

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE 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 : SCIENCE BIOLOGIE
OPTION : BIODIVERSITE ET
PHYSIOLOGIE VEGETALE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par:

Oufaida Reguia

Zekraoui Afaf

Intitulé

**Activité biologique de quelques plantes médicinales dans
la région de M'sila**
*Echium asperrimum L., Phlomis crinita Cav. et Dittrichia
viscosa L.*

Soutenu devant le jury composé de:

Mr. NOUIDJEM Yacine	MCA	Université M.B de M'Sila	Président.
Mr. GHADBANE Mouloud	MCA	Université M.B de M'Sila	Encadreur.
Mr. REBBAS Khellaf	MCA	Université M.B de M'Sila	Examineur.

Année universitaire : 2018 /2019

Remerciement

Avant tout, nous remercions DIEU le tout puissant, le miséricordieux, pour m'avoir donnée la force, la patience et le pouvoir de raisonner.

*Nous tenons tout d'abord à adresser nos remerciement les plus sincères à MR, **Ghadbane** de dirigé notre thèse et nous permettre de la réaliser dans les meilleurs conditions. Nous tenons particulièrement à remercier de la liberté d'action qu'elle nous a donnée à chaque étape de cette aventure. Nous espérons que nous étions dignes de la confiance qu'elle nous accorde et que ce travail est finalement à la hauteur de ses espérances quoi qu'elle en soit, nous avons beaucoup appris à ses côtés et nous sommes très honorés d'avoir en pour encadrent.*

Nous tenons également à remercier les membres de nos comités de thèse pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail et pour les remarques constructives qu'ils ont fait sur notre projet de thèse. Nous adressons notre remerciement aux membres du jury d'avoir acceptés de juger ce travail.

Nous remercions aussi tous les enseignants de département de SNV université de M'sila c'est un grand merci que nous adressons à tous les ingénieurs des laboratoires de biologie.

Zekraoui Afaf et Oufaida Reguia

Dédicace

Je dédie ce travail à :

très chers parents (Zohra, Atya), sans votre affection, vos conseils, vos prières et vos efforts que vous avez déployés durant tout ma vie, ce travail aurait jamais pu être réalisé. je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, j'espère que DIEU vous donne la longue vie et la bonne santé, je vous aime énormément.

Mes chères frères : (Rabie, Omar, Aymen) et mes chères sœurs (Fatima, thlaydja, Rania, Souad, Sabrina), j'espère que DIEU vous garde et vous montre le droit chemin.

A l'être le plus sensible dans mon entourage, à la lumière qui guide mes pas pour que je ne connaitrai point le désespoir, à ma très chère amie, Basma que ALLAH l'aide

Je n'oublier pas non plus mes amis pour leur soutien constante

Mon cher binôme Sara avec qui j'ai partagé mes bons moments, sans oublier sa famille.

Afaf

Dédicace

Je dédie ce travail à :

*très chers parents (**Karima, Zayane**), sans votre affection, vos conseils, vos prières et vos efforts que vous avez déployés durant tout ma vie, ce travail aurait jamais pu être réalisé. je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, j'espère que DIEU vous donne la longue vie et la bonne santé, je vous aime énormément.*

*Mes chères frères : (**Mohamed, Saleh, Abdou, Hasane, Houcine**) et mes chères sœurs (**Malika, Aicha, Samia**), j'espère que DIEU vous garde et vous montre le droit chemin.*

*A l'être le plus sensible dans mon entourage, à la lumière qui guide mes pas pour que je ne connaitrai point le désespoir, à ma très chère amie, **Basma** que ALLAH l'aide*

Je n'oublier pas non plus mes amis pour leur soutien constante

Mon cher binôme Sara avec qui j'ai partagé mes bons moments, sans oublier sa famille.

Sara

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction01

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généraliste sur la plante	03
1.1. Les plantes médicinales.....	03
1.2. La famille Borraginacées.....	03
1.2.1. Description botanique.....	03
1.2.2. Distribution.....	04
1.3. Le Genre Echium (Vipérine).....	05
1.3.1. Description botanique.....	05
1.3.2. Position systématique.....	05
1.3.3. Utilisation traditionnelle des vipérines.....	06
1.4. La famille Lamiacées.....	06
1.4.1. Description botanique.....	06
1.4.2. Distribution de la famille lamiacées dans le monde.....	07
1.4.3. Importance économique.....	07
1.5. Genre Phlomis.....	08
1.5.1. Description botanique.....	08
1.5.2. Utilisations traditionnels des espèces Phlomis.....	08
1.6. La plante Phlomis Crinita Cav.....	08

1.6.1. Description botanique.....	08
1.6.2. Position systématique de <i>Phlomis Crinita Cav</i>	09
1.6.3. Distribution géographique.....	09
1.6.4. Les composées chimiques.....	10
1.7. La famille des Astéracées.....	10
1.7.1. Description botanique.....	10
1.7.2. Importance économique.....	10
1.8. <i>Inula viscosa (Dittrichia Viscosa L)</i>	11
1.8.1. Description botanique.....	11
1.8.2. Classification.....	12
1.8.3. Distribution.....	12
1.8.4. Intérêt économique.....	12
1.8.5. Composition chimiques.....	13
2. Les activités biologiques.....	13
2.1. Activité antibactérienne.....	13
2.2. Activité antioxydant.....	14

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

1. Matérielles végétales.....	15
2. Extraction des substances bioactives.....	15
2.1. Extraction des composées phénoliques.....	15
2.1.1. Macération.....	15
2.1.2. Evaporation.....	15
2.1.3. Calcul le rendement.....	16
3. Etude quantitative.....	16
3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	16

3.1.1 Principe de dosage des polyphénols totaux.....	16
3.1.2. Procédure expérimentale.....	16
3.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	17
3.2.1. Principe de dosage des flavonoïdes totaux.....	17
3.2.2. Procédure expérimentale.....	17
4. Analyse qualitative.....	18
4.1. Principe de chromatographie sur couche mince (CCM).....	18
4.2. Protocole de chromatographie sur couche mince (CCM).....	19
5. Activité antimicrobienne.....	19
5.1. Les souches bactériennes.....	19
5.2. L'activité antibactérienne.....	19
5.3. Méthode de l'activité antibactérienne.....	20
6. Activité antioxydant.....	21
6.1.Méthode de l'activité antioxydant.....	21

CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION

1. Le rendement des extraits méthanolique.....	23
2. Etude chromatographique par CCM.....	24
3. Résultats de l'activité antibactérienne de trois plantes.....	30
3.1. . L'activité antibactérienne de l'Echium asperrimum L Phlomis Crinita Cav, Dittrichia viscosa L.....	30
4. Activité antioxydant de 3 plantes.....	36
5. Dosage des polyphénols totaux.....	41
6. Dosage des flavonoïdes totaux.....	42
Conclusion générale	44
Références Bibliographique	45

Liste des figures :

Figure 01 : Distribution géographique de la famille Borraginacées	04
Figure 02 : Plante de l' <i>Echium asperrimum L</i>	05
Figure 03 : Répartition géographique de la famille des Lamiacées dans le monde entier	07
Figure 04 : <i>Phlomis crinita Cav</i>	09
Figure 05 : <i>Dittrichia viscosa L</i>	12
Figure 06 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH•	14
Figure 07 : Rotavapeur de type BÜCHI-R-120	15
Figure 08 : les étapes de dosages des polyphénols totaux	18
Figure 09 : Les étapes de dosage des flavonoïdes totaux	19
Figure 10 : Principe de la méthode de diffusion par disque	21
Figure 11 : Le rendement des extraits méthanolique (<i>Echium asperrimum L</i> , <i>Phlomis crinita Cav</i> , <i>Dittrichia viscosa L</i>)	23
Figure 12 : Appareil de l'Ultra – violet	24
Figure 13 : Différents systèmes : 01, 02,03et 04 de la chromatographie sur couche mince sous L'UV de plante (<i>Echium asperrimum L</i>)	25
Figure 14 : Différents systèmes : 01, 02,03et 04 de la chromatographie sur couche mince sous L'UV de plante (<i>Phlomis crinita Cav.</i>)	26
Figure 15 : Différents systèmes : 01, 02,03et 04 de la chromatographie sur couche mince sous L'UV de plante (<i>Dittrichia viscosa L</i>)	28
Figure 16 : photos représentatives des zones d'inhibition des souches bactériennes par les extraites (10mg/ml ; 5mg/ml ; 2.5mg/ml) de <i>Echium asperrimum L</i>	33

Figure 17 : Photos représentatives des zones d'inhibition des souches bactériennes par les extraites (10mg/ml ; 5mg/ml ; 2.5mg/ml) de <i>Phlomis crinita</i> Cav	34
Figure 18 : photos représentatives des zones d'inhibition des souches bactériennes par les extraites (10mg/ml ; 5mg/ml ; 2.5mg/ml) de (<i>Dittrichia viscosa</i> L)	35
Figure 19 : Capacité antioxydant de l'extrait méthanolique de l' <i>Echium asperrimum</i> L	36
Figure 20 : Activité antioxydant de l' <i>Echium asperrimum</i> L	37
Figure 21 : Capacité antioxydant de l'extrait méthanolique de <i>Phlomis crinita</i> Cav	37
Figure 22 : Activité antioxydant de <i>Phlomis crinita</i> Cav	38
Figure 23 : Capacité antioxydant de l'extrait méthanolique de <i>Dittrichia viscosa</i> L	38
Figure 24 : Activité antioxydant de <i>Dittrichia viscosa</i> L	39
Figure 25 : Représentation de l'inhibition de radical DPPH par l'estimation des valeurs de IC ₅₀ déférent extrait de (<i>Echium asperrimum</i> L., <i>Phlomis crinita</i> Cav, <i>Dittrichia viscosa</i> L	40
Figure 26 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	41
Figure 27 : courbe d'étalonnage de quercitrine	42

Liste des Tableau :

Tableau 01 : Les systèmes de la chromatographie sur couche minces	21
Tableau 02 : les solutions préparé dans l'activité antioxydant.....	24
Tableau 03 : Les valeurs de rendement de 3 extraits	26
Tableau 04 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince (de plante <i>Echium aspernum</i> L).....	28
Tableau 05 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince (de plante <i>Phlomis Crinita</i> Cav)	30
Tableau 06 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince (du plante <i>Dittrichia viscosa</i> L)	31
Tableau 07 : Diamètre de zone d'inhibition de trois extrais : E1 (<i>Echium aspernum</i> L.)E2 (<i>Phlomis Crinita</i> Cav), E3 (<i>Dittrichia Viscosa</i> L.) sur la croissance de <i>S. enterica</i>	33
Tableau 08 : La teneur moyenne en polyphénols totaux des extraits en mg EAG/g PS	34
Tableau 09 : Diamètre de zone d'inhibition de trois extrais : E1 (<i>Echium aspernum</i> L.)E2 (<i>Phlomis crinita</i> Cav), E3 (<i>Dittrichia viscosa</i> L.) sur la croissance de <i>P.aeruginosa</i>	34
Tableau 10 : Diamètre de zone d'inhibition de trois extrais :E1(<i>Echium aspernum</i> L.)E2(<i>Phlomis crinita</i> Cav), E3(<i>Dittrichia viscosa</i> L.) sur la croissance de <i>S.aureus</i>	35
Tableau 11 : La teneur moyenne en polyphénols totaux des extraits en mg EAG/g PS	44
Tableau 12 : La teneur moyenne en flavonoïdes totaux des extraits en mg EQ/g PS	45

Liste des Abréviations :

ATCC : American type Culture Colection

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

B.subtilis : *Bacillus subtilis*

S.enterica : *Salmonella enterica*

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

CCM : Chromatographie sur couche mince

UV : Ultra- violet

MH : Milieu de mueller Hinton

Rf : Rapport finale

DPPH : 1.1-Diphényl -2-picrylhydrazyl

DPPH* : Un radical libre stable

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

BHT : Butylated hydroxtoluéne

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

Introduction

Introduction

Les plantes ont depuis longtemps présenté un rôle très important pour l'humanité, car elles peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complexes dotées souvent d'activités biologiques potentielles. Elles constituent des merveilleuses usines végétales qui nous donnent la joie de guérir par un geste thérapeutique (**Hurtel, 2006**). A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Iserin, 2001**).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constitutions des plantes sont utilisés directement comme agent thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaco logiquement actifs (**AMEENAH, 2006**).

Les extraits de plantes médicinales contiennent une variété de composés Phénoliques auxquels sont attribués diverses activités biologiques dont l'activité antioxydant et antimicrobienne (**Ghazghazi et al., 2013**). L'utilisation d'extraits de plantes et des composés d'origine végétale est des sources Précieuses pour la médecine traditionnelle dans le traitement et la prévention d'un large éventail de maladies ; notamment des maladies infectieuses (**Al- Bayati, 2007**)

Les trois plantes *Echium asperrimum L*, *Phlomis crinita Cav*, *Dittrichia viscosa*.qui appartiennent respectivement à les familles Borraginacées, Lamiacées, Astéracées possède des propriétés thérapeutique .sont utilisé dans plusieurs domaines comme pharmacologie, cosmétiquées et médicament.

Dans ce contexte, notre étude vise deux objectifs :

- Préparation des extraits végétaux (extraits) à partir des (*Echium asperrimum L*, *Phlomis Crinita Cav*, *Dittrichia viscosa L*)
- Évaluation qualitative et quantitative de ces plantes, et l'étude activité antibactériennes, et l'activité antioxydant de trois extraits préparés.

Ainsi, ce manuscrit est divisé en trois chapitres :

Première chapitre est une synthèse bibliographique ou nous apportons des généralités sur les plante, est consacré à une présentation botanique dès les familles

Le deuxième chapitre est la partie expérimentale qui étudie l'évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante. et l'étude qualitative et quantitative.

En fin ; une conclusion qui résumera tous les résultats obtenus et quelques perspectives.

Chapitre I : Etude bibliographique

1. Généraliste sur la plante

1.1 Les plantes médicinales

Les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Ces derniers à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes (**Dibong et al ., 2011**).

La plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuilles, tige, racine, etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Leur efficacité relève, de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents (**Chadouli, 2012**).

1.2. La famille Boraginacées

Les Boraginacées sont une famille des angiospermes, comprenant 1600 espèces réparties en 110 genres (**Cohen, 2013**). On y trouve des herbes annuelles (*Heliotropium*), arbustes et arbres. De façon caractéristique, la tige et les feuilles sont recouvertes de poils raides qui donnent une sensation rugueuse (**Sambamurty, 2005**). Les Boraginaceae ont une distribution cosmopolite. Les espèces du Boraginaceae ont de nombreux usages, mais aucune d'importance économique majeure, sauf pour certaines plantes ornementales, plantes à bois et à colorants. Beaucoup de plantes de Boraginaceae ont des propriétés médicinales utilisées en médecine traditionnelle pour traiter les blessures, les maladies de la peau, de la fièvre, des douleurs thoraciques, etc (**Neuwinger, 2000**).

1.2.1. Description botanique

Herbes, arbustes ou arbres, parfois lianes, phloème interne manquant, les poils avec cystolithe basale et souvent calcifiés ou silicifiés, rugueux au toucher. Les feuilles sont alternes, simples, entières, nervures pennées, réticulées, stipules absentes. L'inflorescence habituellement en cymes hélicoïdes, rarement scorpioïdes. Fleurs bisexuées, actinomorphes, rarement zygomorphes (*Echium*), hypogynes, pentamères. Calice à 5 sépales, libres ou légèrement connées à la base, persistantes. Corolle à cinq pétales, unis, tournés, tubulaires ou en forme d'entonnoir. L'androcée avec 5 étamines, épipétale, inséré dans le tube de la corolle, filets libres, anthères introrsées, déhiscence longitudinale, les grains de pollen tricolporés ou multiporés, filaments souvent avec des disques de nectar à la base. Gynécée avec 2 carpelles unis, ovaire supère, profondément 4 lobes, biloculaire, placentation axillaire, devenant 4-

loculaire en raison de fausses cloisons, style 1, terminal ou gynobasique, stigmate 1 ou bilobé, capité ou tronqué, l'ovaire assis sur un nectaire. Fruit: drupe, graines avec embryon droit ou courbé. Pollinisation essentiellement par les insectes. Les fruits drupacés sont dispersés par les oiseaux, alors que ceux subéreux sont emportés par l'eau (Singh, 2010).

1.2.2. Distribution

Les genres d'arbres sont pantropicales et subtropicales, tandis que les genres d'herbacées sont distribués dans le monde entier bien que particulièrement abondants dans la région Méditerranéenne et en Asie tempérée chaude. Ils se produisent dans un large éventail d'habitats à partir du niveau de la mer à plus de 4.000 mètres d'altitude (Heywood et al., 2007).

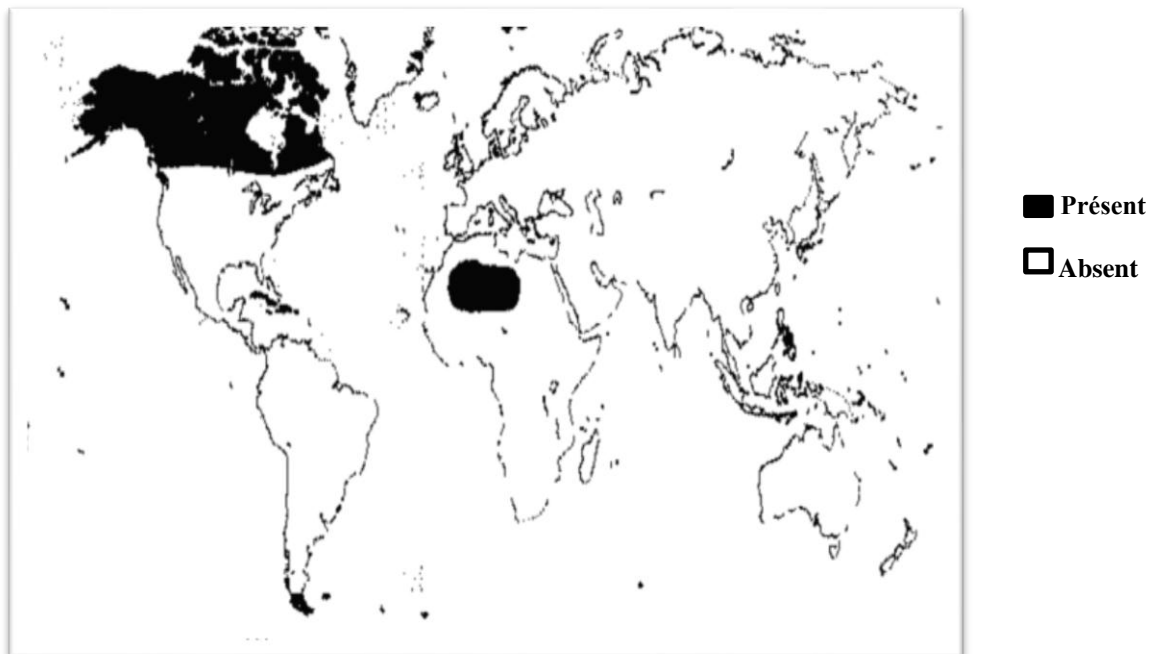


Figure 01 : Distribution géographique de la famille Boraginacées (Heywood et al., 2007)

1.3. Le Genre *Echium* (Vipérine)

1.3.1. Description botanique

La vipérine appartient à la famille des boraginacées qui sont des plantes dicotylédones, herbacées et vivaces.

La vipérine est une plante bisannuelle, verte, de 30 à 80 cm de longueur qui peuple les terres non cultivées, terrains caillouteux et les zones côtières. La plante est entièrement recouverte des poils rapides. Elle possède une tige dressé ordinairement très rameuse portant des feuilles hispides de 2 à 25 cm de longueur .Sa longue panicule en forme d'épi regroupe des fleurs de couleurs bleues ou violacées (**Bock, 2012**).



Figure 02: Plante d'*Echium aspernum*. (Source Google)

1.3.2. Position systématique de l'*Echium aspernum* (APG II)

Règne : Végétale

Embranchement : Spermatophyta

Sous-embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédone

Ordre : Tubiflorae

Famille : Boraginaceae

Genre : *Echium*

Espèce ; *Echium aspernum* L

1.3.3. Utilisation traditionnelle des vipérines

Les propriétés médicinales de la vipérine rappelant fortement celles de la Bourrache (*Borago officinalis*), riche en mucilage à fructosanes et en alcaloïdes hépatotoxiques. On utilise les sommités fleuries et les feuilles sous forme d'infusion pour bénéficier de leurs propriétés astringentes, émoullientes, expectorantes, sudorifères et on en use pour prévenir les bronchites et la grippe (**Boullard, 2001**).

Les racines de vipérine sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des fissures sur les mains, ainsi que pour les cicatrisations des plaies à l'instar de l'allantoïne (**Sezik, 1997**). Appliquées en cataplasme ou en pansement, ses racines sont des baumes efficaces contre les brûlures et les furoncles (**Tanaka et coll, 1986**).

1.4. La famille Lamiacées

Les Lamiacées appelées aussi Labiacées ou Labiées, est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 6 900 espèces et près de 236 genres. Ce sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et rarement des arbres ou des lianes, producteurs d'huiles essentielles, largement répandus autour du monde et dans tout type de milieux. La forme de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette famille (**Raymond et al., 2004**).

1.4.1. Description botanique

Pour la plupart des genres, Les feuilles sont opposées (parfois verticillées ou alternes) exstipulées, simples, rarement composées. Les jeunes tiges sont à section quadrangulaire.

Les fleurs sont ordinairement hermaphrodites, souvent groupées en cymes compactes ou, plus rarement, solitaires en position axillaire. Le calice est souvent persistant. Il est pentamère, possède cinq dents ou lobes et peut être bilabié. La corolle normalement pentamère est souvent bilabiée ou plus rarement plus ou moins actinomorphe avec quatre lobes (*Mentha*). Cette famille est très importante dans la flore algérienne. Certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces. De nombreuses espèces de cette famille sont des plantes mellifères, fréquentées par les abeilles (**Lambinon et al., 2012**).

1.4.2. Distribution de la famille lamiacées dans le monde

La famille des Lamiacées est une partie importante des plantes dicotylédones et est répartie sur l'ensemble de la surface de la planète, bien qu'elles soient plus présentes en climats tempérés et surtout dans le pourtour méditerranéen (Judd et al.,2000).



Figure 03: Répartition géographique de la famille des Lamiacées dans le monde entier.
(Stevens, 2001).

1.4.3. Importance économique

Cette famille est une importante source d'huiles essentielles et antibiotiques naturels pour l'aromathérapie et la parfumerie même si les parfums de synthèse tendent à remplacer ces essences. L'industrie des cosmétiques utilise également les Lamiacées pour leurs propriétés hydratantes et souvent antiseptiques. On y rencontre beaucoup d'espèces cultivées comme plantes condimentaires (sauge, thym, basilic, menthe etc.), On y trouve aussi des plantes ornementales (sauge par exemple) tant en extérieur qu'en intérieur (coléus), (Yuan et al., 2010).

1.5. Genre *Phlomis*

1.5.1. Description botanique

Le genre botanique *Phlomis* regroupe plus de 100 espèces de plantes vivaces appartenant à la famille des Lamiacées originaires surtout du pourtour méditerranéen et d'Asie.

Ce sont des plantes herbacées ou des arbrisseaux, généralement très velus, à feuilles opposées simples, chaque paire de feuilles formant un angle droit par rapport à la précédente. Les fleurs, soit jaunes, roses, blanches, violacées ou pourprés, sont groupées en verticilles plus ou moins denses. Corolle à deux lèvres, la supérieure, légèrement échancrée au sommet, formant un casque, l'inférieure trilobée à lobes plus ou moins apparents, quatre étamines. Le fruit est formé de quatre akènes inclus dans le calice persistant. (Pottier,1981).

1.5.2. Utilisations traditionnels des espèces *Phlomis*

Un nombre élevé d'espèces *Phlomis* autour du monde ont le même mode d'utilisation, à savoir de la tisane (décoction ou infusion) pour traiter les problèmes gastriques, intestinaux, abdominaux (*Phlomis bourgei*...). D'autres espèces ont été décrites pour protéger, le foie, le rein, le cœur, les veines et l'os de différentes pathologies. Certaines espèces *Phlomis* ont été décrites pour traiter la fièvre, la toux et le froid, comme le *Phlomis céphalotes* et le *Phlomis Plukenettii*. D'autres espèces telles que le *Phlomis Bovei*, le *Phlomis crinita* et *phlomis mauritanica* sont utilisées sous forme de pates en Espagne (Rivera , 1993)

1.6. La plante *Phlomis crinita Cav*

1.6.1. Description botanique

C'est un sous-arbrisseau à feuilles basales lancéolées cordiformes, pétiolées, denticulées tomenteuses. Les florales sessiles oblongues à triangulaire. Tiges de 50-100 cm, rameuses. Inflorescences lâches. Corolle jaune intensément d'or .Verticilles de 6 à 10 fleurs. Calice soyeux à dents linéaires. Noms communs :*Khayatta*, *El Khayatt adjarah* (Quézel et Santa, 1963)..



Figure 04 : *Phlomis crinita* cav. (Source Google)

1.6.2. Position systématique de *Phlomis Crinita Cav* :(APG II)

Règne : Végétale

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Phlomis*

Espèce : *Phlomis Crinita Cav*

1.6.3. Distribution géographique

Ouest méditerranéenne, elle est présente dans le Sud d'Espagne, Nord-ouest de l'Afrique (Tanger), W Rif, (Mamora). (Quezel P., et Santa S. 1963).

1.6.4. Les composées chimiques

- **Huile essentielle**

On trouve dans l'huile essentielle des feuilles les sesquiterpènes: le trancaryophyllène (40,9%), et le germa crène D (39,1%). Dans l'huile des fleurs, les sesquiterpènes : le β -caryophyllène (58,2%), et legermacrène D (35,1%) (**Limem-Ben Amor ,et al .,2009**)

- **Flavonoïdes**

Chez *Phlomis crinita*, on note la présence des composés suivants: chrysoeriol-7-pcoumaroylglucoside, lutéoléine, lutéoléine-7-O- β -lucopyranoside, 6"-syringylsesamoside phenylethyacohol glycosides, acteoside = verbascoside (**Kabouche et al .,2005**)

1.7. La famille des Astéracées

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. La famille des composées est celle qui compte le plus grand nombre d'espèces soit environ 25000 espèces réparties en 1300 genres ;(**Leekh, 2004**), ce qui représente environ 8 à 10% de toutes les plantes à fleurs.

Les composées ont une distribution mondiale (sauf l'Antarctique) avec une large diversification écologique. Toutefois, elles sont abondantes principalement dans les régions tropicales et subtropicales bordant les zones semi-arides et désertiques, elles sont moins fréquentes dans les forêts tropicales. (**Bohlmann et al .,1963**)

1.7.1. Description botanique

Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules c'est -à dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige ou entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelée un involucre (**Bahorun , 1997**). La fleur des Astéracées est très particulière: les étamines sont soudées par leurs anthères déhiscentes vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situées des "brosses à pollen". Ceci est adapté à un mode de pollinisation «à piston». La croissance rapide du style permet un brossage du pollen et sa récupération. Une fois que le stigmate a traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déplient et exposent leur face gluante au pollen. Il faut considérer qu'à ce moment-là, du nectar est sécrété.

L'inflorescence est ordinairement un compact de fleurs sessiles tubulées et/ou ligulées sous-tendu par un involucre de bractées disposées sur un ou plusieurs rangs. Les bractées peuvent être herbacées, scarieuses ou épineuses. Sur le réceptacle, les bractéoles, si elles sont présentes, peuvent prendre la forme d'écailles, de soies ou de paillettes. Le capitule est entouré à la base généralement par 1 à 6 séries de bractées dont l'ensemble forme l'involucre.

Les fruits sont des achaines et contenant chacun une seule graine. L'ornementation joue un rôle important dans la reconnaissance des genres et espèces. Les caractères du fruit sont généralement identiques pour les diverses espèces du même genre (**Verpoorte et al ., 2002**).

1.7.2. Importance économique

La famille des Composées contient plus de dix mille espèces, la grande majorité des espèces étant comestibles, elle fournit des plantes alimentaires: La laitue est la plante la plus cultivée de la famille, suivie de l'artichaut, de l'endive, du salsifis, de la chicorée, de l'estragon et du tournesol. L'arnica montana est une plante vivace originaire des régions montagneuses de l'Europe et du sud de la Russie. Elle est décrite dans des pharmacopées européennes pour son usage dans le traitement de petits traumatismes comme les hématomes. Cette plante est utilisée traditionnellement en phytothérapie pour aider à soulager la douleur et/ou l'inflammation des muscles et des articulations (entorses, ecchymoses, douleur articulaire) (**Quezel P., Santa S., 1963**).

1.8. *Dittrichia viscosa* L

1.8.1. Description botanique

Il s'agit d'une plante sauvage, vivace, à racine pivotante, d'assez grande taille (jusqu'à 1,50 m de hauteur). Ses tiges sont assez ramifiées et pourvues d'un feuillage dense. Les feuilles, alternes, allongées à lancéolées, sont insérées directement sur la tige, sans pétioles. Avec l'âge, elles deviennent ligneuses et foncées à la base. Les fleurs sont regroupées en capitules, soit à pétales soudés en languettes jaunes, ou en tubes jaune orangé. Toute la plante est couverte de poils glanduleux qui libèrent une résine odoriférante et collante, à odeur de camphre. (**Lecomte, 2015**)



Figure 05 : *Inula viscosa* (Source google)

1.8.2. Classification

Règne : Végétale

Embranchement : Phanérogames

Sous Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Inula*

Espèce : *Inula viscosa* L

1.8.3. Distribution

L'Inule visqueuse est fréquente en région méditerranéenne, l'Europe du Sud-Est et en Asie occidentale. Elle fleurit à la fin de l'été et au début de l'automne et est considérée comme assez envahissante. Elle pousse dans les endroits herbeux, dans les champs et retrouvée aussi aux bords des routes et des chemins (Paquet, 2014).

1.8.4. Intérêt économique

C'est une plante médicinale traditionnelle fréquente dans le bassin méditerranéen .En Algérie, les feuilles sont utilisées séchées en tisanes et les huiles essentielles en sont extraites pour le traitement de diverses maladies telles que la bronchite, le diabète, le rhumatisme, les blessures et les maladies du système urinaire et digestif. (Talib et al., 2012).

1.8.5. Composition chimiques

Cette plante est composée de flavonoïdes et polyphénols. Elle est très riche en huiles essentielles, dont la concentration varie selon les différentes parties (feuilles, racines et fleurs). Ses composants majoritaires sont le camphre, l'eucalyptol et le thymol (**Benchohra et al., 2011**).

2. Les activités biologiques

2.1. Activité antioxydant

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 antioxydant peut être évaluée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la potentialité antioxydant de l'échantillon à tester (**Sánchez, 2002**). C'est pourquoi notre choix s'est porté sur l'utilisation de test chimique : le piégeage des différents radicaux, le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (test de DPPH).

- **Test de DPPH**

Le DPPH est un radical libre relativement stable à température ordinaire, de couleur violette et qui présente une bande d'absorption maximale à 515 nm dans le méthanol. En présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), il est réduit en 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine (DPPHH) et change de couleur en virant au jaune (Figure). La réduction du DPPH• est suivie par la mesure de la diminution de son absorbance à 515 nm, selon le protocole décrit par (**Brand-Williams et al., 1995**).

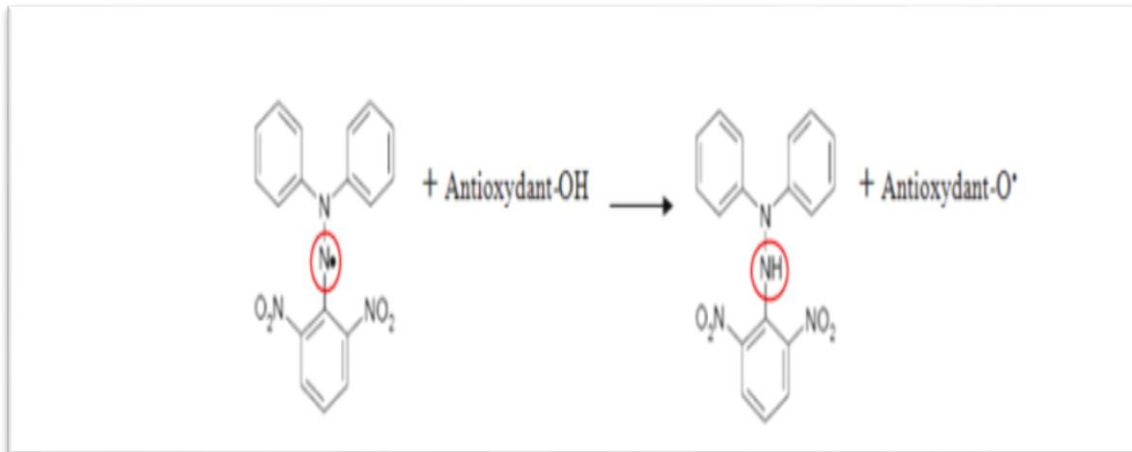


Figure 06 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Michel, 2011)

2.2. Activité antimicrobienne

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections (Cce, 2001). Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : Bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides : lorsque la substance détruit totalement les bactéries.

Chapitre II : Matériel et méthodes

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Al-Bayati. A. F., Khudir D. S, (2007). In vitro activité antimicrobienne de salvadora persica .L. Université de Mossoul. Irak : 57-62.
2. Ameenah G,(2006). Plantes médicinales: traditions d'hier et drogues de demain, Molecular aspects of Medicine 27 (1), 1-93
3. Bahorun T., Gressier B., Trotin F., et al .,(1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. Arznein Forsch/ Drug Res 1–6
4. Bahorun T., (1997). Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une sourced'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research, 83-94
5. Benchohra MA., Hamel L., Bendimered F.Z., Benchohra M,(2011). Chemical composition of essential oil of Inula viscosa. ScienceLib Editions Mersenne,
6. Bock, (2012)
7. Bohlmann F., Herbst P., Dohrmann I., (1963) .Polyacetylenverbindungen, XLIV. ÜberneueAcetylenverbindungenaus der Gattung Chrysanthemum L. Chemische Berichte, 96, 226-236
8. Botanique de France, 70(1) : 139-141.
9. Boullard,(2001)
10. Brand-williams W., Cuvelier M.E., Berset C., (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT- Food Science and Technology, 28 (1): 25-30.
11. Carson et al.,(2006).
12. Cce., (2001). Commission des Communautés Européennes: propositions de la commission en matière de lutte contre la résistance antimicrobienne. Bruxelles, vol
13. Chadouli,(2012).
14. Choi YM, Noh DO, Cho SY, et al., (2006). Antioxydant and antimicrobial activities of Propolis from several regions of Korea. LWT 39: 756–6
15. Cohen, (2013).

Références bibliographiques

16. Dibong, S. D., Mpondo, M. E., Nigoye, A., Kwin, M. F. & Betti, J. L. (2011).
Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun.
[Ethnobotany and phytomedicine of medicinal plants sold in Douala markets] —
Journal of Applied Biosciences 37: 2496 – 2507. ISSN 1997– 5902.
17. J.g marco, "A rapid method for evaluation of ontioxidants " Journal of the American
Oil Chemists 'Society,1968,Vol.(19),page :346
18. Judd et *al.*,(2000)
19. Heywood et *al.*,(2007)
20. Hurtel, J.-M., Huiles essentielles et médecine. Aromathérapie 2006,
21. Ghazghazi.H., Chedia,A., Abdererazak,M. et Brahim,H. (2013). Comparaison des
contenus en polyphénols et de l'activité antioxydantedes extraits méthanoliques des
quatre plantes collectées du nord de Tunisie. Microbial.Hyg.Alim.73(25) : 37-41.
22. Kabouche A., Kabouche Z., Seguin E., Tillequin F., et Bruneau C.(2005). A
phenylethanoid glycoside and flavonoids from *Phlomis crinita* (Cav.) (Lamiaceae).
Biochemical Systematics andEcology. 33 : 813-816
23. Lambinon et al, nouvelle flore de la Belgique du G.D de Luxemburg, du nord de la
France et des régions voisines (ptéridophytes et spermatophytes, Meise, jardin
botanique national de Belgique),6e ed, 1195p, 2012.
24. Lecomte J.(2015). Lutter naturellement contre la Mouche de l'Olive, Saint-Rémy de
Provence, édition sud, « Le choix durable », France : 216 p. [en ligne].
25. Lee K H., (2004). Current developments in the discovery and design of new drug
candidates from plant natural product lead. Journal of Natural Products 67: 273-283
26. Limem-Ben Amor I., Neffati A., Ben Sgaier M., Bhourri W., Boubaker J., SkandraniI.,
Bouhlel I., Kilani S., Ben Ammar R., Chraief I., Hammami M., Ghoul M., Chekir-
Ghedira L., et Ghedira K. (2009). Phytochemistry and biological activities of *Phlomis*
species. Journal of Ethnopharmacology 125: 183–202.).
27. Lin L Z., Harnly J M., (2010). Identification of the phenolic components of
*Chrysanthemum*flower (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). Food Chemistry,
120(1): 319-326

Références bibliographiques

28. Madi,(2009).
29. Michel T., (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Thèse doctorat Université Orléans. 289 p.
30. Mladenova K., Tsankova E., Ivanova B S., 1985, Sesquiterpenelactones from *Chrysanthemum indicum*. *Planta Medica*, 51(3):284–285).
31. Neuwinger,(2000)
32. Novais, M.H., et al. Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, (2004). 93: p. 183-195.
33. Paquet J.M.(2014). l'inule visqueuse (*Inula viscosa*). *Bulltin de la Société*
34. Pottier-alapetite ,(1981)
35. Prieto P, Pineda M, Aguilar M (1999) Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem* 269:337–41)
36. Prior,R.L., Wu,X. et Schaich,K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,53: 4290-4302.
37. Quézel et Santa, (1963); Pottier-Alapetite,(1976); Valdès et al.(2002); Limem-Ben Amor et al. 2009).
38. Quettier-Deleu et al .,(2000)
39. Raymond M. H, Sandy A, Andrey L., Philip D. Cantino, B J. Conn, R J. Grayer, M., Rogier P.J. de Kok, T V., Ramón M, Alan J. Pand P. O.R. "Labiatae" The Families and Genera of Vascular Plants. pages 167-275. In: Springer-Verlag: Berlin; Heidelberg, Germany. volume VII 2004).
40. ReebC. (2010).Plantes mellifères : L'Inule visqueuse. *Abeilles & Fleurs*,720 : 18-20
41. Rivera , (1993). utilisation traditionnel des espèces phlomis
42. Ribereau-Gayon, (1968).principe de dosage de flavonoïde totaux
43. Sambamurty, (2005).
44. Sanchez-morano C., (2002). Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8(3) : 121- 137
45. Singh, (2010)

Références bibliographiques

46. Talib W.H., Zarga M.H., Mahasneh A.M.(2012). antiproliferatives, antimicrobial and apoptosis incucing effects of compounds isolates from *Inula viscose*. *Molecules Journal*, 17: 3291- 3303
47. Tanaka et coll, (1986).
48. Verpoorte R., Contin A., Memelink J,(2002), *Biotechnology for the production of plantsecondarymetabolites*. *PhytochemistryReviews*, 1(1):13-25)
49. Vourela,(2005).
50. Wong SP, Leong LP, William-Koh JH, (2006) Antioxidant activities of extracts of selected plants. *Food Chem* 99: 775–83
51. Wrang P A., Lam J, (1975).Polyacetylenesfrom *Chrysanthemum leucanthemum*.*Phytochemistry*, 14(4):1027–1035).
52. Yuan.Y; eMabberley. D J.; Steane. D.A.;Olmstead. R.G. "Further disintegration and redefinition of *Clerodendrum* (Lamiaceae): Implications for the understanding of theevolution of an intriguing breeding strategy". *Taxon*. 59 (1): 125–133. 2010).
53. Zajac M., Zajac A., Tokarska-Guzik B., 2009, Extinct and endangered archaeophytes andthe dynamics of their diversity in Poland. *Biodiversity, Research and Conservation*, 13(-1):17-24

1. Matérielles végétales

Nous avons étudiés La partie aérienne de ces plantes (*Echium aspernum* L, *Phlomis Crinita* cav, *Dittrichia viscosa* L)

La partie aériennes de 3 espèces sont broyées par un broyeur pour obtenu les matériels végétales final.

2. Extraction des substances bioactives

2.1. Extraction des composées phénoliques

2.1.1. Macération

Macération du matériel végétale broyé (écrasé) 20g avec 100 ml de méthanol (MeoH) pendant 24h à température ambiante .Filtré la solution et répétée un fois avec un volume de 50 ml de méthanol (MeoH) pour extraire le maximum de principe actif .Cette méthode très utilisée pour extraire ce type de composée .

2.1.2. Evaporation

Evaporé l'extrait brut par rotavapeur à une température 45°C.Le résidu obtenu est déterminé en poids pour calculer le rendement.



Figure 07: Rotavapeur de type BÜCHI-R-120 (Oufiada, R et Zekraoui,A ,2019)

2.1.3. Calcul le rendement

Le pourcentage en extrait brut sec méthanolique a été calculé par la formule suivant :

$$R(\%) = M / M_o \times 100$$

R(%) : Rendement exprimé

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M_o : Masse en gramme de matériel végétale à traiter

3. Analyse qualitative

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et leur désorption sur la phase stationnaire, soit de leur différente solubilité dans chaque phase.

On peut classer les méthodes chromatographiques selon la nature des phases utilisées ou celle des phénomènes mis en œuvre dans la séparation.

3.1. Principe de chromatographie sur couche mince (CCM)

Cette méthode se repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en général un mélange de solvants, adapté au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de polyamide ou de silice. Elle nous permet d'avoir les empreintes du contenu polyphénolique et/ou flavonique de l'extrait (Madi, 2009).

3.2. Protocole de chromatographie sur couche mince (CCM)

Phase stationnaire : Plaque en aluminium de gel de silice, ces plaques décomposé : 5cm de diamètre, et 10cm de long.

Phase mobile : est un mélange de solvant, adaptée au type de séparation recherchée.

Tableau 01 : Les systèmes de la chromatographie sur couche minces :

Numéros	Systèmes solvant	Proportion
Système 01	Chloroforme-Méthanol	3 - 1
Système 02	Chloroforme-Méthanol	9 - 1
Système 03	n-Hexane-Chloroforme-Méthanol	7 - 4 - 0.5
Système 04	Dichlorométhane-Méthanol	4 - 0.5

4. Etude quantitative

4.1. Dosage des polyphénols totaux

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

4.1.1. Principe de dosage des polyphénols totaux

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec spectrophotomètre UV- vis en utilisant l'essai généralement Folin Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif acide phosphotugestique (réactif de Folin) dans une solution alcaline (Vourela, 2005).

4.1.2. Procédure expérimentale

Brièvement 200 µl de chaque extrait ont été ajouté à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4minutes. Après l'incubation 800µl de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) 75g/l a été ajouté et agité.

Les polyphénols totaux sont déterminés après 2heures d'incubation à la température ambiante. L'absorbance de la couleur bleue en résultant a été mesurée au $\lambda_{\text{max}} = 765$ nanomètres avec un spectrophotomètre. La quantification a été faite en ce qui concerne la courbe standard de l'acide gallique. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique (EAG) par 100g d'extrait (Wong et al., 2006).

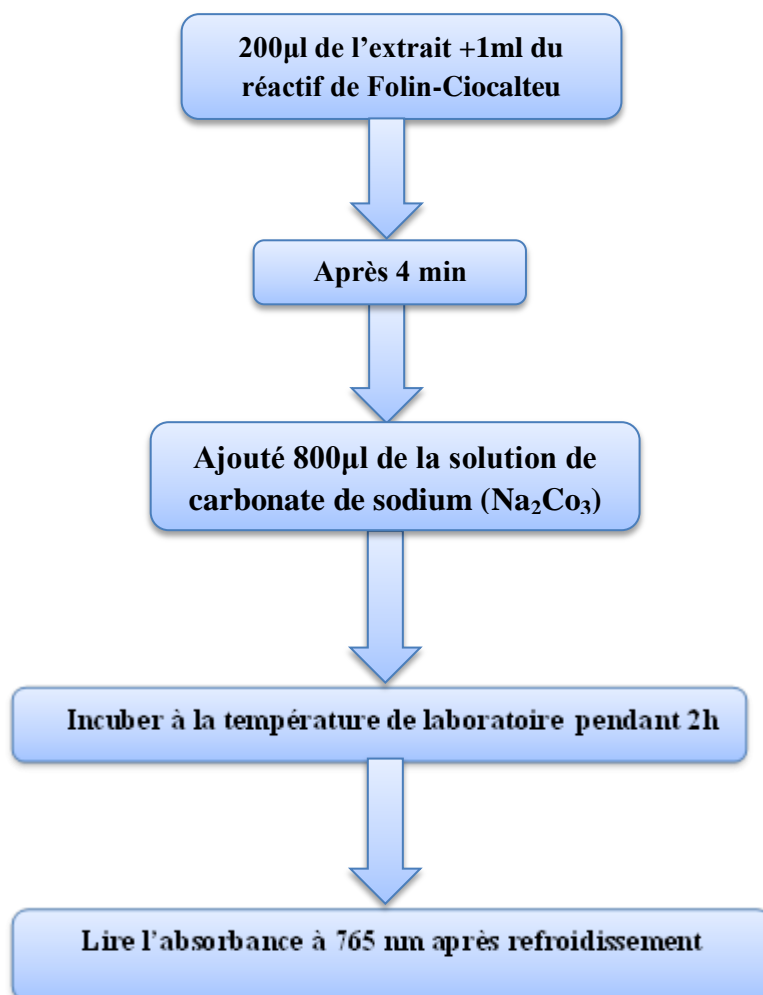


Figure 08 : les étapes de dosages des polyphénols totaux

4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le contenu en flavonoïdes des extraites a été déterminé en suivant le protocole de (Quettier-Deleu et al., 2000), avec quelques modifications.

4.2.1. Principe de dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres en présence de chlorure d'aluminium, grâce aux groupements hydroxyles libres (Ribereau-Gayon, 1968). Ainsi la couleur jaune obtenue est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes dans l'extrait.

4.2.2. Procédure expérimentale

Une quantité de 1 ml de chaque échantillon et de standard (préparée dans le méthanol) est ajoutée à 1 ml de la solution d'AlCl₃ (1%) c à d 1g avec 50ml de méthanol. Après 10

minutes, l'absorbance a été mesurée par rapport au blanc préparé de réactif au $\lambda_{\max} = 430$ nanomètres. Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la gamme de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40 $\mu\text{g/ml}$). Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine par 100 g d'extrait : mg EQ/100g d'extrait (Bahorun T, 1996).

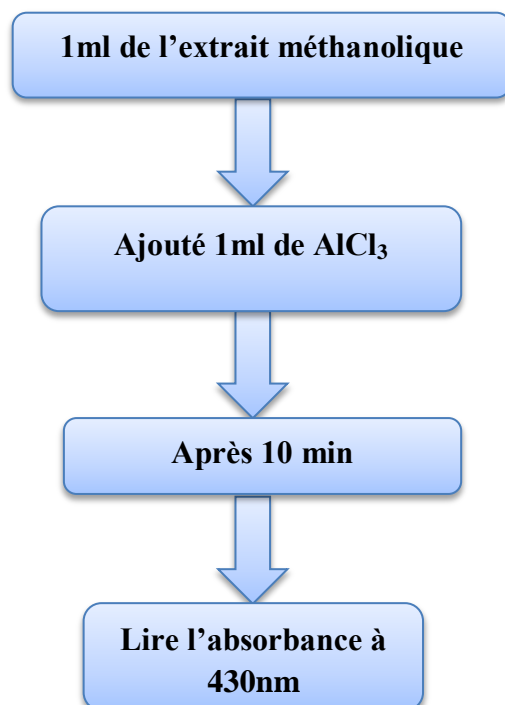


Figure 09 : Les étapes de dosage des flavonoïdes totaux

5. Activité antimicrobienne

Nous avons étudié l'activité antimicrobienne des 3 extraits.

L'activité antimicrobienne des 3 extraits est réalisée en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide afin de déterminer la CMI à trois concentrations (10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml) contre 5 souches bactériennes

5.1. Les souches bactériennes

Souches bactériennes ont été testées : *Staphylococcus aureus* ATCC6538, ATCC25923, *Salmonella enterica* ATCC14028, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

5.2. L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits préparés, on a utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé. Le principe de cette méthode est d'imprégner des disques de papier Whatman n°1 de 6 mm de diamètre avec les substances à tester. Les disques ont été imprégnés dans différentes solutions (20mg/ml) (solution mère) des extraits dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). Une dilution en série de cette solution mère, permet d'obtenir diverses solutions filles (réalisation d'une gamme de concentrations (10mg/ml, 5mg/ml, 2.5mg/ml). Un disque imbibé par le DMSO a été employé en tant que contrôle négatif. Ensuite, ils sont déposés à la surface d'un milieu écouvillonné par une suspension microbienne, gélose Muller-Hinton pour les bactéries, A la fin de la durée d'incubation (18-24h pour les souches bactériennes,) à 37 C°, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Choi ym, Noh do, Cho sy et al ., (2006)).

5.3. Méthode de l'activité antibactérienne

Cette méthode d'est préconisée par (Carson et al., 2006)

- La gélose M-H, préalablement fondue au bain marie bouillon, a été coulée en boîte de pétri à une épaisseur de 4mm.
- Les boîtes de M-H refroidies sont inoculées (par inondation) de 1ml d'inoculum de façon à recouvrir toute la surface gélosée.
- Des disques stériles de 6mm de diamètre sont imbibés d'une quantité suffisante (10ml) de chaque extrait.
- Ces disques imprégnés sont alors déposés sur la gélose et les extraits diffusent radialement des disques dans la gélose en formant un gradient de concentration.
- Les boîtes sont fermées et incubées à température ambiante pendant 20 min, ensuite dans une étuve à 37 °C /24 h.

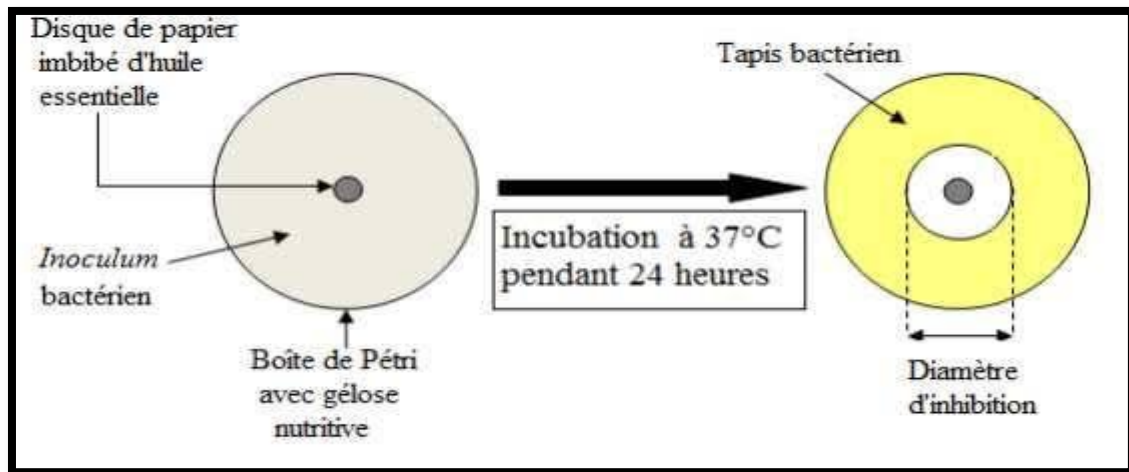


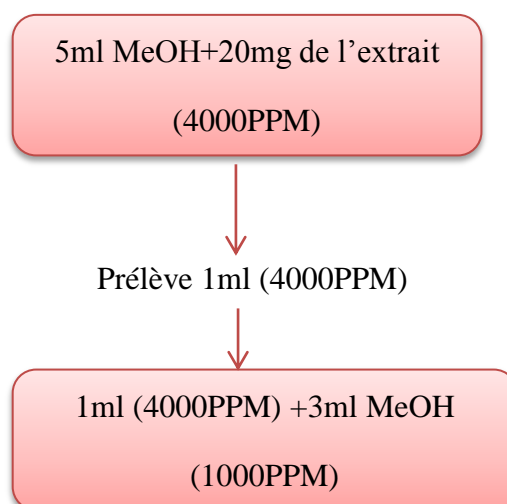
Figure 10 : Principe de la méthode de diffusion par disque. (Guinoiseau, 2010)

6. Activité antioxydant

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. La méthode de DPPH présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide. Le test consiste à mettre le radical

DPPH (de couleur violette) en présence des molécules dites « antioxydants » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical. La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde (Prieto P, Pineda M, Aguilar M, 1999)

6.1. Méthode de l'activité anti oxydant



Préparation de DPPH

2 mg de DPPH avec 50ml méthanol(MeOH), reste pendent 30 minutes.

Avant mesuré l'absorbance de trois extrait, nous préparons les solutions à différentes concentration, (Extrais, MeOH, DPPH) :

Tableau 02 : les solutions préparé dans l'activité antioxydant

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Solution préparé
10 $\mu\text{g/ml}$	2 μl de l'extrait+38 μl MeOH+160 μl DPPH
25 $\mu\text{g/ml}$	5 μl de l'extrait +35 μl MeOH+160 μl DPPH
50 $\mu\text{g/ml}$	10 μl de l'extrait+30 μl MeOH+160 μl DPPH
100 $\mu\text{g/ml}$	20 μl de l'extrait+20 μl MeOH+160 μl DPPH

Chapitre III. Résultats et discussions

1. Le rendement des extraits méthanolique

Les extraits de 3 plantes : *Echium asperrimum L.*, *Phlomis crinita cav.* et *Dittrichia viscosa L.*, sont obtenu à partir d'une poudre fine des parties aérienne de ces plantes et en suivant de méthode d'extraction. Parvenant à un extrait méthanolique brute suite à une macération pendent 24h de la poudre dans le méthanol suivie d'une évaporation de ces dernier.

Les résultats de la présente étude indiquent qu'à partir de 20 g de poudre des 3 plantes (*Echium asperrimum L.*, *Phlomis crinita Cav.* et *Dittrichia viscosa L.*), et 100ml de méthanol(MeOH).Nous avons obtenu des extrait méthanolique considéré comme étant des extrait brut de couleur verte foncée pouvant contenir de la chlorophylle ,des flavonoïdes ,des coumarines, des polyphénols et d'autre composés.

Les rendements sont calculé par rapport au poids total de la poudre de ces plantes, et les 3 extrait sont donné les rendements suivants :

Tableau 03 : Les valeurs de rendement de 3 extraits :

	<i>Echium asperrimum L</i>	<i>Phlomis crinita cav</i>	<i>Dittrichia viscosa L</i>
Rendement ç9(%)	5.5%	3%	9%

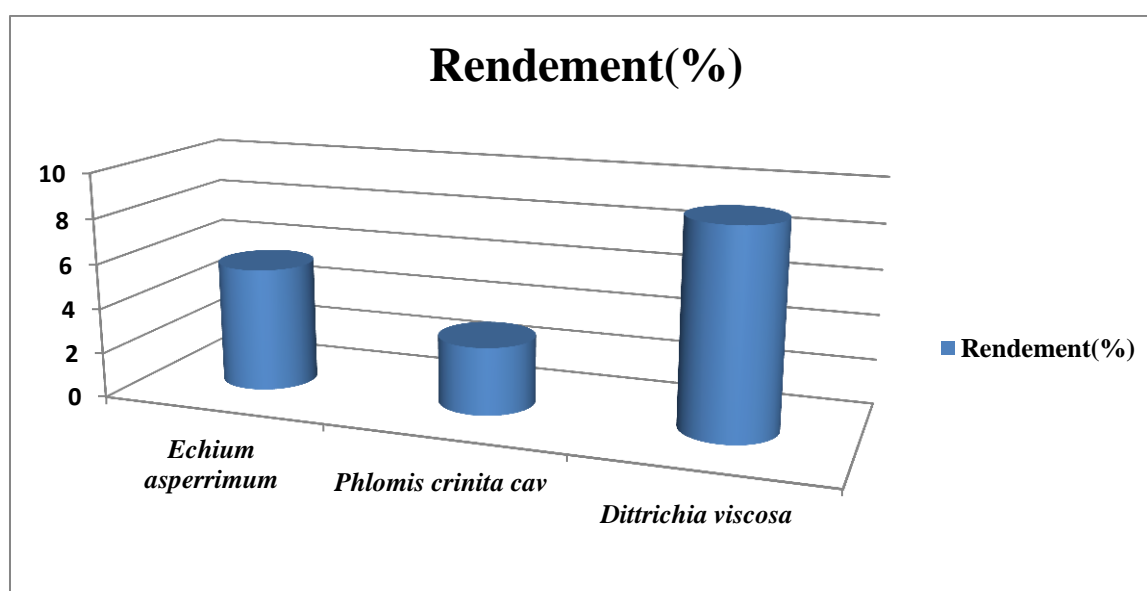


Figure 11 : Le rendement des extraits méthanolique (*Echium asperrimum L.* , *Phlomis Crinita Cav.* et *Dittrichia viscosa L.*)

Les résultats obtenus de notre travail indiquent que les extraits des 3 plantes (*Echium asperrimum* L. , *Phlomis Crinita* Cav. et *Dittrichia viscosa* L.) ont été exprimés en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante.

Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait (*Dittrichia viscosa* L.) : **9%** qui est celui de celui avec l'extrait de l'*Echium asperrimum* L. (**5.5%**) et l'extrait de *Phlomis crinita* Cav. (**3%**).

2. Etude chromatographique par CCM

On utilise 4 types de systèmes 1, 2, 3, 4, chaque un contient un mélange de solutions différentes. Ces systèmes permettent de distinguer les différents composants qui apparaissent sous forme de taches, visibles sous la lumière de l'UV.



Figure 12 : Appareil de l'Ultra – violet (Oufiada, R et Zekraoui, A, 2019)

Pour la plante d'*Echium asperrimum* L. on observe les taches des couleurs suivantes : violette, jaune et orange, bleu, rose, vert.

La deuxième plante est *Phlomis crinita* Cav. : bleu, rose, violette, jaune, vert.

La troisième plante est *Dittrichia viscosa* L. : bleu, rose, jaune, vert.

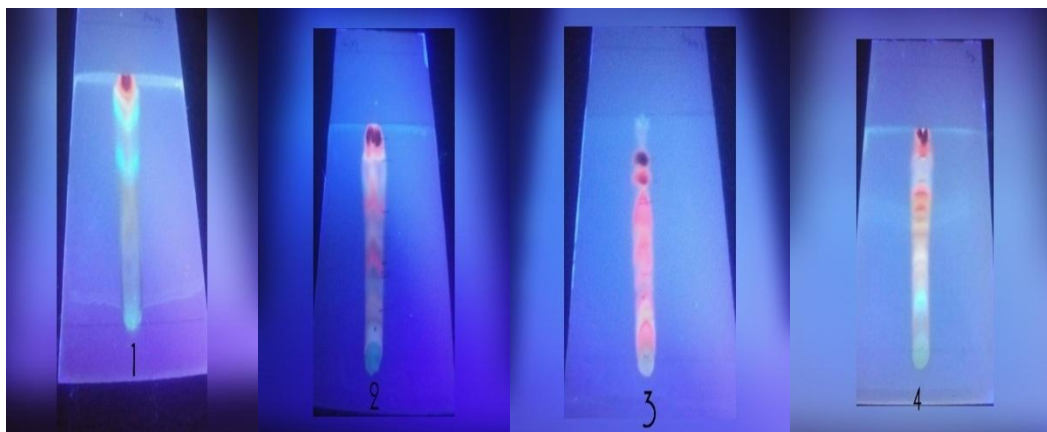


Figure 13 : Différents systèmes : 01, 02, 03 et 04 de la chromatographie sur couche mince sous L'UV de plante (*Echium asperrimum* L.).

Tableau 04 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince (de plante l'*Echium asperrimum* L.) :

Les systèmes	N° des taches	Couleur des spots	Rf
Système solvant 01	04	violette	0.86
		Orang	0.77
		Bleu	0.58
		bleu	0.35
Système solvant 02	07	Violette	0.92
		Rouge	0.87
		Jaune	0.79
		Rouge	0.57
		Rouge	0.33
		Jaune	0.16
		Vert	0.03
Système solvant 03	08	bleu	0.94
		Vert	0.75
		Violette	0.65
		Rouge	0.56
		Rouge	0.41
		Jaune	0.15
		Rouge	0.1
		vert	0.06

Système solvant 04	08	Violette	0.93
		Orange	0.87
		Bleu	0.72
		Rouge	0.65
		Jaune	0.58
		Jaune	0.51
		Bleu	0.35
		Bleu	0.17

Le meilleur système solvant est système 3 et 4 séparées 8 composant :

Système (4) : $Rf_1=0.94$, $Rf_2=0.75$, $Rf_3=0.6$, $Rf_4=0.56$, $Rf_5=0.41$, $Rf_6=0.15$, $Rf_7=0.1$, $Rf_8=0.06$.

Système (3): $Rf_1=0.99$, $Rf_2=0.87$, $Rf_3=0.72$, $Rf_4=0.65$, $Rf_5=0.58$, $Rf_6=0.51$, $Rf_7=0.35$, $Rf_8=0.17$

Le deuxième système (systeme2) séparée 7 composant : $Rf_1=0.91$, $Rf_2=0.87$, $Rf_3=0.79$, $Rf_4=0.57$, $Rf_5=0.33$, $Rf_6=0.16$, $Rf_7=0.03$

Le troisième système (systeme1) séparée 4 composant : $Rf_1=0.86$, $Rf_2=0.77$, $Rf_3=0.58$, $Rf_4=0.35$.

Les systèmes 2,3 et 4 sont le meilleur système puisque les 3 séparée plusieurs composants par rapport le système 1 séparée 4 composants

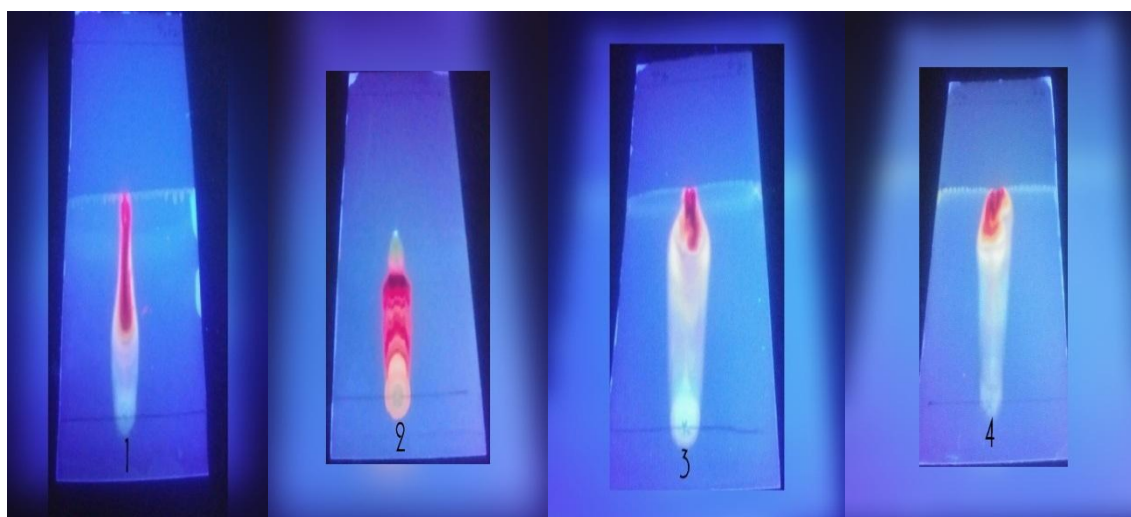


Figure 14 : Différents systèmes : 01, 02, 03 et 04 de la chromatographie sur couche mince sous L'UV de plante (*Phlomis crinita cav.*).

Tableau 05 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince (de plante *Phlomis crinita* cav.) :

Les systèmes	N° des taches	Couleur des spots	Rf
Système solvant 01	03	Rouge	0.40
		jaune	0.35
		Bleu	0.12
Système solvant 02	07	vert	0.83
		violette	0.66
		rouge	0.57
		Rouge	0.38
		Rouge	0.28
		Jaune	0.23
		Jaune	0.12
Système solvant 03	03	Rouge	0.94
		Jaune	0.6
		bleu	0.2
Système solvant 04	04	Rouge	0.86
		Jaune	0.74
		Bleu	0.56
		Bleu	0.3

Le meilleure système solvant est système(2) qui possède 7composant : $Rf_1=0.83$,
 $Rf_2=0.66,Rf_3=0.57,Rf_4=0.38$, $Rf_5=0.28$, $Rf_6=0.23,Rf_7=0.12$.

Le deuxième système (systeme4) séparée 4 composant : $Rf_1=0.86$, $Rf_2=0.74,Rf_3=0.56$,
 $Rf_4=0.3$.

Le troisième système (systeme1et3) séparée 3 composant,

systeme1 : $Rf_1=0.40$, $Rf_2=0.35$, $Rf_3=0.12$

Système 3: $Rf_1=0.94Rf_2=0.6$, $Rf_3=0.2$

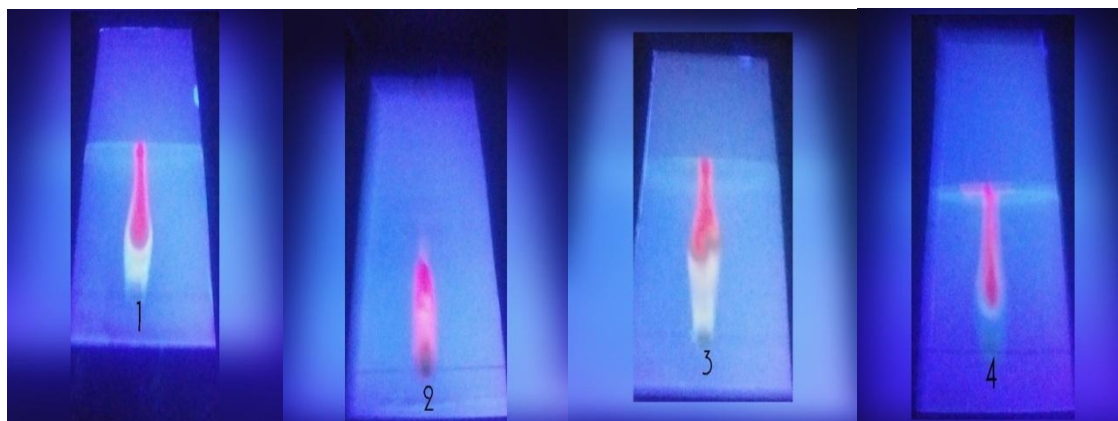


Figure 15 : Différents systèmes : 01, 02, 03 et 04 de la chromatographie sur couche mince sous L'UV de plante (*Dittrichia viscosa* L.).

Tableau 06 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince (de la plante *Dittrichia viscosa* L.) :

Les systèmes	N° des taches	Couleur des spots	Rf
Système solvant 01	04	Rouge	0.74
		Rouge	0.36
		jaune	0.25
		Bleu	0.1
Système solvant 02	03	Rouge	0.62
		Jaune	0.30
		vert	0.10
Système solvant 03	03	Rouge	0.90
		Rouge	0.63
		Jaune	0.36
		bleu	0.09
Système solvant 04	04	Rouge	0.91
		Rouge	0.62
		Jaune	0.28

Le meilleur système solvant est système (1 et 3) qui possède 4 composants système 1: $Rf_1=0.74$, $Rf_2=0.36$, $Rf_3=0.25$, $Rf_4=0.1$.

Système 3 : $Rf_1=0.90$, $Rf_2=0.63$, $Rf_3=0.36$, $Rf_4=0.09$

Le deuxième système (système 2 et 4) sépare 3 composants :

Système 2 : $Rf_1=0.62$, $Rf_2=0.30$, $Rf_3=0.10$

Système 4 : $Rf_1=0.91$, $Rf_2=0.62$, $Rf_3=0.28$

Ces résultats obtenus montrent que les trois extraits (*Echium asperinum* L, *Phlomis crinita* Cav, *Dittrichia viscosa* L) sont séparés des composés phénoliques dans le système N° 1.

Dans le système N° 2 : E1 (*Echium asperinum* L), et E2 (*Phlomis crinita* Cav) possèdent 4 composés phénoliques et E3 (*Dittrichia viscosa* L) possède 3 composants.

Dans le système N° 3 : E1 (*Echium asperinum* L) possède 5 composants, E2 (*Phlomis crinita* Cav) et E3 (*Dittrichia viscosa* L) possèdent 3 composants.

Dans le système N° 4 : E1 (*Echium asperinum* L) possède 5 composants, E2 (*Phlomis crinita* Cav) possède 3 composants et E3 (*Dittrichia viscosa* L) possède 2 composants.

Enfin, dans l'extrait de (*Echium asperinum* L), on observe que la meilleure séparation des composés phénoliques a été enregistrée dans le système 3 et 4, pour le deuxième extrait de *Phlomis crinita* Cav la meilleure séparation a été enregistrée dans le système 2. ainsi que le troisième extrait de *Dittrichia viscosa* L la meilleure séparation a été enregistrée dans les systèmes 1, 2 et 3.

Donc les extraits bruts de trois plantes étudiées contiennent des flavonoïdes qui apparaissent colorés en jaune et orange, la chlorophylle qui apparaît colorée en rouge, les camarines qui apparaissent colorés en bleu, et aussi le terpène qui apparaît colorés en violette et vert.

3. Résultats de l'activité antibactérienne de trois plantes

Nous avons étudié le pouvoir antibactérien des extraits bruts de (*Echium asperrimum* L., *Phlomis crinita* Cav, *Dittrichia viscosa* L. par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé (Muller Hinton).

L'activité antibactérienne de nos produits est estimée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les produits extraits bruts à tester vis-à-vis de 5 germes pathogènes d'origine : *Staphylococcus aureus* ATCC6538, ATCC25923, *Salmonella enterica* ATCC14028, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

3.1. L'activité antibactérienne de *Echium asperrimum* L., *Phlomis crinita* Cav, *Dittrichia viscosa* L. :

Dans le résultat obtenu il apparaît que toutes les souches bactériennes testées sont inhibées par les extraits méthanoliques avec un degré différent.

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition présentes dans les figures. montrent que les extraits sont actifs contre l'ensemble des souches testées et le zone d'inhibition changeant avec la concentration (10mg/ml ; 5mg/ml ; 2.5mg/ml)

Tableau 07 : diamètre de zone d'inhibition de trois extraits : E1 (*Echium asperrimum* L.) E2 (*Phlomis crinita* Cav), E3 (*Dittrichia Viscosa* L.) sur la croissance de *S. enterica*

bactérie	Les extraits	C=10mg/ml	C=5mg/ml	C=2.5mg/ml
<i>Salmonella enterica</i> ATCC14028	Extrait1	8	7	6
	Extrait2	13	11	9
	Extrait3	14	11	9

Les résultats obtenus dans le tableau montrent que l'extrait de *Dittrichia viscosa* L. présente la meilleure activité avec un diamètre de 14 mm, lors du contact avec les souches bactériennes *S. enterica*, et aussi l'extrait de *Phlomis crinita* Cav. présente une bonne activité qui donne

13mm du diamètre ,contrairement l'*Echium asperrimum* L. présente une activité moyenne .Sachant que la zone d'inhibition égale à 8mm.

Tableau 08 : diamètre de zone d'inhibition de trois extrais : E1 (*Echium asperrimum* L.)E2 (*Phlomis crinita* Cav), E3 (*Dittrichia viscosa* L.) sur la croissance de *B.subtilis*

Bactéries	Les extraits	C=10mg/ml	C=5mg/ml	C=2.5mg/ml
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	Extrait1	14	13	12
	Extrait2	13	12	10
	Extrait3	17	15	14

Dans ce cas l'extrait de *Dittrichia viscosa* L. montré un effet significativement très fort contre *B.subtilis*, avec un diamètre 17mm, l'extrait de l'*Echium asperrimum* L et *Phlomis crinita* Cav présent une bonne activité, qui donne une zone d'inhibition avec le diamètre 14mm et 13mm respectivement.

Tableau 09 : diamètre de zone d'inhibition de trois extrais : E1 (*Echium asperrimum* L.)E2 (*Phlomis crinita* Cav), E3 (*Dittrichia viscosa* L.) sur la croissance de *P.aeruginosa*.

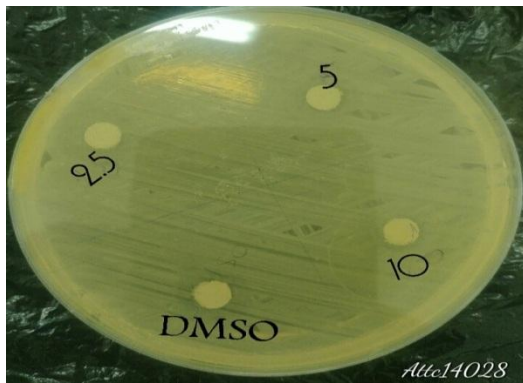
Bacterie	Les extraits	C=10mg/ml	C=5mg/ml	C=2.5mg/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	Extrait1	13	11	7
	Extrait2	14	12	11
	Extrait3	15	15	14

On observe que le *Dittrichia viscosa* L. enregistré la meilleur activité avec un diamètre de 15mm, par rapport *Phlomis crinita* Cav Possède bonne activité par une zone d'inhibition 14mm

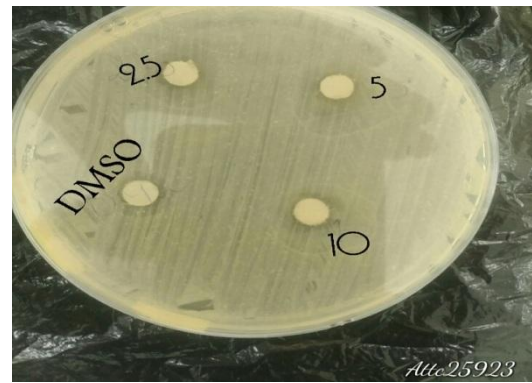
Tableau 10 : diamètre de zone d'inhibition de trois extraits : E1 (*Echium asperrimum* L.)E2 (*Phlomis crinita* Cav), E3 (*Dittrichia viscosa* L.) sur la croissance de *S.aureus*

Bactérie	Les extraits	C=10mg/ml	C=5mg/ml	C=2.5mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538	Extrait1	9	7	8
	Extrait2	13	11	10
	Extrait3	13	12	6

L'extrait brut de *Dittrichia viscosa* L. et de *Phlomis crinita* Cav montré une bonne activité significative contre *S.aureus* avec zone d'inhibition égale à 13mm par rapport l'extrait de l'*Echium asperrimum* L, qui donne une zone d'inhibition de diamètre 9mm avec une activité moyenne



Salmonella enterica subsp. enterica



Staphylococcus aureus subsp. aureus

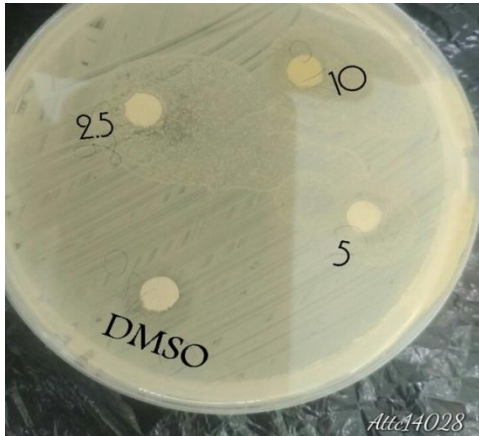


Bacillus subtilis spizizenii



Pseudomonas aeruginosa

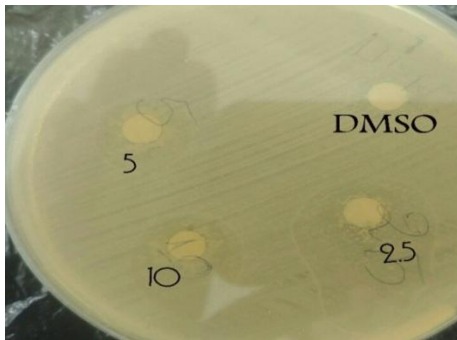
Figure 16 : photos représentatives des zones d'inhibition des souches bactériennes par les extraites (10mg/ml ; 5mg/ml ; 2.5mg/ml) de *Echium aspernum* L.



Salmonella enterica subsp. enterica



Bacillus subtilis .spizizenii

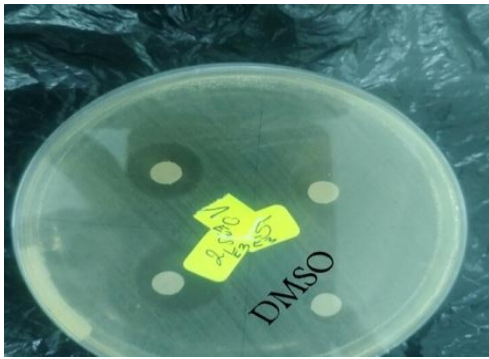


Staphylococcus aureus subsp. aureus

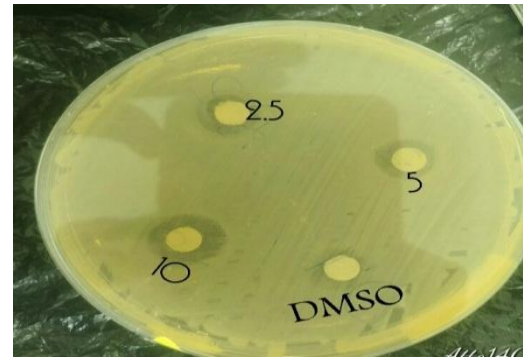


Pseudomonas aeruginosa

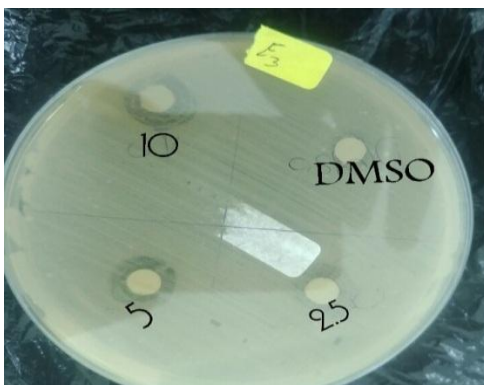
Figure 17 : Photos représentatives des zones d'inhibition des souches bactériennes par les extraites (10mg/ml ; 5mg/ml ; 2.5mg/ml) de *Phlomis crinita* Cav



Pseudomonas aeruginosa



Salmonella enterica subsp. enterica



Staphylococcus aureus subsp. aureus



Bacillus subtilis .spizizenii

Figure 18 : photos représentatives des zones d'inhibition des souches bactériennes par les extraites (10mg/ml ; 5mg/ml ; 2.5mg/ml) de (*Dittrichia viscosa* L)

4. Activité antioxydant de 3 plantes

Dans notre travail nous avons étudié l'activité des extrait de (*Echium asperrimum* L, *Phlomis crinita* Cav. , *Dittrichia viscosa* L). Antioxydant font référence à toutes substance dans assistance à concentration trapue dans les produits alimentaires et capable détourné l'oxydation en jouant une responsabilité dans anti oxydation comme charognard radical libre considérablement, agent réducteur.

- *Echium asperrimum* L.

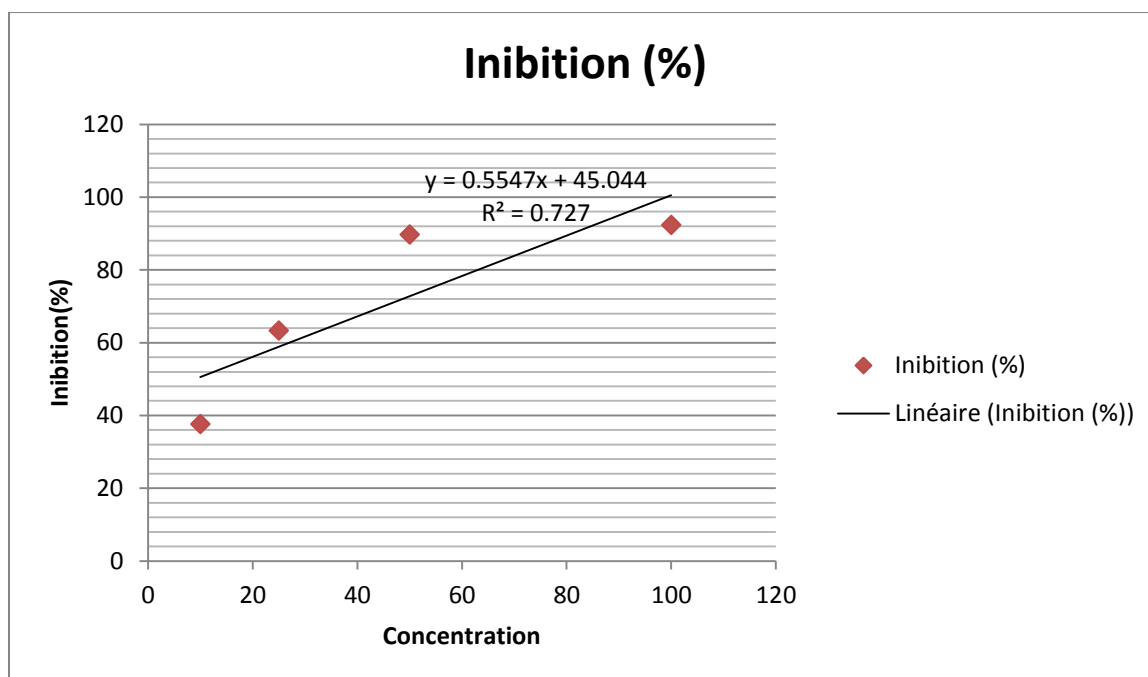


Figure 19 : Capacité antioxydant de l'extrait méthanolique de l'*Echium asperrimum* L.

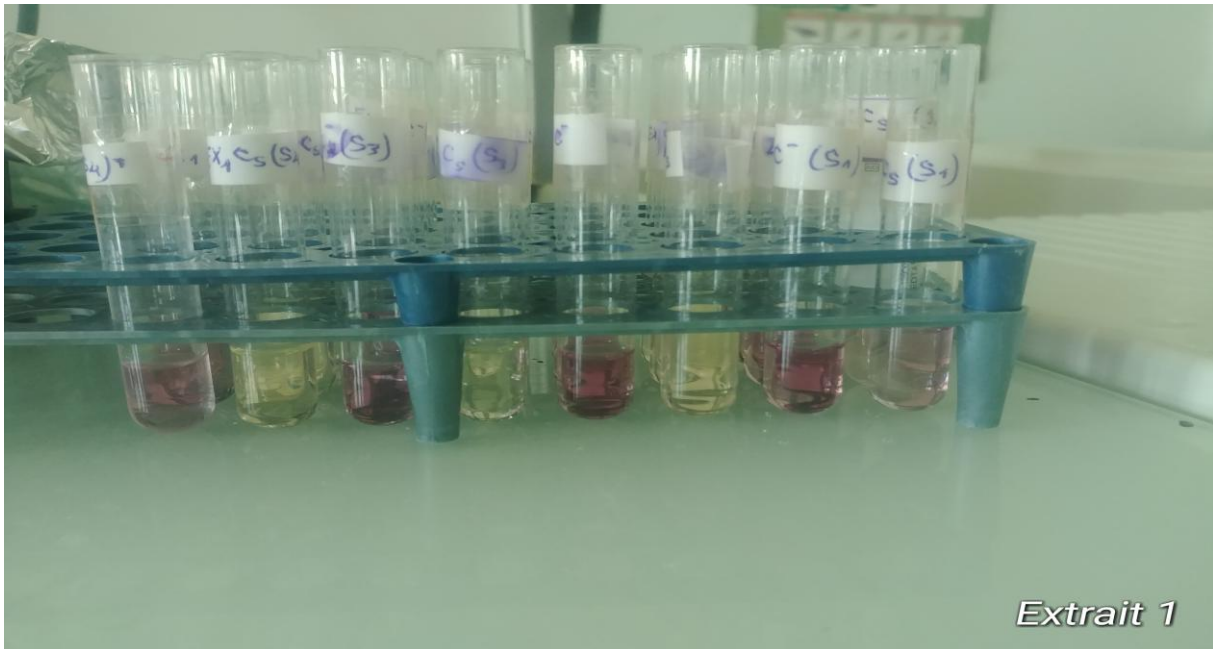


Figure 20 : Activité antioxydant de l'*Echium asperrimum* L.

- *Phlomis crinita* Cav.

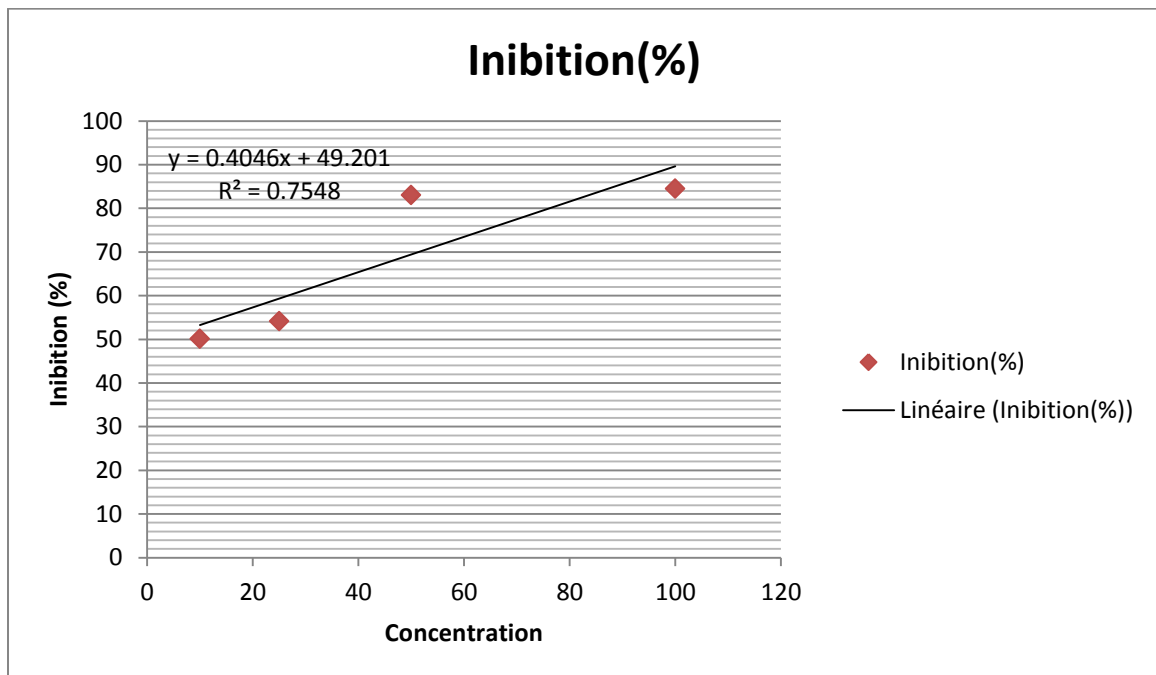


Figure 21 : Capacité antioxydant de l'extrait méthanolique de *Phlomis crinita* Cav

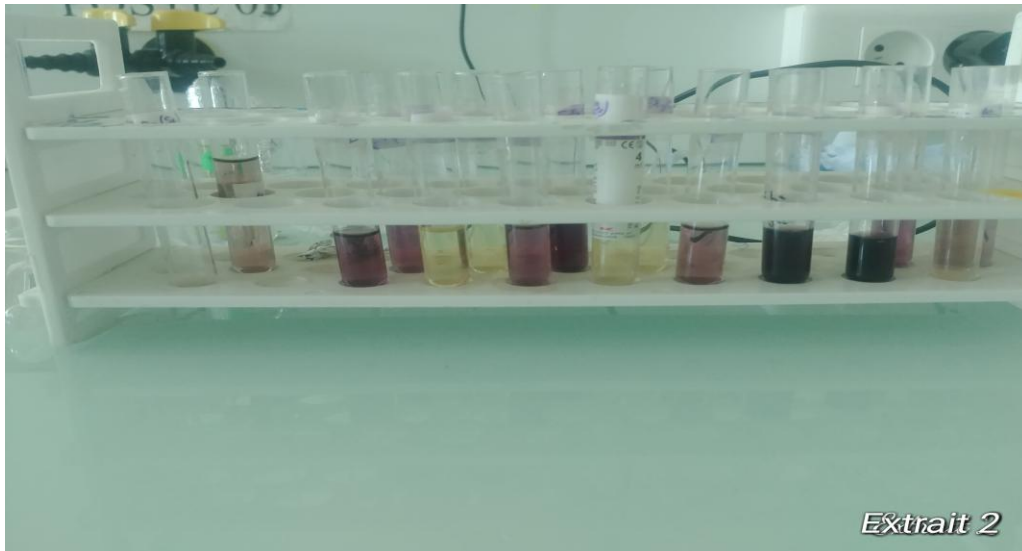


Figure 22 : Activité antioxydant de *Phlomis crinita* Cav.

- *Dittrichia Viscosa* L.

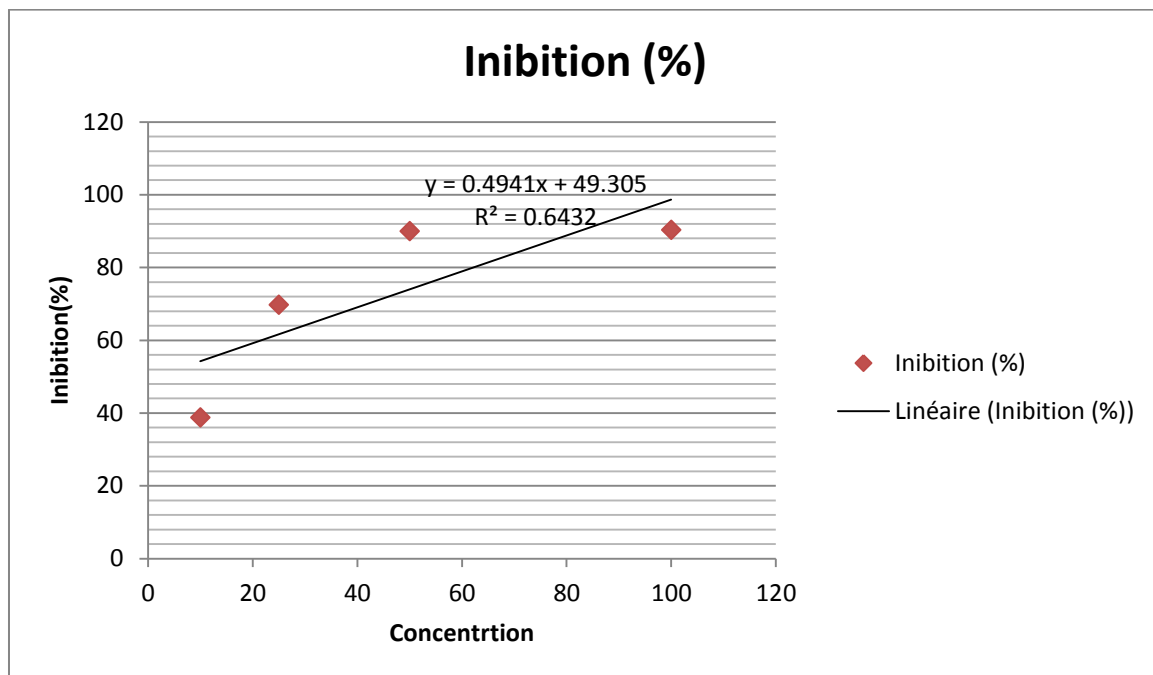


Figure 23 : Capacité antioxydant de l'extrait méthanolique de *Dittrichia viscosa* L.

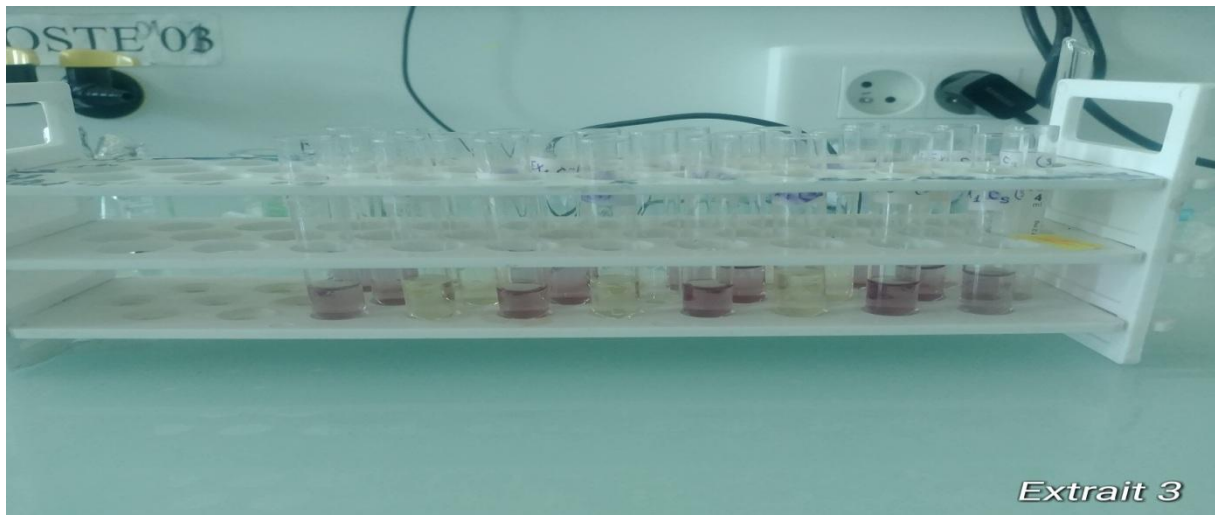


Figure 24: Activité antioxydant de *Dittrichia viscosa* L

✓ **Résultats d'activités antioxydant**

- **Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits de : *Echium asperrimum* L, *Phlomis crinita* Cav, *Dittrichia viscosa* L par la méthode DPPH :**

L'activité anti-oxydant des extraits a été évaluée en utilisant le radical libre DPPH.

Les résultats obtenus sont représentés sous forme de droites dont les équations sont les suivants :

Extrait de l'*Echium asperrimum* L :

$$Y = 0.5547x + 45.044$$

Extrait de *Phlomis crinita* Cav :

$$Y = 0.4046x + 49.201$$

Extrait de *Dittrichia viscosa* L :

$$Y = 0.4941x + 49.85$$

BHT :

$$Y = 0.256x + 25.97$$

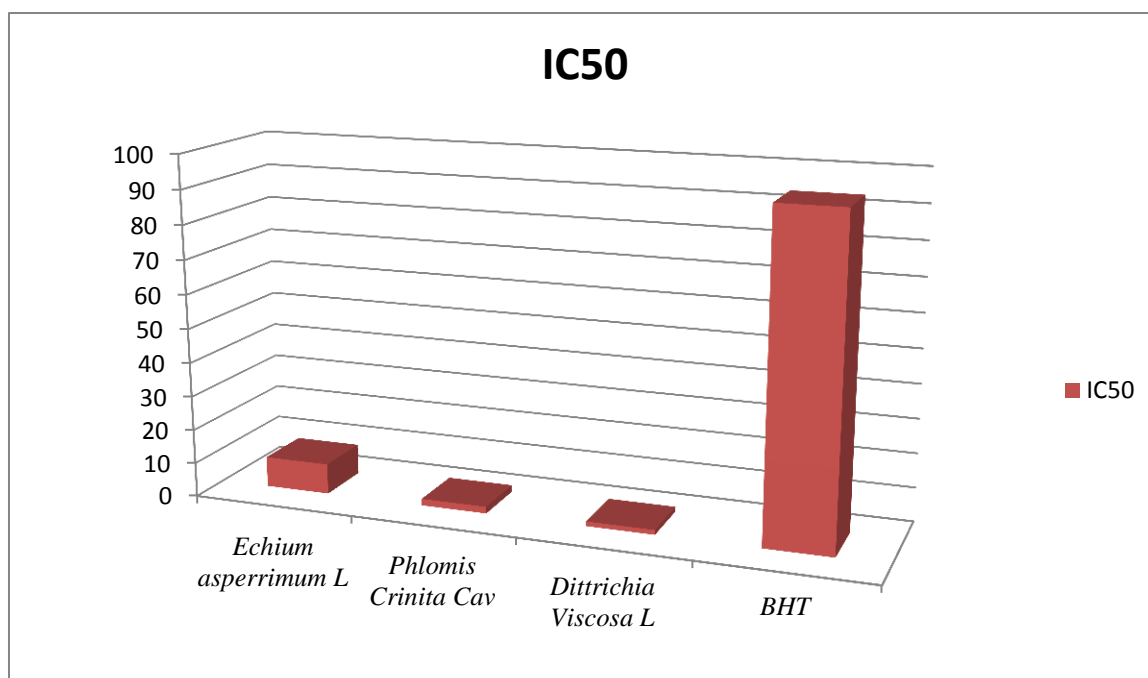


Figure 25 : Représentation de l'inhibition de radical DPPH par l'estimation des valeurs de IC₅₀ déferent extrait de (*Echium asperrimum L.*, *Phlomis crinita Cav*, *Dittrichia viscosa L*)

L'activité antioxydant des extraits a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre, la lecture faite à longueur d'onde 517nm.

La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH passe d'une coloration violette à une coloration jaune (Prior et al., 2005).

L'analyse des résultats d'IC₅₀ de nos extrait (*Echium asperrimum L.*, *Phlomis crinita Cav*, *Dittrichia viscosa L*), montre que l'extrait de *Dittrichia viscosa L* qui donne IC₅₀ = 1.4µg/ml, est la meilleure activité antioxydant par rapport l'extrait de *Phlomis crinita cav* qui IC₅₀=1.97 µg/ml, le troisième extrait est l'*Echium asperrimum L.*, qui donne un valeur de IC₅₀= 8µg/ml.

On constate que les trois extraits présente une bonne activité antioxydant.

5. Dosage des polyphénols totaux :

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard (figure 25). Les valeurs obtenues sont exprimées en mg EAG/g PS (Tableau 06)

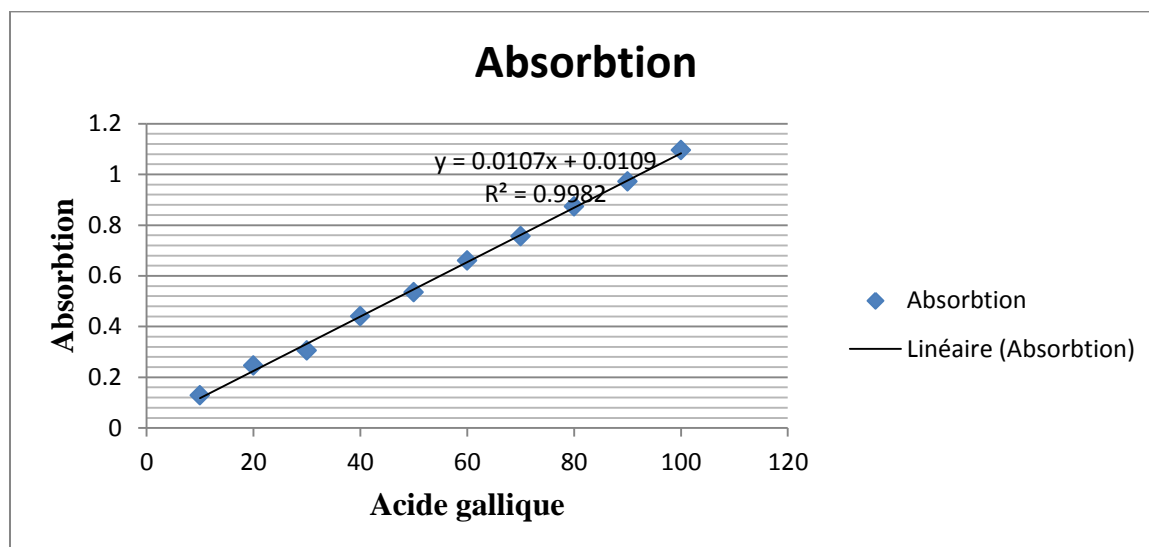


Figure 26: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau 11 : La teneur moyenne en polyphénols totaux des extraits en **mg EAG/g PS** :

Extrait	Quantité des polyphénols totaux en (mg EAG/g PS)	Equation de la courbe	R ²
<i>Echium asperinum</i> L	41.971	Abs=0.0107x+0.0109	0.9982
<i>Phlomis crinita</i> Cav	67.205		
<i>Dittrichia viscosa</i> L	60.855		

Les teneurs en polyphénols totaux de différentes plantes (tableau 08) varient entre 41.971 et 67.205mgEAG/g PS. La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait de *Phlomis crinita* Cav, avec un taux de 67.205 mg EAG/g PS, par rapport aux extraits de *Dittrichia viscosa* L et l'*Echium asperinum* L et, où nous enregistrons des teneurs de l'ordre de 60.85 et 41.971 mg EAG/g PS respectivement.

6. Dosage des flavonoïdes totaux :

Les taux des flavonoïdes des extraits ont été calculé à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la quercitrine comme standard (Figure 26). Ils sont exprimés en termes de mg EQ/g PS.

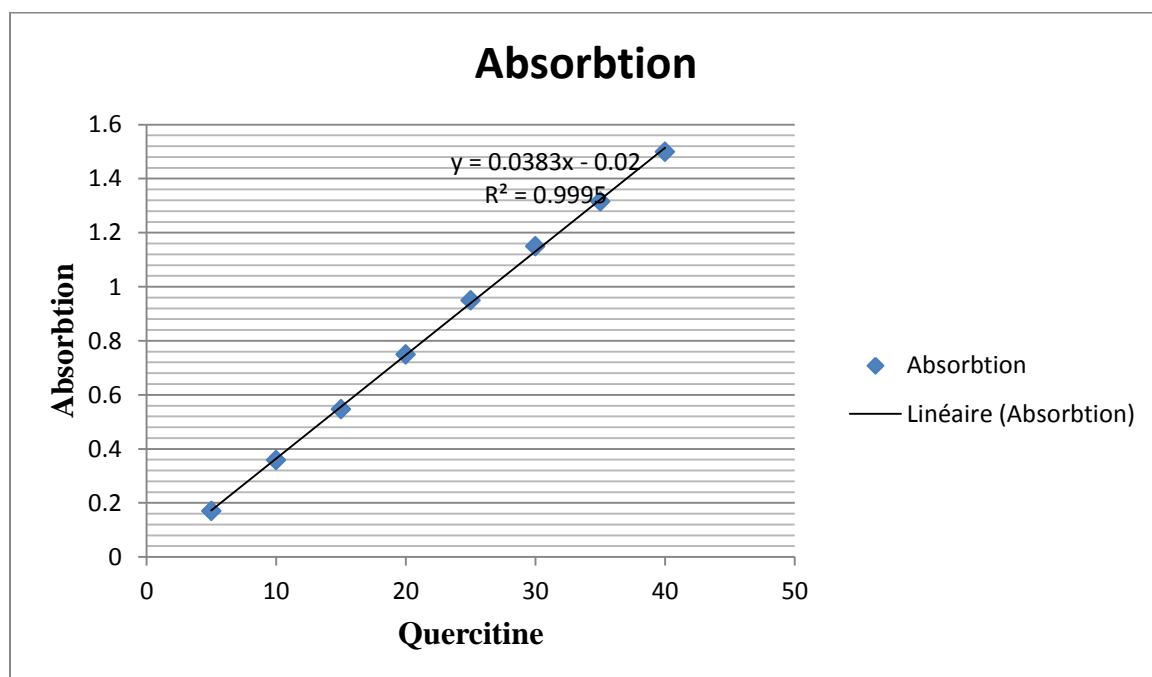


Figure 27 : Courbe d'étalonnage de quercitrine

Tableau 12 : La teneur moyenne en flavonoïdes totaux des extraits en mg EQ/g PS :

Extrait	Quantité des flavonoïdes totaux en (mg EQ/g PS)	Equation de la courbe	R ²
<i>Echium asperrimum</i> L	12.532	Abs = 0.0383x-0.02	0.09995
<i>Phlomis crinita</i> Cav	19.582		
<i>Dittrichia Viscosa</i> L	17.806		

Les résultats présentés dans le (tableau 10) montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les différents extrait. l'extrait de *Phlomis crinira* Cav

enregistre un maximum de flavonoïdes (19.582 mg EQ/g PS), suivi par l''extrait de *Dittrichia viscosa* L, qui renferme des teneurs plus faibles (17.806 mg EQ/g PS) .Tandis que la plus basse concentration des flavonoïdes a été mesurée dans l'extrait de l'*Echium asperrimum* L (12.532 mg EQ/g PS).

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante, dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits. (**Jg marco, 1968**).

Conclusion

Références Bibliographiques

Conclusion

Dans la présente étude trois plantes : *Echium asperrimum* L, *Phlomis crinita* Cav, *Dittrichia viscosa* L, ont été choisis afin de trouver de nouvelles voies d'application tant dans le domaine médical et pharmaceutique.

Ce travail avait pour objectifs d'étude phytochimique de trois plantes médicinales : *Echium asperrimum* L, *Phlomis crinita* Cav, *Dittrichia viscosa* L, et l'évaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne de ces extraits.

Premièrement, notre travail a été consacré à l'identification des rendements en extraits, qui a prouvé que ces derniers se différencient en fonction de l'extrait des 3 plantes.

On a constaté que le meilleur rendement existe au niveau de l'extrait méthanolique de *Dittrichia viscosa* L avec un pourcentage de **9%**. Tandis que le plus faible a été constaté au niveau de l'*Echium asperrimum* L, qui représente un pourcentage de **5.5%** et l'extrait de *Phlomis crinita* Cav, avec un pourcentage de **3%**.

Par la suite, une analyse chromatographique (CCM) a été faite afin de déterminer les composants chimiques des extraits. Cette analyse a montré la présence des composés phénoliques dans les différents extraits des plantes étudiées à l'aide de plusieurs spots de couleurs différents dans les 4 systèmes solvants utilisés.

L'activité antibactérienne des extraits de 3 plantes a été évaluée par méthode de diffusion. Les souches bactériennes testées sont : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats montrent que les extraits ont révélé des activités antimicrobiennes importantes et variables contre les différentes souches bactériennes testées surtout avec la souche *Bacillus subtilis* avec un diamètre de 17mm.

On a terminé le travail par une étude de l'activité antioxydante qui a été réalisée en utilisant un test de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus prouvent l'existence de ce genre d'activité qui est essentiellement moyenne et variable pour les 3 plantes.

Résumé :

L' étude phytochimique sur les plantes médicinales : *Echium aspernum* L.(Borraginacées), *Phlomis crinita* cav(Lamiacées), *Dittrichia viscosa* L(Astéracées),on a fait l'extraction des extraits méthanolique avec macération dans le méthanol .L'analyse des composés phénoliques par CCM permet d'obtenir plusieurs composés phénoliques ,les résultats de cette recherche avéré que les composants phénoliques à une influence sur l'activité biologique de l'ensemble des souches bactériennes testés .Tant que l'effet biologique des extraits(d'*Echium aspernum* L,*Phlomis crinita* cav ,*Dittrichia viscosa* L) est apparait sur les 5 souches bactériennes .

La teneur totale en composés phénoliques a été déterminé en utilisant le réactif de folin –Ciocalteu .Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode AlCl₃.

Les 3 extraits testés ont révélés une activité antioxydant plus importante.

Mots clés : *Echium aspernum* L.,*Phlomis crinita* cav., *Dittrichia viscosa* L.,Borraginacées,Lamiacées ;Asteracées,activité,antioxydant,activité antimicrobiennes, chromatographie sur couche mince, composés phénolique, dosage des polyphenoles et flavonioides totaux

Abstract:

phytochemical study on medicinal plants: *Echium aspernum* L. (Borraginaceae), *Phlomis crinita* cav. (Lamiaceae), *Dittrichia viscosa* L. (Asteraceae), methanol extracts were extracted with maceration in methanol. Phenolic compounds by allows to obtain several phenolic compounds, the results of this research proved that the phenolic components have an influence on the biological activity of all the bacterial strains tested. As the biological effect of the extracts (d *Echium aspernum* L, *Phlomis crinita* cav, *Dittrichia viscosa* L) appears on the 5 bacterial strains. The total content of phenolic compounds was determined using the folin -Ciocalteu reagent. The flavonoids were evaluated using the AlCl₃ method.

The 3 extracts tested revealed a greater antioxidant activity.

Keywords: *Echium aspernum* L., *Phlomis crinita* cav.,*Dittrichia viscosa* L.,Borraginaceae,Lamiaceae ;Asteraceae,antioxydant activity, antimicrobial activity ,Chromatography,phenolic compound,total polyphenolic dosage and total flavonoid dosage.

ملخص :

دراسة كيميائية نباتية على النباتات الطبية : *Echium aspernum* L.,*Phlomis Crinita* Cav,*Dittrichia viscosa* L. حيث قمنا من خلالها باستخلاص المركبات الفينولية بواسطة النقع في الميثانول .التحليل المستخلص الكحولي بواسطة الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة سمحت بفصل العديد من المركبات وحيث تبين من خلال الدراسة ان المركبات الفينولية لها فعالية بيولوجية لمجموع البكتيريا المدروسة .تظهر فعالية *Echium aspernum* L.,*Phlomis crinita* cav ,*Dittrichia viscosa* L على 4 سلالات بكتيرية .

تم تحديد المحتوى الكلي للمركبات الفينولية باستخدام كاشف .Folin –Ciocalteu وتم تقييم مركبات الفلافونويد باستخدام طريقة AlCl₃.كشفت المستخلصات الثلاثة المختبرة عن نشاط مضاد للاكسدة

الكلمات المفتاحية: *Echium aspernum* L., *Phlomis crinita* cav.,*Dittrichia viscosa* L. المركبات الفينولية.الفعالية البيولوجية..كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.نشاط مضاد للاكسدة. نشاط مضاد للبكتيريا.

