très instables car ils possèdent un électron non apparié [13].

II.2.1. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant est « toute substance qui présente à faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative, l'oxydation de ce substrat en tant qu'additif alimentaire ». Un antioxydant est une molécule qui protège les aliments contre les réactions d'oxydations qui accélèrent leur vieillissement. Ceci est dû essentiellement à l'oxygène de l'air, la lumière, les traces de métaux et éventuellement certaines enzymes [14].

II.2.2. Mécanisme d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction des radicaux ou de peroxydes, la complication d'ions et de métaux de transition. Ces antioxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer ou encore des maladies cardio-vasculaires [2].

II.2.3. Mesure de l'activité antioxydante par le test de DPPH

Le DPPH (1,1 Diphényl 2 Picryl Hydrazil) est un radical libre stable de couleur violette intense. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité de fixer des radicaux libres, donc arrêter la propagation de la réaction en chaîne). En particulier l'utilisation du paramètre CE50 (Concentration efficace de substrat pour produire 50% de réduction du DPPH). Se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, à 515nm-517nm, due à une recombinaison des radicaux DPPH [13].

Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée avec une substance qui peut donner un hydrogène, alors cette réaction donne lieu à la forme réduite avec perte de la couleur violette (avec une couleur jaune pâle résiduelle des groupements picryl encore présents). Représentons le radical DPPH par Z^* , et le donateur de proton par AH.

Les réactions primaire est : $Z^* + AH \rightarrow ZH + A$

Ou : ZH est la forme réduite du DPPH.

A* est le radical produit par cette première étape.

Ce dernier subira d'avantages de réactions et réagira avec une autre molécule de la même espèce, produite par une réaction parallèle avec inhibition du radical. Ainsi le DPPH visa à représenter un radical libre dont l'activité doit être supprimée par la substance antioxydante (polyphénol)[23]



a: Diphenylpicrylhydrazyl (radical libre)

b: Diphenylpicrylhydrazine (non radicalaire)

Figure 04 : Structure du DPPH

II.3. Activité antifongique

Les produits naturels, notamment d'origine végétale, sont utilisés comme une source de diversité moléculaire dans plusieurs programmes de découverte de nouveaux médicaments.

Dans les nombreux programmes de découvertes de produits naturels bioactifs, dans lesquels le produit final est soit utilisé comme un médicament ou un produit guide pour le développement de nouvelle classe de médicament, des bio tests de criblage simples et reproductibles sont nécessaires pour les étapes de criblage préliminaire et pour guider le processus d'isolement vers la molécule active.

II.3.1. Généralités sur les champignons

Les Champignons (ou Fungi) constituent un règne à part entière. Ce sont des êtres vivants Eucaryotes, immobiles, hétérotrophes, dépourvus de pigment chlorophyllien. Ils se nourrissent par absorption, stockent leurs réserves sous forme de glycogène et se reproduisent par bourgeonnement. Le thalle possède une paroi chitineuse, constituée de stérols et de polyholosides dérivés de mannose, rhamnose et glucose [20].

II.3.2. Méthode de diffusion sur agar (boîte Pétri)

Dans le cas de découverte d'agents antifongique, un test simple est décrit dans la littérature : la méthode de diffusion sur agar.

Elle consiste à faire diffuser dans un milieu gélosé un antifongique et mesurer le diamètre d'inhibition. La souche à étudier est inoculée sur toute la surface de la gélose et entre en compétition durant l'incubation à 25 °C pendant quelques jours, avec l'effet inhibiteur de l'antifongique. Une zone d'inhibition circulaire se forme pour les concentrations inhibitrices du produit [24].

Chapitre III
Matériels et méthodes

III. Matériels et Méthodes

III.1. Matériels végétaux

L'étude a été faite sur les parties aériennes du laurier rose, l'eucalyptus, et globulaire. Les échantillons ont été récoltés le mois de Mai 2011 à M'sila, les plantes ont été lavées puis séchées à l'abri de la lumière.

III.2. Champignons

Trois champignons (*Penicillium* sp. *Aspergillus* sp. *Botrytis* sp.) Ont été sélectionnés par manque de moyens au laboratoire de microbiologie. Ils ont été isolés et repiqués sur milieu sélectif (incubation à 25°C pendant 3 jours).

III.3. Préparation des extraits

L'extraction a été faite grâce à un extracteur SOXHLET pendant 6-8heures, en introduisant dans une cartouche poreuse le produit à extraire. Un siphon permet de vider périodiquement l'extracteur de la solution obtenue. La solution retombe alors dans le ballon où se concentrent les extraits.[21].



Figure 5 : Montage d'un extracteur soxhlet.

➤ Rendement de l'extraction

Les résultats de rendement obtenu après l'extraction par soxhlet sont calculés avec la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = (M_1 - M_2) \cdot 100 / E$$

M₁ : poids du ballon contenant l'extrait après évaporation du méthanol

M₂ : poids du ballon vide

E : poids de l'échantillon en gramme utilisé pour l'extraction

III.4. Tests phytochimiques

III.4.1. Tanins

A 2 ml de la solution à tester ajouter 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ à 2%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité (laisser reposer quelques minutes) [22].

III.4.2. Saponosides

5 ml des trois extraits, étherique, éthanolique et aqueux sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 minutes. La formation d'une mousse persistante après 15 mn confirme la présence des saponosides [22].

III.4.3. Flavonoïdes

Traiter 5 ml de chaque extrait avec quelques gouttes d'HCl concentré. Ajouter une quantité de tournures de magnésium (Laisser agir). La présence des flavone aglycone est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange [22].

III.5. Les activités biologiques

III.5.1. Activité antioxydante

A 2.5 ml d'extrait à concentrations différentes (choisi après des essais préliminaires), ajouté à 1 ml de la solution du DPPH préparée, laisser 30 minutes à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm, le pourcentage est calculé selon l'équation suivant :

$$I_p(\%) = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$$

A₁ : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A₂ : absorbance en présence d'extrait. [24].

III.5.2. Activité antifongique

Le milieu PDA est antiseptiquement inoculé au centre par la prise d'un ensemble de spores fongiques (à partir de la culture en croissance) à l'aide d'une anse de platine (aiguille) imprégnée dans une solution d'agar 0.2 % puis l'ensemencement par piqûre. A trois points équidistants du centre de la boîte sont déposés des disques (diamètre 5 mm) de papier absorbant Watman, une goutte (20 µl) de l'extrait est déposée sur le disque, le témoin contient 20 µl du méthanol et n'est pas supplémenté d'extrait, chaque test est réalisé en duplicata, les milieux inoculés sont incubés à 25°C pendant 3 à 5 jours. [12]

Le pourcentage de l'inhibition des champignons (INH) est calculé comme suit :

$$\text{INH (\%)} = [(\text{D cont} - \text{D trait}) / \text{D cont}] \times 100$$

D cont : Diamètre de croissance dans le contrôle.

D trait : Diamètre de croissance dans le traitement[25].

Chapitre IV
Résultats et discussion

IV.1. Rendement de l'extraction

Les résultats de rendement obtenus après l'extraction par soxhlet sont exprimés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Rendement d'extraction par soxhlet

Plantes utilisées	Poids de la plante utilisé pour l'extraction (g) (m₁)	Poids de l'extrait sec obtenu (g)(m₂)	Rendement d'extraction (%)
<i>Globularia alypum</i>	20	9,7	48,5
<i>Eucalyptus globulus</i>	20	7,2	36
<i>Neurium oleander</i>	20	4,8	24

D'après ce tableau le rendement obtenu est différent selon les plantes malgré l'utilisation de la même méthode d'extraction.

IV.2. Analyse phytochimique

Les différents résultats des tests photochimiques sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Les différents résultats des tests photochimiques.

Plantes	Composés		
	Flavonoïdes	Tanins	Saponosides
<i>Globularia alypum</i>	+	+	+
<i>Eucalyptus globulus</i>	+	+	+
<i>Neurium oleander</i>	+	+	+

Ces trois tests phytochimiques réalisés sur les trois extraits montrent que les plantes choisies sont riches en principes actifs.

IV.3. Mesure de l'activitéantioxydant par le DPPH

Les extraits subissent une série de dilution avec le méthanol puis on ajout 1ml de DPPH avec 2,5ml des extraits dilués puis on mesure l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre avec $\lambda = 517$ nm après 30 minutes les résultats sont calculés et transformés en $I_p(\%)$ dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Pourcentage d'inhibition des radicaux libres des trois plantes.

I_p plantes	Concentration mg/ μ l			
	10	20	30	40
I_p Globulaire	16.13 \pm 1.12	23.58 ± 0.80	37.35 ± 0.51	89.62 ± 0.68
I_p Eucalyptus	38.58 \pm 0.62	58.86 \pm 0.75	86.5 \pm 1.62	90.18 \pm 0.85
I_p oleander	24.81 \pm 0.86	32.64 \pm 1.58	36.79 \pm 1.62	41.41 \pm 1.22
I_p Acide ascorbique	90.75 \pm 1.25	89.52 \pm 1.32	88.86 \pm 0.98	89.62 \pm 1.04

IV.4. Mesure de l'activité antifongique

L'activité antifongique est réalisée par comparaison du diamètre de croissance des souches, en présence et en absence de l'extrait méthanolique testé, du contrôle et de témoin. Le diamètre de la croissance des colonies est mesuré. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes affectées de l'écart type [Moy \pm SD].

Tableau 05 : Résultats de l'activité antifongique de l'extrait de *Globularia alypum* L

Concentration d'extrait (ppm)	Diamètre d'inhibition (mm)		
	<i>Penicillium</i> sp	<i>Aspergillus</i> sp	<i>Botrytis</i> sp
100	40,83 \pm 1,47	47 \pm 1,89	33,16 \pm 2,22
250	41 \pm 2	43,66 \pm 1,03	36,16 \pm 5,87
500	39,16 \pm 1,83	46,33 \pm 1,36	37,66 \pm 5,24
témoin	32 \pm 3,57	43,16 \pm 2,31	76 \pm 6,75

Les résultats de l'inhibition sont exprimés dans le tableau suivant :

Tableau 06 :Effet inhibiteur de l'extrait de *Globularia alypum*L sur les cultures de champignons (exprimé en pourcentage d'inhibition de la croissance fongique +/- écart type ou SD).

Pourcentage d'inhibition(INH)			
concentration	<i>Penicillium</i> sp	<i>Aspergillus</i> sp	<i>Botrytis</i> sp
100	(-) 27,59	(-) 8,89	(+) 56,36
250	(-) 28,12	(-) 1,15	(+) 52,42
500	(-) 22,37	(-) 7,34	(+) 50,44
témoin	00	00	00

(-) : Inhibition négative

(+) : Inhibition positive

IV. 5. Discussion

D'après ces tableaux, les zones de croissances de *Penicillium* sp, *Aspergillus* sp Sont presque semblables que les témoins .Quel que soit la concentration de

Globularia alypum L.

Alors, pas d'inhibition d'extrait sur ces espèces de champignons (-)

Par contre, la zone de croissance de *Botrytis* sp est moindre que le témoin en fonction de la concentration de *Globularia alypum* L. Alors, il y' a une inhibition d'extrait sur cette espèce de champignon (+).

Conclusion

Notre travail est une étude qui contribue à la connaissance des plantes médicinales qui possèdent des caractères antioxydant et antifongique.

Pendant cette recherche, nous avons effectués un criblage phytochimique des plantes : ***Globularia alypum L***, ***Eucalyptus globulus Labill*** et ***Neurium oleander L***, en commençant par l'extraction par Soxhlet, et le rotavapeur puis les tests phytochimiques pour élaborer les principes actifs que les contiennent.

Passant par l'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH enfin on arrive à étudier l'activité antifongique de ***Globularia alypum L***.

En conclusion, les 03 espèces possèdent une activité antioxydante or pour l'activité antifongique de ***Globularia alypum L*** montre qu'elle présente une bonne activité antifongique sur le ***Botrytis sp***, seulement et non pour ***Aspergillus sp*** et ***Penicillium sp***.

Références
Bibliographiques

Références bibliographique

- [1]. N.Bouzouita, f.Kachouri, M.Benhalima, MM Chaabouni () : composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*
- [2].A. Diallo (2005) : Etude de la photochimie et des activités biologiques de *Syzygie guineese* WILLD, thèse Doctorat en pharmacie, BAMAKO
- [3]. R. khiera. S. mourad (2006) : l'étude phytochimique et biologique de l'espèce *Tilia cordata* , diplôme d'ingénieur d'état en chimie, M'sila.
- [4]. Pr Robert Anton (2003) : Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale , science thérapeutique , rue Lavoisier , Paris
- [5]. K Ramdani, M.Sellami, (2006) : Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Tilia cordata*, thèse d'ingénieur d'état en chimie , M'sila
- [6] la phytothérapie, encyclopédie Larousse 2007
- [7].H.Belgaraa, H Bensaou, K Bouchennir, (2005) : Etude phytochimique de l'espèce *Petroselinum sativum* , these d'ingenieur d'etat , M'sila
- [8] : M.Paris, M.Hlurbielle (2005) : Abrégé de matière médicale pharmacognosie tome 1 , généralités- monographies
- [9]. François-Georges (2004) : Saponosides stéroïdes et triterpéniques de synthèse
- [10] احمد جرومي محمد ناصف. 100 عشبة طبية جزائرية. قصر الكتاب
- [11]. Contribution de Lucienne DELILLE (2007) : Plantes médicinales d'ALGERIE, BERTI Edition, Alger
- [12].A.Mouhoub, A.Nouibet (2004) : Extraction des produits actifs de l'espèce *Astragalus gombo* (écologie phytochimie et tests biologiques)
- [13]. Le LANN Kklervi () : Connaissance chimiotaxonomique du genre *Turbinaria* et étude des composés de défense de différentes espèces de sargassacées des îles Salomon
- [14]. M.Hedhili Lasaad () : Les antioxydants dans les aliments, maître-assistant à l'institut préparatoire aux études d'ingénieurs de Nabeule Tunisie, Carthage
- [15].M. Eugenia letelier et al (2007), DPPH and oxygen free radicals as pre-oxidant of biomolecules.

[16].Mr A BOUTITI, (2006) : Etude phytochimique de l'espece *Globularia alypum L.*

Magister en sciences, constantine

[17]. يحيى محمودي. البشائر في النباتات الطبية الاكثر استعمالا في الجزائر . انس للطباعة والنشر والتوزيع .

[18]. K.Mahdi , S.Atallaoui ,(2005) : Etude ethnobotanique de la region de M'sila (Algerie) , Diplôme d'ingenieur d'état en Ecologie et Environnement (BIOLOGIE) , M'sila

[19]. Tela botinica , revue

[20]. Antimicrobial activity of *Neurium oleander* (january 2011) , international journal of pharma professional's

[21]. K.Koudougou , (2000) : etude de la chimie et de l'activité anti-mycisique des extraits de *Biophytum petersianum* KLOTZSCH (Oxalidaceae), DEA , Ouagadougou

[22]. H.Majboud , (2006) : etude phytochimique et activity biologique de *Zygophyllum geslini* Goss , these de magister option produits naturels , constantine

[23].S. Athamena (2010)Activite antioxydante et antimicrobienne d'extrait de *Cuminum cyminum* L Lebanese Science Journal, Vol. 11, No. 1

[24].Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'*Anacyclus pyrethrum* Magister, université Mentouri Constantine

[25].S.Hamimed (2007) : lutte biologique contre l'adventice *Imperata cylindrica*(L).Beauv à partir des champignons pathogènesindigènes au Benin,DEA,Abomy calavi

Annexe

1. Lexique thérapeutique

Antalgique : Atténue ou supprime les sensations douloureuses.

Anti-diarrhéique : Qui diminue l'intensité du flux intestinal et rétablit le transit intestinal normal.

Anti-inflammatoire : Qui combat l'inflammation.

Anti-sceptique : Qui détruit les microbes et empêche leur développement ou encore destiné à éviter la putréfaction ou qui prévient l'infection.

Bronchite : Inflammation aiguë ou chronique de la muqueuse bronchique.

Cancer : Prolifération anarchique des cellules anormales dites « maligne » à partir d'un foyer primitif, pouvant récidiver localement après ablation et essaimer à distance, entraîner la formation de métastases. Maladie pouvant toucher tous les tissus de l'organisme et qui se présente sous de multiples formes. Non traitée, son évolution est en général mortelle. (Métastase : localisation dans un ou plusieurs points de corps de cellules ayant migrés d'un foyer primitif infectieux, parasitaire ou cancéreux).

Fièvre : élévation de la température centrale du corps, s'accompagne en général d'une accélération du pouls et de la respiration, d'une sécheresse de la bouche et d'une diminution des urines.

Paludisme : Maladie infectieuse fréquente dans les régions marécageuses, due à un protozoaire transmis par la pique de l'anophèle et se traduisant essentiellement par une fièvre intermittente.

Rhumatisme : Affection douloureuse, aiguë ou chronique, se manifestant essentiellement au niveau des articulations.

Rhume : Nom usuel du catarrhe de la muqueuse nasale et des affections qui produisent la toux.

Toux :Expiration bruyante, brusque, saccadée, habituellement réflexe, témoignant le plus souvent d'une irritation ou d'une infection des voies respiratoires et permettant de les dégager

2. Diverses modes de préparations familiales

Les plantes peuvent s'employer de différentes manières. Voici les plus courantes.

L'infusion

Préparation obtenue en versant de l'eau bouillante sur la plante sèche (30 à 40g pour un epréparation de 1 litre) couvrir et laisser infuser de 10 à 30 minutes. Boire sans sucre [24].

La macération

Préparation obtenue en mettant une certaine quantité de la plante sèche dans un liquide froid pendant 10 à 12 heures, filtré et boire sans sucre [14].

La poudre

Elle est constituée de la plante sèche réduite en poudre très fine. La poudre est conservée Dans des flacons de verre bien fermés et de préférence dans un endroit plutôt sombre. La Poudre ne doit être portée à la bouche mais mélanger avec un liquide ou semi liquide (eau, Lait, yaourt, miel) [24].

La décoction

Il s'agit de faire bouillir l'eau dans laquelle on mis la plante pendant 10 minutes. Boire sans Sucre [19].

Lotion

Liquide obtenus par infusion ou décoction plantes émollientes ou vulnéraire que l'on utilise en les passant légèrement sur la partie à soigner à l'aide d'un coton hydrophile ou un linge imbibé.

3. Préparation du milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA)

Le PDA est le milieu usuel de culture pour la plupart des champignons. Il contient de la Pomme de terre, du sucre sous forme de dextrose et de la gélose (Agar). Il est préparé selon la procédure suivante:

- Peser 15g de poudre d'agar ,250g pomme de terre, 20g de glucose dans un litre d'eau distillée

- Mettre au bain-marie pour faciliter la dissolution de la gélosependant 30min.

- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15min à une pression de 1 bar [25].

Résumé

Globularia alypum L, *Eucalyptus globulus Labill* et *Neurium oleander L* sont des plantes de la région de M'sila ont été choisies dont le but d'un essai de l'extraction de quelques éléments actifs des plantes.

Des tests phytochimiques ont permis la confirmation de la présence de trois principes à savoir : tanins, saponosides, et flavonoïdes.

Cette recherche a été faite pour l'évaluation de l'activité antioxydante de trois plantes par méthode de DPPH, et aussi pour l'évaluation de l'activité antifongique de *Globularia alypum L* sur les champignons : l'*Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, et *Botrytis sp*.

Les résultats de notre études montrent que la *Globularia alypum L* possèdent une activité antifongique vis-à-vis *Botrytis sp* alors que n'a aucune activité antifongique sur le *Penicillium sp* et l'*Aspergillus sp*.

Mots clés :

Globularia alypum L, *Eucalyptus globulus*, *Neurium oleander*, *Penicillium sp*, *Aspergillus sp*, *Botrytis sp*, DPPH, antioxydante, antifongique.

ملخص

اختيارها بهدف استخلاص بعض العناصر الفعالة *Globularia alypum L Eucalyptus globulus Labill Neurium oleander L* هي نباتات من منطقة المسيلة تم بعض الاختبارات الكيميائية لهذه النباتات أكدت وجود : العفص , الصابونين والفلافونيدات وقد تم إجراء بعض التجارب لتقييم النشاط المضاد للأكسدة للنباتات المدروسة بواسطة DPPH وكذلك تم تقييم النشاط المضاد للفطريات ل *Globularia alypum L* على ثلاثة أنواع من الفطريات *Penicillium sp*, *Aspergillus sp* و *Botrytis sp*

نتائج هذه التجارب أكدت ان *Globularia alypum L* تملك نشاط مضاد للفطريات وهذا بمواجهة *Botrytis sp*، في حين لا تملك هذا النشاط بالنسبة ل *Penicillium sp* و *Aspergillus sp*.
الكلمات المفتاحية:

Globularia alypum L, *Eucalyptus globulus Labill*, *Neurium oleander L*, *Penicillium sp*, *Aspergillus sp*, *Botrytis sp*, DPPH مضاد للأكسدة, مضاد للفطريات