

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A.MIRA-BEJAIA  
Faculté de Technologie  
Département de Génie des Procédés



## Mémoire de fin de cycle

Présenté par

**MEHENNI Rafika et RAHMOUNI Meriem**

Pour l'obtention du diplôme de

**Master**

**Filière : Génie des Procédés**

**Option : Science et Technologie du Médicament**

Thème

**Propriétés antioxydantes d'extraits d'une plante médicinale:  
*Globularia alypum*. Application pharmaceutique : solution  
hydro alcoolique.**

Soutenue le : 20 juin 2017

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	
Mme H. BELKACEMI	MCA	à l'Université A.MIRA- Bejaia
Mme T. IKHLEF	MAA	à l'Université A.MIRA- Bejaia
Mr K. BELHAMEL	Professeur	à l'Université A.MIRA- Bejaia
Melle C. BELHAMEL	Doctorante	à l'Université A.MIRA- Bejaia
		Présidente
		Examinatrice
		Promoteur
		Co-promoteur

**Année Universitaire : 2016/2017**



# Remerciement



*Nos remerciements vont tout d'abord à Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et la patience tout au long de ce travail.*

*L'encadrement scientifique de ce travail a été assuré par Monsieur BELHAMEL K, Professeur à l'Université de Béjaia. Nous tenons vivement à lui exprimer notre profonde reconnaissance et notre gratitude pour nous avoir proposé une thématique pour laquelle nous sommes passionnées, et aussi pour sa patience, et sa compréhension.*

*Nous tenons à remercier Madame BELKACEMI H, de nous faire l'honneur de présider le jury de notre mémoire. C'est avec la plus grande considération que nous lui exprimons toute notre estime et notre respect.*

*Nous voudrions remercier également Madame IKHLEF T, de nous honorer de son savoir et de sa présence en tant qu'examinatrice.*

*Nous adressons nos vifs et sincères remerciements au M<sup>lle</sup> BELHAMEL CH pour son aide précieux,*



*En bref, nous remercions toutes personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, un grand merci à tous.*



# Dédicaces

*Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds,*

*Je dédie ce modeste travail*

*A DIEU le Tout Puissant le Tout Miséricordieux. Je me prosterne devant ta  
Grandeur pour te remercier de m'avoir comblée de ta grâce et de m'avoir assistée  
tout au long de ce voyage dans le jardin du savoir, j'implore ta bénédiction et que  
ta lumière guide mes pas. Que toute la gloire te revienne.*

*A mes très chers parents sans eux je ne suis pas pu être ce que je suis, en  
reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant  
toutes mes études.*

*A mes chers frères HABIB, ABDELGHANI et DJELLOUL.*

*A mes chers sœurs SABAH et FARIDA*

*A ma petite nièce ASMA, que Dieu la protège*

*A toute ma famille, à mes amis et à tous ceux qui m'aiment*

*Meriem*





# Dédicaces

*Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds,*

*Je dédie ce modeste travail*

*A DIEU le Tout Puissant le Tout Miséricordieux. Je me prosterne devant ta  
Grandeur pour te remercier de m'avoir comblée de ta grâce et de m'avoir assistée  
tout au long de ce voyage dans le jardin du savoir, j'implore ta bénédiction et que  
ta lumière guide mes pas. Que toute la gloire te revienne.*

*A mes très chers parents djamel et fatiha, sans eux je ne suis pas pu être ce que  
je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements  
durant toutes mes études.*

*A mes chers frères riad, fahim et ma petite sœur aida*

*A Mon fiancé alili.*

*A toute ma famille, à mes amis et à tous ceux qui m'aiment.*

*rafika*



## Liste des figures

N° de Figure	Le titre	Pages
<b>Figure I-1</b>	Photographie de l'aspect morphologique de <i>Globularia alypum</i> (A : plan de la plante, B : sommités fleuries).	<b>3</b>
<b>Figure I-2</b>	Squelette de base des flavonoïdes	<b>6</b>
<b>Figure I-3</b>	Structure générale des tannins hydrolysables	<b>7</b>
<b>Figure II-1</b>	Le séchage de GA	<b>12</b>
<b>Figure II-2</b>	Le broyage de GA	<b>12</b>
<b>FigureII-3</b>	Le tamisage de GA	<b>12</b>
<b>Figure II-4</b>	préparation des extraits de <i>Globularia alypum</i>	<b>13</b>
<b>Figure II-5</b>	Réduction du radical DPPH par un antioxydant	<b>16</b>
<b>Figure II-6</b>	Préparation du milieu de culture	<b>18</b>
<b>Figure III-1</b>	Teneur en composés phénoliques d'extraits des feuilles <i>Glubularia alypum</i>	<b>20</b>
<b>Figure III-2</b>	Teneur en Flavonoïdes d'extrait des feuilles <i>Globularia alypum</i>	<b>21</b>
<b>Figure III-3</b>	Teneur en proanthocyanidines d'extrait des feuilles <i>Glubularia alypum</i>	<b>22</b>
<b>Figure III-4</b>	Teneur en chlorophylle d'extrait des feuilles <i>Globularia alypum</i>	<b>23</b>
<b>Figure III-5</b>	Teneur en carotenoides d'extrait des feuilles <i>Globularia alypum</i>	<b>24</b>
<b>FigureIII-6</b>	pouvoir réducteur d'extrait des feuilles <i>Globularia alypum</i>	<b>25</b>
<b>FigureIII-7</b>	L'activité anti-radicalaire d'extrait des feuilles <i>Globularia alypum</i>	<b>26</b>
<b>Figure III.8.A</b>	Tapie bactériens avant l'ajout de la solution hydro alcoolique	<b>27</b>

<b>Figure III.8.B</b>	Absence de prolifération de bactérie après l'ajout de la solution	<b>27</b>
---------------------------	---	-----------

## Liste des tableaux

<b>N° du Tableau</b>	<b>Le titre du tableau</b>	<b>page</b>
<b>Tableau I</b>	Description de globularia alypum	<b>02</b>
<b>Tableau II</b>	Classification botanique de Globularia alypum	<b>03</b>
<b>Tableau III</b>	Les composés chimiques des feuilles de globularia alypum	<b>05</b>
<b>Tableau IV</b>	Solvants et réactifs utilisés.	<b>10</b>
<b>Tableau V</b>	Matériel utilisé.	<b>11</b>

## Liste des abréviations

<b>AA</b>	Acide ascorbique
<b>AG</b>	Acide gallique
<b>C</b>	Catéchine
<b>Chlo</b>	Chlorophylle
<b>Cy</b>	Cyanidine
<b>DPPH</b>	1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
<b>Eq</b>	Equivalent
<b>ERO</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>GA</b>	Globularia alypum
<b>H2O2</b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>KOH</b>	Hydroxyde de potassium
<b>MS</b>	Matière sèche
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PCA</b>	Plant Count Agar
<b>PM</b>	Poids moléculaire
<b>Q</b>	Quercétine



## Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

### Chapitre I : Synthèse bibliographique sur *Globularia alypum*

I. La plante <i>Globularia alypum</i> .....	2
I.1.Description et classification botanique de <i>Globularia alypum</i> .....	2
I.2.Taxonomie de <i>Globularia alypum</i> .....	3
I.3. Aire de répartition de <i>Globularia alypum</i> .....	3
I.4. Les antioxydants.....	4
I.4.1. Définition.....	4
I.4.2. Utilisations des antioxydants.....	4
I.5. Recherches phytochimiques sur <i>Globularia alypum</i> .....	4
I.5.1. La composition chimique.....	4
1.5.2. La composition chimique des feuilles.....	5
I.5.3. Les acides phénoliques.....	5
I.5.4. Les Flavonoïdes.....	6
I.5.5.Les Tanins.....	6
I.5.5.1. Les tanins hydrolysables.....	7
I.5.5.2. Les tanins condensés.....	7
I.6. Utilisation médicinale du <i>Globularia alypum</i> .....	8
I.6.1. Effet de <i>Globularia alypum</i> dans le traitement des maladies gastro intestinals.....	8
I.6.2. Activité anti-tuberculose des extraits de <i>Globularia alypum</i> .....	8
I.6.3. Activité antidiabétique des extraits de <i>Globularia alypum</i> .....	8

I.6.4. Activité antibactérienne des extraits de <i>Globularia alypum</i> .....	9
--	---

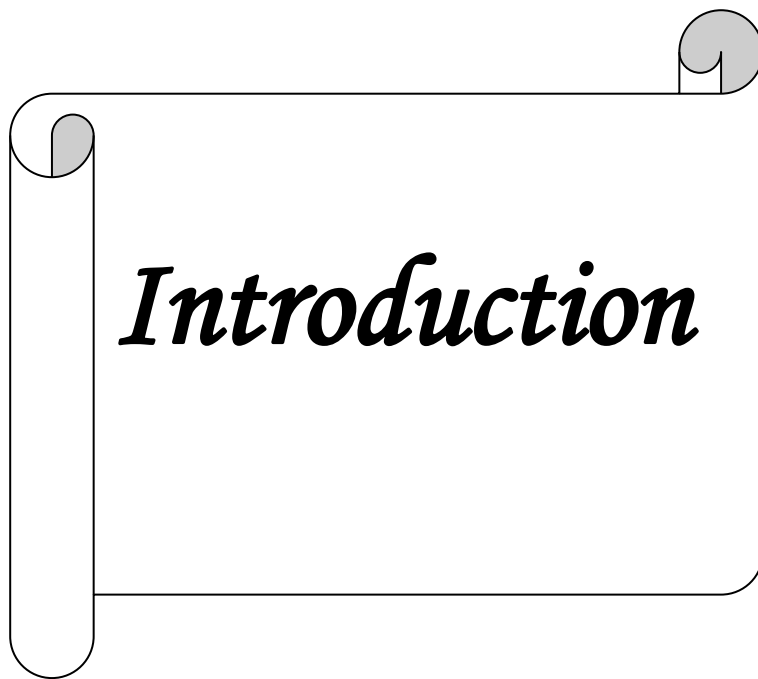
## **Chapitre II : Matériel et méthode**

II.1. Solvants, réactifs et matériels utilisés.....	10
II.2. Matériel végétal.....	12
II.3 Préparation des extraits.....	12
II.4. Dosage des composés phénoliques.....	13
II.5. Dosage des flavonoïdes.....	14
II.6. Dosage des tanins condensés (proanthocyanidines).....	14
II.7. Dosages des chlorophylles et des caroténoïdes.....	15
II.8. Mesure de l'activité antioxydante.....	16
II.8.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	16
II.8.2. Pouvoir réducteur.....	17
II.9.Préparation du gel antibactérien.....	17
II.9.1. Préparation des extraits éthanoliques.....	18
II.9.2. Préparation des dilutions.....	18
II.9.3. Préparation du milieu de culture.....	18

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

III.1.Teneurs en composés phénoliques.....	19
III.2. Teneurs en flavonoïdes.....	21
III.3. Teneurs en tannins condensés (proanthocyanidines).....	22
III.4. Détermination des teneurs en chlorophylles et caroténoïdes.....	23
III.4.1.Chlorophylles.....	23
III.4.2.Les caroténoïdes.....	24

III.5. Activité antioxydante des extraits des feuilles de <i>Globularia alypum</i> .....	24
III.5.1. Pouvoir réducteur .....	25
III.5.2. activité anti radicalaire :.....	26
III.6. L'activité antibactérienne.....	27
Conclusion.....	28
Références bibliographiques.....	30
Annexe	



# *Introduction*

## Introduction

L'oxygène moléculaire est un élément essentiel pour la vie de tous les organismes aérobies, toutefois il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Pastre., 2005**).

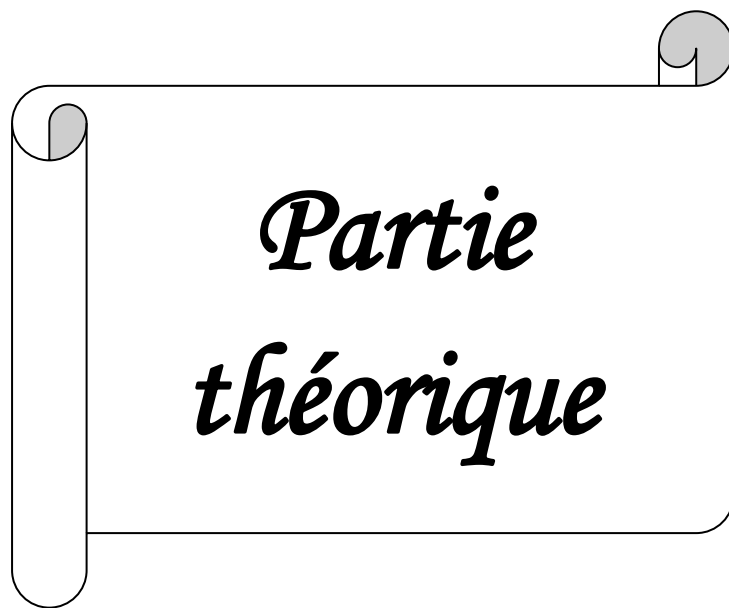
A des doses faibles, les ERO sont très utiles pour l'organisme, ce sont des molécules produites essentiellement par ce dernier dans le processus de transformation des nutriments en énergie (**Wilson et al., 2003**).

A des doses élevées, les ERO deviennent toxiques pour l'organisme, et leur surproduction donne lieu au stress oxydant, qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies telles que les maladies cardiovasculaires et neurologiques, le diabète et le cancer (**Wilson et al., 2003**).

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

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

Dans ce modeste travail, nous nous sommes intéressées en premiers lieu à la détermination de la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes, tannins condensés, caroténoïdes et chlorophylle des extraits bruts de *Globularia alypum* ainsi qu'à l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne d'extrait éthanolique de *Globularia alypum*. Une préparation à base d'une solution hydro alcoolique est élaborée en respectant les normes de l'OMS.



*Partie  
théorique*

## I. La plante *Globularia alypum*

### I.1. Description et classification botanique de *Globularia alypum*

La plante *Globularia alypum*, autrement appelée Globulaire, est une plante classique appartenant à la famille des Globulariacées comprend deux genres dont *Globularia* et *Poskea* et d'environ trente espèces répartis en Europe et en Afrique du nord (**Quezel et Santa., 1963**). Son nom *Globularia* fait référence à la forme globuleuse de l'inflorescence et le terme *alypum* vient du grec *alypon* qui signifie calmé la douleur (**Beniston et Beniston., 1984**). *Globularia alypum* appelée communément «Tasselgha», « Chebra », « Chelr'a », « Zerga », « zeriga », « zoutna », « alk », « haselra », « oulbarda » (**Chograni et al., 2011**). Au Maroc elle est appelée Ein larneb (**Jouad et al., 2002**).

Les espèces de *Globularia*, sont des arbustes ayant des rameaux d'environ de 60 cm de hauteur (30-60cm), à feuilles alternes, dont les fleurs groupées en capitules plus ou moins globuleux entourés de bractées (**Leporatti et Ghedira., 2009**).

la description de *Globularia alypum* est résumée dans le tableau I suivant :

**Tableau I :** Description de *Globularia alypum* (**Beniston et Beniston., 1984**)

<b>Repartition</b>	Toutes les région méditerranées
<b>Ecologie</b>	Lieux sec et arides
<b>Fleurs</b>	Un beau bleu, odorantes, en tetes subssisile, terminales et laterales, larges de 15-20 mm
<b>Taille globule Max</b>	60 cm
<b>Taille globule Min</b>	30 cm
<b>Forme générale</b>	Erigée
<b>Sculence de la feuille simple</b>	Simple
<b>Type biologique</b>	Chaméphyte
<b>Diaposition feuille sur tige</b>	Alterné

## I.2. Taxonomie de *Globularia alypum*

La Taxonomie de *Globularia alypum*, est donnée selon **Quezel et Santa., 1963** dans le tableau II.

**Tableau II:** Classification botanique de *Globularia alypum* (**Quezel et Santa., 1963**).

Règne : Plantae	Embranchement : Angiosperme
Classe : Dicotyledone	Sous classe : Asteridae
Ordre : Scrophlariales	Famille : Globulariaceae
Genre : Globularia	Espèce : Alypum



A



B

**Figure I-1:** Photographie de l'aspect morphologique de *Globularia alypum* (A : plan de la plante, B : sommités fleuries).

## I.3. Aire de répartition de *Globularia alypum*

Cette plante originaire de sud de l'Europe sur le pourtour méditerranéen jusqu'en Grèce, Afrique du nord (Algérie, Maroc jusqu'au Sahara) et Asie (Egypte, Arabie) est répartie en forêts, dans les terrains rocailleux (**Quezel et Santa., 1963**).



## I.4. Les antioxydants

### I.4.1. Définition

Les antioxydants sont des composés chimiques, qui peuvent inhiber ou retarder les dommages oxydatifs et protègent contre de nombreuses maladies (Akshathaet *al.*, 2015). Ce sont des molécules capables d'interagir avec les radicaux libres en empêchant la propagation des réactions en chaîne d'oxydation (Charles., 2013). Les principaux antioxydants sont : la vitamine C et E, les caroténoïdes, les polyphénols et les enzymes endogènes (superoxydasedismutase, la catalase et le glutathion).

### I.4.2. Utilisations des antioxydants

- ❖ En médecine en tant que médicament pour l'homme exemple : les maladies du stress, des activités antioxydants
- ❖ Dans l'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation
- ❖ Dans l'industrie agro-alimentaire ; pour éviter le rancissement des corps gras
- ❖ Dans l'industrie teinturerie ; pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture (Bouhadjra K., 2011).

## I.5. Recherches phytochimiques sur *Globularia alypum*

Les propriétés chimiques des substances naturelles sont utilisées pour leur mise en évidence dans différents extraits des plantes. Le développement de coloration et/ou la formation de trouble (voire un précipité) témoigne d'une réaction spécifique entre les groupements chimiques et les réactifs utilisés.

### I.5.1. La composition chimique

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

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

### 1.5.2. La composition chimique des feuilles

**Tableau III :** Les composés chimiques des feuilles de *Globularia alypum*

Chercheurs (année)	les produits isolés de la plante
<b>Bernard, (1974)</b>	acide cinnamique catalpol acide caféique rutine acide ferulique lutéoléine 7-glucoside acide p-coumarique acide chlorogénique
<b>Khelifi et al., (2011)</b>	Globularine
<b>Cai et al., (2004)</b>	Kaempferol
<b>Es-safi et al., (2007)</b>	Glycoside

### 1.5.3. Les acides phénoliques

Plus de 8000 structures phénoliques ont été identifiées, allant de simples molécules de faibles poids moléculaires (acides phénoliques), aux composés hautement polymérisés comme les tanins (**Martin et andriantsitohaina., 2006**).

Les composés phénoliques sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits et bois), mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus.

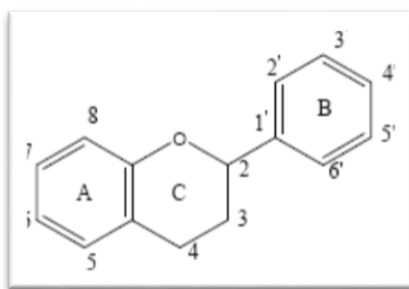
Ils sont aussi des molécules biologiquement actives, largement utilisés en médecine thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, antiradicalaires et antimicrobiens (**Djemai Zoughlache., 2008**).

Parmi les acides phénoliques des feuilles de *Globularia alypum*, on trouve l'acide cinnamique, l'acide globularique, acide caféique (**Chograni et al., 2011**).

### I.5.4. Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes présents dans les feuilles fraîches sont principalement le kaempférol, l'isorhamnétine, avec les rutinosides et glucosides de la Quercétine. Le patuletin a été identifié comme le principal composé d'intérêt (**Ellnain-Wojtaszek et al., 1986, Bucar et al., 2006**).

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Ghedira., 2005**). Ces composés ont un poids moléculaire faible, partageant tous une même structure de base de 15 atomes de carbone arrangés en 3 cycles  $C_6-C_3-C_6$  : A, B et C avec un ou plusieurs substituant hydroxyle (**Kelly., 2002**).



**Figure I-2:** Squelette de base des flavonoïdes (**Krishna et al., 2001**)

A l'état naturel, les flavonoïdes sont fréquemment rencontrés sous forme glycosylée. La présence d'un sucre modifie les propriétés de la molécule par rapport à son analogue non glycosylé en particulier sa solubilité et son hydrophobicité. La liaison entre l'aglycone et l'ose se fait généralement par l'un des hydroxyles phénoliques, en particulier ceux en position 3 (pour les flavonols) ou en 7 (pour les flavones) et parfois en 6 ou 8 si ces positions sont hydroxylées (**Cook et Samman., 1996**).

### I.5.5. Les Tanins

Les tanins sont un groupe de polyphénols à haut poids moléculaire et qui existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles et racines (**Cowan., 1999**). Ces composés sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Les tanins naturels sont subdivisés selon leur

structure chimique en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Machenix *et al.*, 2005).

### I.5.5.1. Les tanins hydrolysables

Ces tanins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosylé, Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique. Ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (Vermerris., 2009).

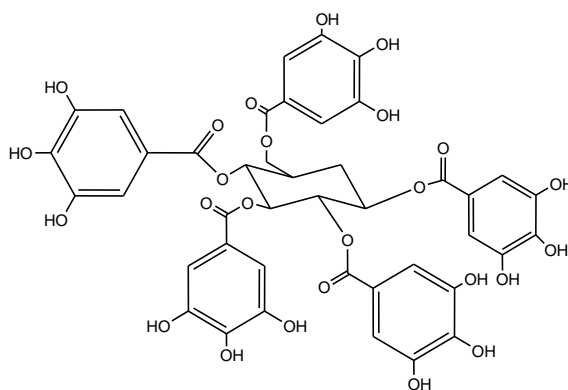


Figure I-3: Structure générale des tannins hydrolysables (Munuda., 2010).

### I.5.5.2. Les tanins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, les tanins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevées. Ils résultent de la polymérisation autooxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et nommé ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A (Dykes,L., 2006)

## **I.6. Utilisation médicinale du *Globularia alypum***

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

Des études bibliographiques confirment que les espèces du genre *Globularia* présentent des activités : anti-tuberculose, cytotoxiques, antioxydants et antidiabétique (**Skim et al., 1999 ; Jouad et al., 2002 ; Es-safi et al., 2006**)), et activité anti-inflammatoire.

*Globularia alypum* pourrait être employé comme inhibiteur de la maladie d'Alzheimer (**khalifi., 2016**), et aussi un traitement des maladies rénales (**Jouad et al., 2002**).

### **I.6.1. Effet de *Globularia alypum* dans le traitement des maladies gastro intestinales**

*Globularia alypum* est utilisée pour soulager les maladies gastro intestinales (**Fehri et al., 2010**). Les substances chimiques responsables de cette activité sont : globularin, aucubin, catalposide, monotropein et catalpol, et quatre autres glucosides d'iridoi-globularicisin, globularidin, globularimin and globularinin.

### **I.6.2. Activité anti-tuberculose des extraits de *Globularia alypum***

Des extraits de *Globularia alypum* ont été étudiés pour leur composition chimique, cette plante à une activité d'anti-tuberculose. Ces études ont montrés que l'activité anti-tuberculose est due à la richesse de cette espèce en polyphénols (acide galique), les tannins (catechine), les anthocyanes (cyanidine), et les flavonoids (quercetine) (**Khelifi et al., 2011**).

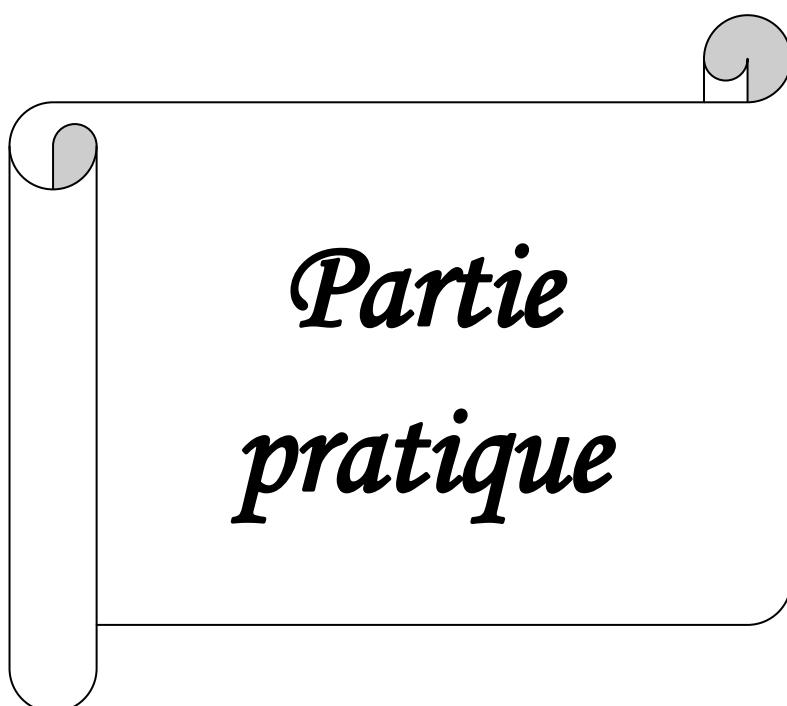
### **I.6.3. Activité antidiabétique des extraits de *Globularia alypum***

**Zennaki et al., (2009)** ont démontré l'activité antidiabétique de *Globularia alypum*. Le traitement du diabète avec cette espèce est lié à la présence de globularin dans ses feuilles, qui est un glucoside d'iridoïde de *Globularia* (**Merghache et al., 2013**).

#### I.6.4. Activité antibactérienne des extraits de *Globularia alypum*

L'espèce *Globularia alypum* présente une activité anti-bactérienne. Les substances chimiques impliquant cette activité sont : (6-hydroxyluteolin 7-O-laminaribioside, eriodictyol 7-O-sophoroside, et 6'-O-coumaroyl-1'-O-[2-(3,4-dihydroxyphenyl) ethyl]- $\beta$ -D-glucopyranoside) et les glycosides de phenylethanoid (acteoside, isoacteoside et forsythiaside) (**khalifi et al., 2016**).

L'huile essentiel contenu dans l'espèce *Globularia* présente une activité antibactérienne, elle est caractérisé par un taux élevé d'acide hexadecanoic (acide palmetic) et d'autres composés importants tel que l'isomère de phytol (Z,Z) - 6,9-cis-3,4-epoxy-nonadecadi; 1,2-Benzeneacide-BRI dicarboxylique; L-linalolet le heptadecane (**Ramdani et al., 2014**).



*Partie  
pratique*



*Materiels et  
méthodes*



## II.1. Solvants, réactifs et matériels utilisés

Les solvants et les matériels utilisés durant nos travaux expérimentaux sont donnés dans le tableau IV et tableau V.

**Tableau IV** : Solvants et réactifs utilisés.

Solvants et Réactifs	La marque	Le pays producteur
Ethanol	GPR RECTAPUR	Comité Européen
Ether diéthylique	PROLABOchemopharm	Comité Européen
3-Methyl-1-butanol		Comité Européen
Chlorure ferreux		Montréal, Québec
Carbonate de Sodium		Montréal, Québec
Trichlorure d'aluminium		Georgia-USA
2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH·)		
Acide trichloracétique (TCA)	BIOCHEMchemopharm	Montréal, Québec
Ferricyanure de potassium		
Ferrosine		
Chlorure ferrique	PROLABOchemopharm	Comité Européen
Le réactif Folin-Ciocalteu		
Hcl	SIGMA-ALDRICH	Allemagne
Sulfate de Fer	CHIM-OZA	
Tampons phosphate ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ , $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	Fluka	Allemagne
Acide ascorbique		
Acide gallique		
Quercétine		
Glycérol		
Peroxyde d'hydrogène		
Eau distillée		
Eau peptonée		

Tableau V : Matériel utilisé.

Matériels	La marque	Le pays producteur
Spectrophotomètre (UV-Vis)	Evolution 600	USA
Balance	RADWAG	Pologne
Plaque d'agitation	VELP Scientifica	Italie
Centrifugeuse	NF 200	Turquie
Bain-marie	Memment	Allemagne
Vortex	VELP Scientifica	Europe
Etuve	WTE binder	Allemagne
Balance analytique	RADWAG	Pologne
Distillateur	GFL	Allemagne
pH mètre	pH 211-HANNA instruments	Romania
Micropipette 100µl	GASY 40	Finlande
Micropipette 50 µl	Soul FinnpipetteStep	Finlande
Micropipette 1000 µl	GASY 40	Finlande
Réfrigérateur	Condor	Algérie
Eprouvette		
Ecouveillant		
Boîtes de pétrie		
Bec benzène		
Râteau		

## II.2. Matériel végétal

Les feuilles de *Globularia alypum L* ont été récoltées durant la période de mois d'avril 2017 dans la région de Tazmalt, wilaya de Bejaia dans un endroit loin de toute pollution. Les feuilles de *Globularia alypum L* ont été identifiées par Nabouti Nasir, herboriste à Tazmalt. Les coordonnées géographiques sont : 36°23'14"N4°24'6"E.

Les feuilles récoltées ont été séchées au laboratoire à température ambiante et à l'air libre. Les feuilles ont été broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, cette dernière a été tamisée à travers un tamis de granulométrie de 200  $\mu\text{m}$ . La poudre obtenue a été conservée dans des flacons en verre fermé et stockés à l'abri de la lumière.



FigureII-1 : Le séchage de GA



Figure II-2 : Le broyage de GA



FigureII-3 : Le tamisage de GA

## II.3. Préparation des extraits

Les extraits éthanoliques (80%), ont été préparés en prenant 50 mg de poudre de feuille de *Globularia alypum* et les additionnés à 10 ml de solvant. Après agitation, pendant 15

minutes à température ambiante, le mélange est centrifugé à 3000 tours par minute pendant 10 minutes. Le surnageant est conservé au réfrigérateur pour des analyses ultérieures.



Figure II-4 : préparation des extraits de *Globularia alypum*

## II.4. Dosage des composés phénoliques

### Principe

La teneur en composés phénoliques des extraits est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, est réduit lors de l'oxydation des polyphénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et d'oxyde de molybdène (Ribereau-Gayon., 1968).

### Mode opératoire

Le dosage des composés phénoliques a été effectué selon la méthode décrite par **Géorge et al., (2005)**. A chaque 1.25 ml d'échantillon, on ajoute 1.25 ml d'une solution (1/10) du Folin-Ciocalteu et 1ml de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75g/l), puis on réalise une incubation pendant 15 min à 50 °C à l'abri de la lumière. Enfin, les absorbances de tous les échantillons ont été mesurées à 760 nm.

La courbe d'étalonnage a été obtenue, dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant comme étalon l'acide gallique (**Annexe I**). Les résultats sont exprimés en mg Equivalent en catéchine par rapport à 1 g la matière sèche (mg EqC/g MS).

## II.5. Dosage des flavonoïdes

### Principe

La formation des complexes jaunâtres, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions  $Al^{3+}$  sur les atomes d'oxygène présents sur les atomes de carbone 4 et 5 des flavonoïdes (**Ribereau-Gayon., 1968**).

### Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode décrite par **Djeridane et al., (2006)**. 500 $\mu$ l de la solution de chlorure d'aluminium à 2 % est additionné d'un même volume de la solution d'extrait. L'absorbance est lue à une longueur d'onde de 430 nm, après un temps de contact de 15 minutes à température ambiante.

La courbe d'étalonnage (**Annexe II**) a été obtenue en utilisant comme étalon la quercétine. Les quantités de flavonoïdes sont exprimées en mg Equivalent en quercétine par g de matière sèche (mg Eq Q/g M.S).

## II.6. Dosage des tanins condensés (proanthocyanidines)

### Principe

Les tannins condensés ou proanthocyanidines sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavan-3-ols. Une particularité des tanins condensés, qui explique leur appellation de proanthocyanidines, est qu'ils libèrent, à chaud et en présence d'acide, des anthocyanes. Il s'agit de molécules de la famille des flavonoïdes qui réagissent avec l'ion  $Fe^{+3}$  pour donner des pigments colorés (**Škerget et al., 2005**).

### Mode opératoire

La teneur en proanthocyanidines des extraits est déterminée en utilisant la méthode de **Škerget et al., (2005)**. 0.5 ml d'extrait ont été mélangés avec 2 ml du réactif butanol-HCl [77 mg de  $FeSO_4$  dissouts dans 500 ml butanol-HCl (2 :3)]. Le mélange est incubé à 95°C pendant 15 mn et l'absorbance est lue à 530 nm. Les résultats sont déterminés selon la loi de

Beer-Lambert et se calcule à l'aide de l'équation suivante :  $T = \left( \frac{Abs \times PM \times 1000}{\epsilon \times l} \right) \times 1000$

En utilisant le poids moléculaire (PM) de la cyanidine (PM = 287,24 g/mol ;  $\epsilon = 34700 \text{ l. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) et les concentrations sont exprimées en mg équivalent de cyanidine par g de matière sèche ( $\mu\text{g Eq Cy /g M.S.}$ ).

## II.7. Dosages des chlorophylles et des caroténoïdes

### Principe

Les chlorophylles « a » et « b » ainsi que les caroténoïdes sont des pigments colorés qui ont la capacité d'absorber la lumière dans le domaine UV-Visible et de donner plusieurs bandes d'absorbance :

- La chlorophylle « a » absorbe dans des longueurs d'ondes spécifiques l'une entre 350nm - 450 nm et l'autre entre 650nm - 690nm.
- La chlorophylle « b » présente une absorbance entre 400nm - 480nm et 620nm - 670nm.

### Mode opératoire

La teneur en caroténoïde dans nos extraits a été déterminée en utilisant la méthode proposée par **Sass-Kiss., (2005)** avec de légères modifications.

Un gramme de poudre sèche a été placé dans le bécher de 50 ml et extrait dans l'obscurité avec 20 ml de n-hexane/acétone/éthanol (2/1/1, v/v/v). Le mélange a été agité et centrifugé pendant 10 mn. Puis, la couche supérieure a été introduite à la pipette dans le bécher de 50 ml et le procédé a été répété deux fois encore.

Les extraits rassemblés ont été recueillis et placés en 100 ml d'ampoule à décanter. Un volume d'hydroxyde de potassium de 10% (KOH) en éthanol a été ajouté pour précipiter les chlorophylles et alors le mélange a été lavé avec de l'eau distillée.

La couche de n-hexane a été récupérée, filtré à l'aide du papier filtre et l'absorbance de l'extrait jaune-coloré a été effectuée à 450 nanomètre.

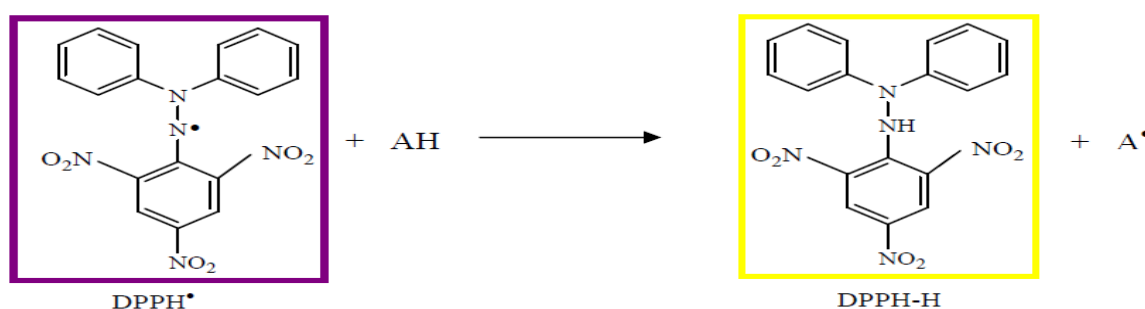
La courbe d'étalonnage (**Annexe III**) a été obtenue en utilisant comme étalon  $\beta$ -carotène. Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent en  $\beta$ -carotène par g de matières sèche du GA (mg eq  $\beta$ -car/g M.S).

## II.8. Mesure de l'activité antioxydante

### II.8.1. Effet scavenger du radical DPPH

#### Principe

La méthode de DPPH<sup>•</sup> est basée sur la mesure spectrophotométrique de changement de la concentration du radical DPPH résultant de la réaction de DPPH<sup>•</sup> avec un antioxydant. Au cours de la réaction, les antioxydants (donneurs de H) réagissent avec le DPPH<sup>•</sup>, qui sera réduit au DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (Figure II-5). Par conséquent, la couleur de la solution change allant du violet au jaune pâle l'absorbance diminue, en passant de la forme radical DPPH<sup>•</sup> à la forme DPPH-H. Le degré de décoloration indique le potentiel de l'activité antioxydante des extraits en termes de capacité de donneur d'hydrogène (**Brand-Williams et al., 1995**).



**Figure II-5** : Réduction du radical DPPH par un antioxydant (Endo et al., 2006).

#### Mode opératoire

Une quantité de 1 ml de DPPH<sup>•</sup> est ajoutée à 100µl de chaque extrait. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm. L'activité antioxydant est exprimée en pourcentage d'inhibition de radical DPPH<sup>•</sup>, et calculée à partir de l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{Abs Témoin} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs Témoin}} \times 100.$$

Avec Abs Témoin: Absorbance du témoin, Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon.

## II.8.2. Pouvoir réducteur

### Principe

Le pouvoir réducteur d'extrait éthanolique est mesuré par la réduction directe des électrons de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$  en  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-4}$ . La formation du complexe  $[(\text{Fe}^{3+})_4[\text{Fe}^{2+}(\text{CN})^{-6}]_3]$  coloré en bleu, est obtenu par l'addition des ions  $\text{Fe}^{3+}$  libres après la réaction de réduction. Ce complexe est quantifié par la mesure de l'absorbance à 700 nm (**Ribeiro et al., 2008**).

### Mode opératoire

Le dosage du pouvoir réducteur est effectué selon la méthode décrite par **Gülçin et al., (2002)**. On introduit dans un tube à essai 500µl d'extrait, 1,25 ml d'un tampon phosphate à (pH 6,6 ; 0,2 M) et 1,25 ml de ferricyanure de potassium  $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$  à (1%). On met le mélange au bain marie à 50°C/20 min, puis on lui ajoute 1,25 ml d'acide trichloracétique à 10 % et on centrifuge à 3000 t pendant 10 min. 1,25 ml du surnageant sont prélevés puis additionnés à 1,25 ml d'eau distillée et 0,25 ml de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) à (0,1 %), enfin on mesure l'absorbance à 700 nm.

La courbe d'étalonnage (**Annexe VI**) a été obtenue, en utilisant comme étalon l'acide ascorbique. Les résultats sont exprimés en mg Equivalent en acide ascorbique par g de la matière sèche (mg Eq AA/g MS).

## II.9.Préparation du gel antibactérien

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

### Les produits utilisés :

- ✓ Extrait éthanolique 96%.
- ✓ Peroxyde d'hydrogène 3%.
- ✓ Glycérol 98%.
- ✓ Eau distillée.

On verse 83,4ml d'alcool nécessaire à la préparation du produit dans une bouteille, à l'aide d'une éprouvette graduée. On ajoute 4,17ml du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), puis on ajoute 1,45 ml du glycérol, Le glycérol étant une substance visqueuse adhérant aux parois puis verser le contenu dans la bouteille servant au mélange.



### II.9.1. Préparation des extraits éthanoliques

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

### II.9.2. Préparation des dilutions

A l'aide d'un écouvillon, on prélève les microorganismes qui existent dans les mains et les cultiver dans le milieu liquide (eau péptonée). Les différentes dilutions sont préparées en utilisant ce dernier. Pour ce faire, à partir de la solution mère (extraits éthanoliques+glycérol+peroxyde d'hydrogène), on prélève 1 ml auquel on ajoute 9 ml d'eau péptonée afin d'avoir une dilution  $10^{-1}$ , puis cette dernière va servir pour préparer la dilution  $10^{-2}$ , et le procédé est répété jusqu'à la dilution  $10^{-5}$ .

### II.9.3. Préparation du milieu de culture

On fait fondre le milieu PCA (Plant Count Agar) dans un bain mari, puis on verse un peu le milieu et on laisse refroidir, Une fois c'est gélifié, auprès du bec benzène on prélève 0,1ml de chaque dilution et on verse dans les boîtes de pétrie, on étale à l'aide d'un râteau.

Afin de testé l'efficacité du notre solution hydro alcoolique on opte pour le protocole suivant, une fois le milieu de culture est refroidi on ensemence à la surface un volume de 0.1ml d'un mélange de solution bactérienne et la solution hydro alcoolique. Les boîtes dans une étuve pendant 48h à 30°C.



Figure II-6 : Préparation du milieu de culture



*Résultats et  
discussion*

Les antioxydants sont largement utilisés comme additifs alimentaires pour prévenir la détérioration des aliments. Bien que l'antioxydant naturel comme l'acide ascorbique montre une activité antioxydant puissante (**Bougatef et al., 2009**), il y a une préoccupation concernant l'effet néfaste des antioxydants synthétiques sur la santé, car ils peuvent être impliqués dans les dommages hépatiques et la carcinogénèse (**Gulcin et al., 2002**).

De même, le traitement par les antibiotiques classiques est associé à plusieurs effets indésirables tel que l'augmentation du risque de saignement, l'émergence importante d'espèces bactériennes résistantes ainsi que les inconvénients associés au traitement avec les antibiotiques incompatibles avec l'administration externe du patient comme le prolongement du séjour à l'hôpital (**Song., 2008**).

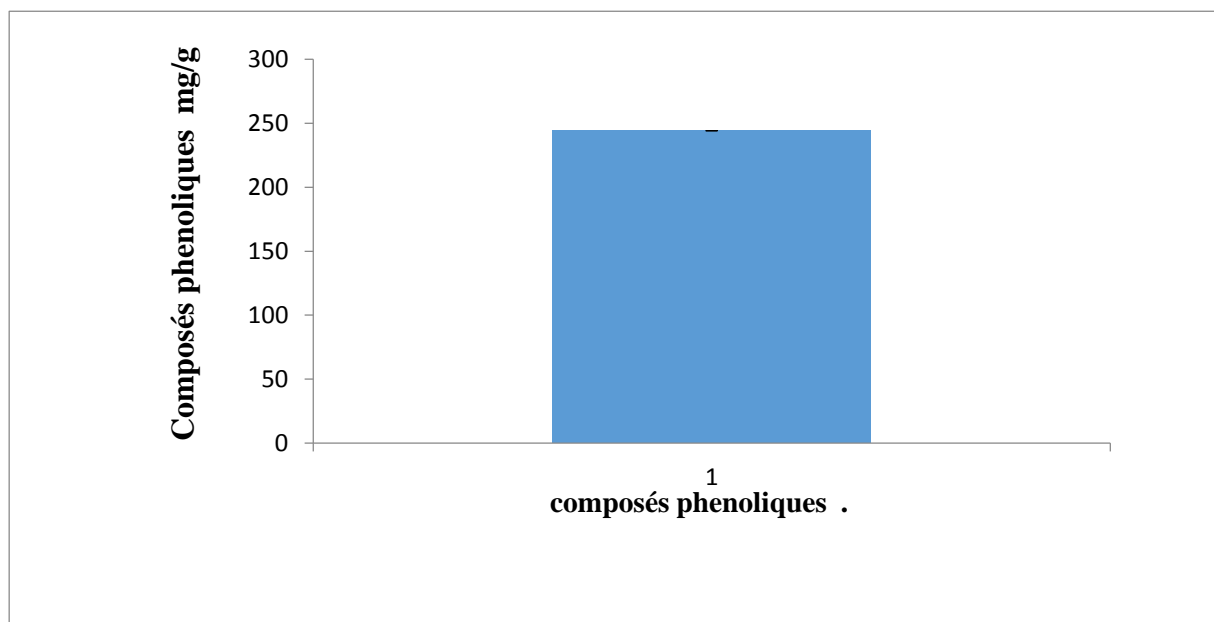
Ce sont les raisons pour lesquelles, la recherche scientifique s'est focalisée récemment sur l'investigation de nouveaux agents antioxydants et antibactériens d'origine végétale particulièrement les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes et tannins) qui peuvent être des alternatifs aux substances synthétiques (**Bougatef et al., 2009**). Dans ce cadre s'inscrit ce modeste travail qui consiste à tester les activités antioxydants et l'activité antibactérienne de la plante *Globularia alypum*.

### **III.1. Teneurs en composés phénoliques**

Les feuilles de notre plante *Globularia alypum* ont été séchées à une température ambiante et à l'abri de la lumière, pour assurer une meilleure élimination d'eau tout en préservant la composition en composés phénoliques, sans provoquer leur volatilisation et dégradation.

La teneur en composés phénoliques des extraits des feuilles de *Globularia* a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie en utilisant la catéchine comme standard.

Les teneurs en composés phénoliques totaux d'extrait éthanolique est représenté dans la figure III-1.



**Figure III-1:** Teneur en composés phénoliques d'extraits des feuilles *Glubularia alypum*

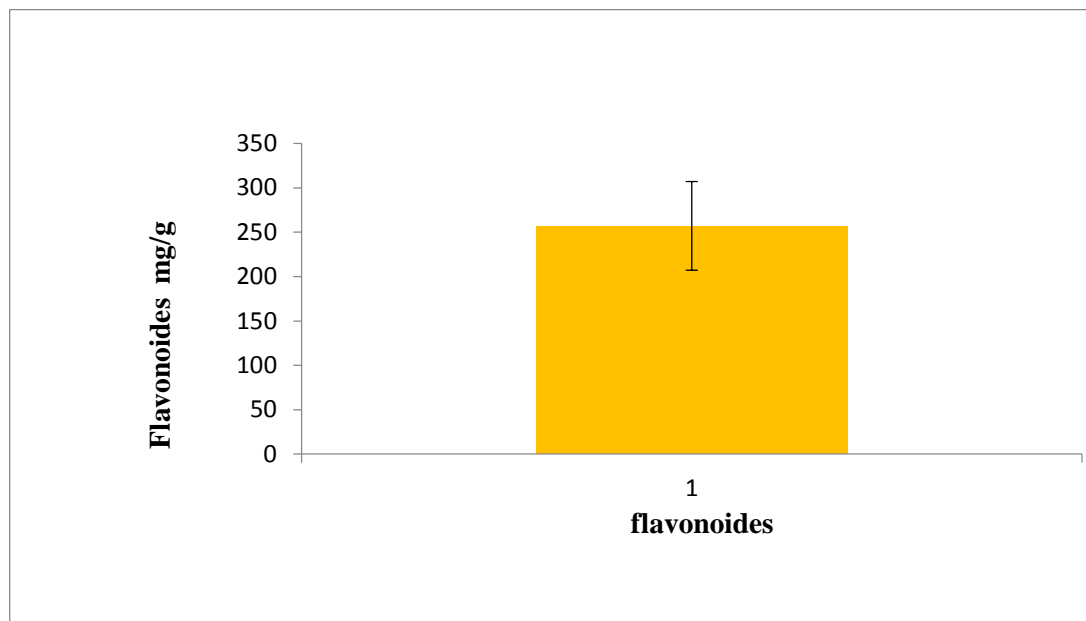
Dans notre travail, la teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique 80 % a été déterminée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, dont le résultat était de  $244,16 \pm 6,39$  mg équivalent de catéchine/g de matière sèche (mg Eq C/g M.S).

Une étude menée par **Khelifi et al., (2011)** montre que l'extrait méthanolique de *Globularia alypum* enregistre une valeur de  $116,89 \pm 2,80$ g équivalent en acide gallique/Kg de matière sèche (g Eq AG/kg M.S) suivi par l'extrait de l'acétone avec une teneur de  $109,46 \pm 1,1$ g Eq AG/kg M.S qui sont largement inférieurs à celle enregistré par notre étude, dont ils présentent presque la moitié.

En comparant aussi avec les travaux effectués par **Djeridane et al., (2006)**, en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction, les résultats montrent que la teneur des phénols totaux dans les feuilles de *Globularia* est de  $21,54 \pm 0,81$  (mg Eq AG/g M.S. Cette variation peut être expliquée que la teneur en composés phénolique est influencé par différents paramètres telle que la période et le lieu de récolte, le climat, les conditions géographiques, la méthode et le temps d'extraction, la solubilité et le type du solvant utilisé (**Naczy et Shahidi., 2004**).

### III.2. Teneurs en flavonoïdes

L'évaluation de la teneur des extraits des feuilles de *Globularia alypum* en flavonoïdes a été estimée selon la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine, et les valeurs sont exprimées en mg d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg Eq Q/g MS). Les teneurs en flavonoïdes d'extrait éthanolique est représenté dans la figure III-2.



**Figure III-2 :** Teneur en Flavonoïdes d'extrait des feuilles *Globularia alypum*.

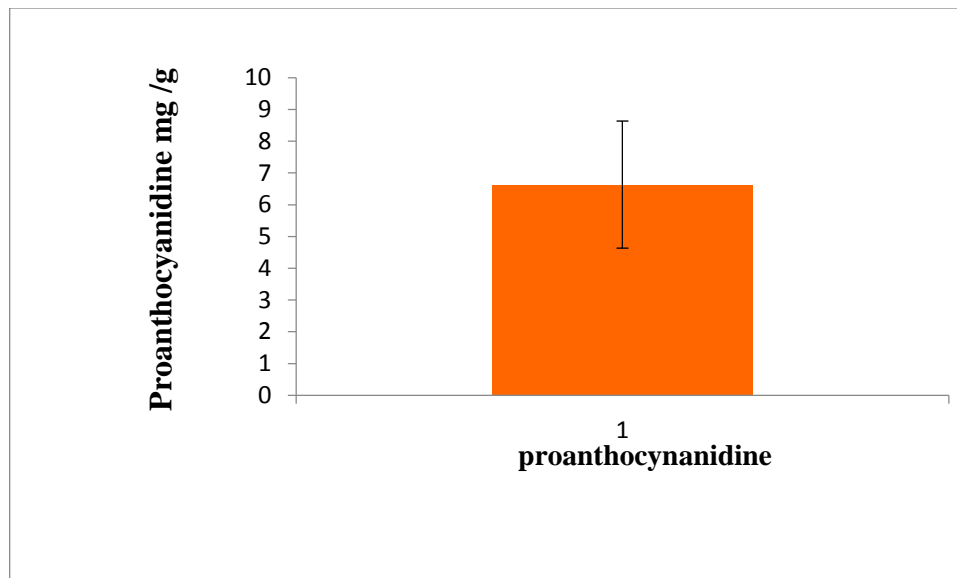
Notre résultat obtenu avec l'extrait éthanolique à 80% est de  $257,17 \pm 3,42$  mg Eq Q/g M.S, et cela implique que les feuilles de *Globularia alypum* possèdent un taux très important en flavonoïdes.

Notre résultat est largement supérieur à ceux obtenus par **Feriani et al., (2017)**, qui ont déterminé la teneur en flavonoïdes des extrais méthanoliques des feuilles de *Globularia* qui est de  $36,56 \pm 3,25$  mg Eq Q/g M.S, ainsi que les travaux de **Khelifi et al., (2011)** qui ont utilisé comme solvant d'extraction le méthanol et ont montré que la teneur en flavonoïdes dans les feuilles de *Globularia* est de  $18,20 \pm 0,25$  mg Eq Q/kg M.S.

Cette différence peut être expliquée par le fait que la méthode d'extraction ainsi que la région et la période de la récolte sont différentes, et aussi le solvant utilisé pour l'extraction est différent.

### III.3. Teneurs en tannins condensés (proanthocyanidines)

Les teneurs en tannins condensés (proanthocyanidines) sont représentées dans la figure III-3



**Figure III-3:** Teneur en proanthocyanidines d'extrait des feuilles *Globularia alypum*

Notre extrait éthanoliques enregistre la teneur en proanthocyanidine avec une valeur égale à  $6,63 \pm 0,4$   $\mu\text{g}$  équivalent de Cyanidine /g de matière sèche ( $\mu\text{g}$  Eq C/g M.S).

D'après **Touaibia et al., (2015)** la teneur en proanthocyanidines de l'espèce *Globularia* avec deux méthodes d'extractions, la première méthode l'extrait d'éthanol a été obtenu en utilisant l'appareillage de Soxhlet, par contre la deuxième méthode a été basée sur une macération simple en éthanol.

Les résultats obtenus sont  $30,65 \pm 0,11$  ( $\mu\text{g}$  Eq C/g M.S), et  $5,64 \pm 0,16$  ( $\mu\text{g}$  Eq C/g M.S) respectivement.

Une autre étude menée par **Khelifi et al., (2011)** montre que l'extrait méthanolique de *Globularia alypum* enregistre une valeur de  $1,40 \pm 0,06$  (g Eq C/Kg M.S), suivi par l'extrait de l'acétone et l'eau avec des teneurs de  $2,79 \pm 0,07$  (g Eq C/Kg M.S),  $4,40 \pm 0,06$  (g Eq C/Kg M.S) respectivement.

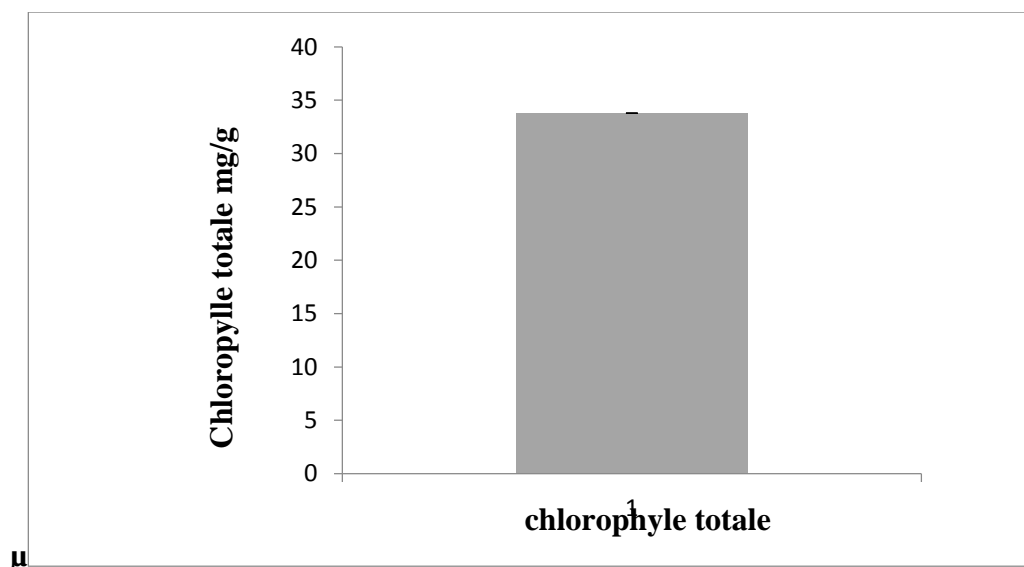
Ces résultats sont largement supérieurs aux ceux enregistrés par notre étude, et cela pourrait être dû au type de solvant utilisé pour l'extraction et aux conditions opératoires (**Chavan et al., 2001**).

### III.4. Détermination des teneurs en chlorophylles est caroténoïdes

#### III.4.1. Chlorophylles

La chlorophylle est le principal pigment photosynthétique. Elle est présente chez tous les organismes photosynthétiques, elle est à l'origine de leur couleur verte car elle absorbe fortement la lumière visible. Il existe différentes formes de chlorophylles, dont les seules présentes chez les végétaux supérieurs sont la chlorophylle **a** et la chlorophylle **b**. la chlorophylle **a** est le pigment majoritaire qui converti l'énergie lumineuse en énergie chimique. La chlorophylle **b** participe directement dans la photosynthèse en transférant l'énergie absorbée a la chlorophylle **a** (Féret., 2009 ; Nayek et al., 2014).

Les teneurs en chlorophylle sont représentées dans la figure III-4.



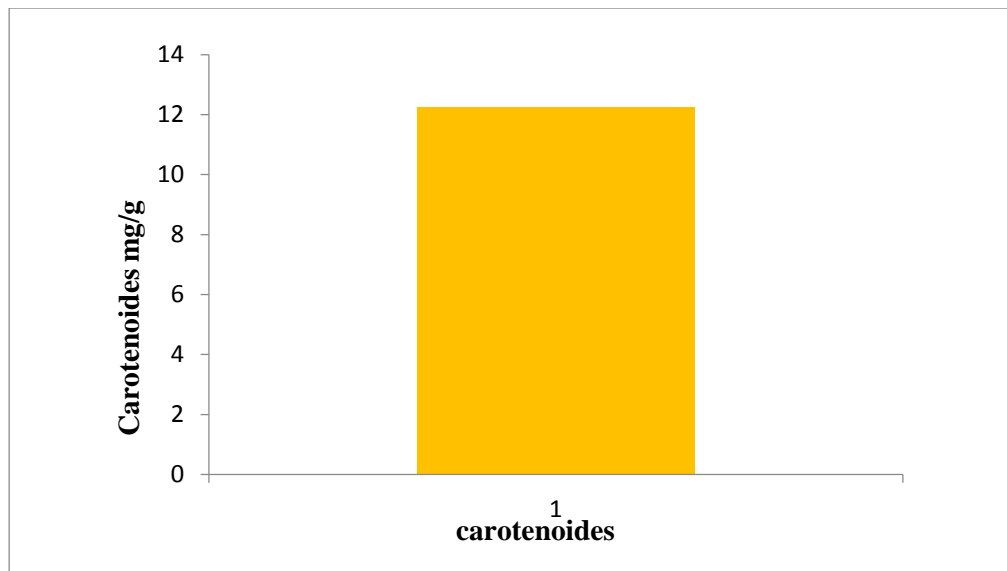
**Figure III-4 :** Teneur en chlorophylle d'extrait des feuilles *Globularia alypum*.

La teneur totale en chlorophylles est de  $33,78 \pm 1,06$  (mg/gMS), la teneur en chlo **a** est de  $14,533$  (mg/gMS) et la teneur en chlo **b** est de  $19,24$ (mg/gMS).

La différence des teneurs en chlorophylles de *Globularia alypum* peut être expliquée par les différences de concentrations du sol en métaux tels que  $Mg^{2+}$  et  $Cu^{2+}$ . En effet le magnésium participe aux propriétés optiques de la molécule de la chlorophylle (Féret., 2009).

### III.4.2. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des antioxydants puissants et ont un effet scavenger des radicaux libres (Grassmann et al., 2002).



**Figure III-5 :** Teneur en caroténoïdes d'extrait des feuilles *Globularia alypum*

On a trouvé une teneur en caroténoïdes de 12,27 mg /gMS, en comparaison avec les résultats obtenus par **Ouchemoukh., (2016)**, qui a trouvé une valeur de 60,3 mg/gMS dans les fleurs de GA, en constate donc une grande différence et cela est dû à la présence des caroténoïdes dans les fleurs plus que dans les feuilles.

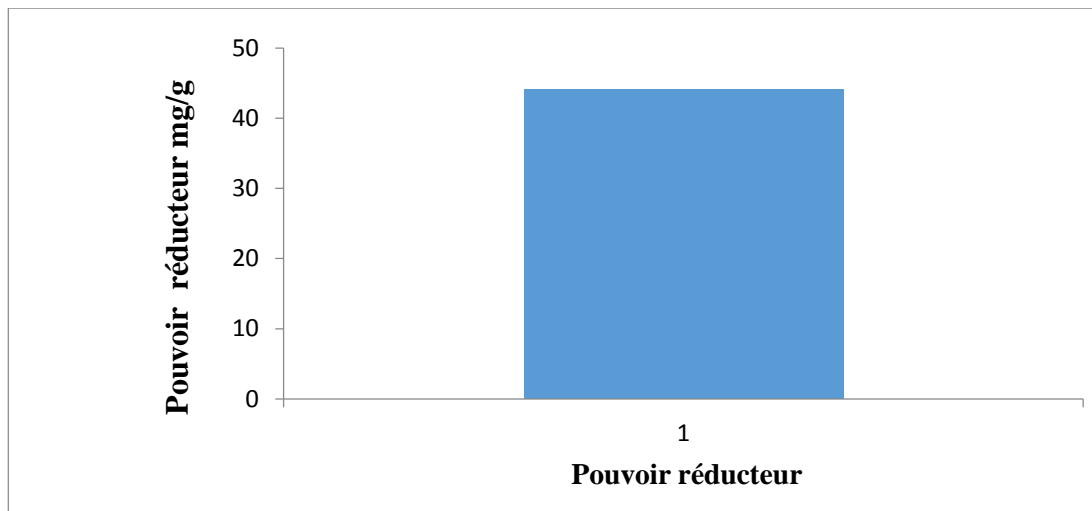
### III.5. Activité antioxydante des extraits des feuilles de *Globularia alypum*

Le potentiel antioxydant des polyphénols est désormais munis d'un grand intérêt du à son effet chimio protecteur contre les maladies dégénératives telles que les maladies neurologiques et cardiovasculaires ainsi qu'à son effet inhibiteur de la peroxydation lipidique des denrées alimentaires (**Bubonja-Sonje et al., 2011**).

Les processus oxydatifs sont multiples et la nature de l'activité antioxydant peut être multiforme et attribuée à différents mécanismes tels que le piégeage des radicaux libres, la chélation des ions métalliques de transition, la prévention de l'initiation d'une chaîne de réactions productrice des Espèces réactives oxygénées et la décomposition des peroxydes (**Ozen., 2009**). Ainsi, la combinaison de plusieurs tests antioxydants complémentaires est utile afin d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits (**Ksouri et al., 2009**).



### III.5.1. Pouvoir réducteur



**Figure III-6** : pouvoir réducteur d'extrait des feuilles *Globularia alypum*

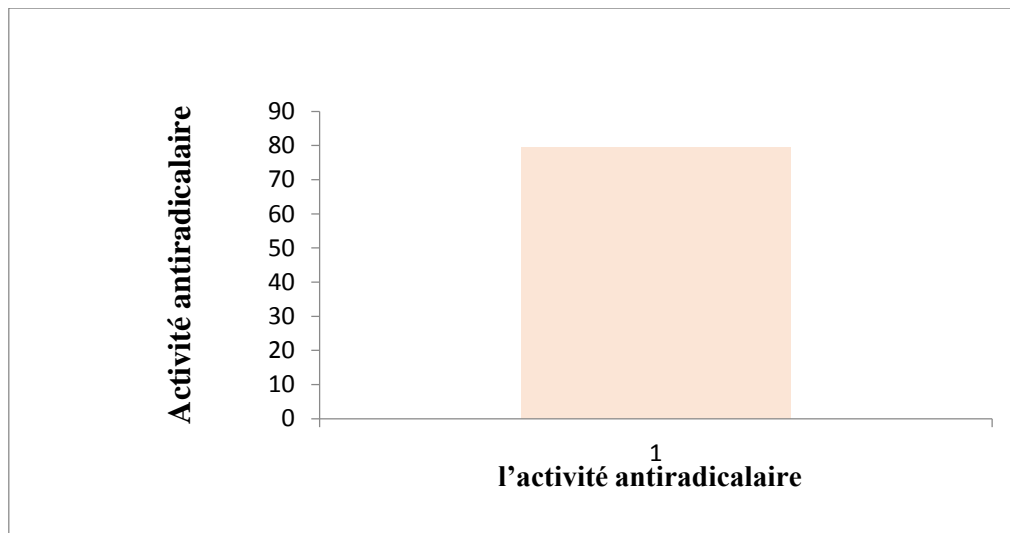
Le pouvoir réducteur est la capacité d'une substance à transférer un électron ou à libérer un atome d'hydrogène (Sousa *et al.*, 2008). Il a été utilisé comme un test important pour mesurer l'activité antioxydante des plantes médicinales et des fruits et légumes.

Le résultat obtenu montre clairement que l'extrait éthanolique 80% présente une bonne activité, soit une valeur de  $44,14 \pm 3,07$  équivalent en acide ascorbique par millilitre d'extrait éthanolique (Eq AA/ml,E).

Selon Feriani., (2017) le pouvoir réducteur d'extrait méthanolique de *Glubularia alypum* est de (EC50; mg/ml)  $15,25 \pm 0,49$  montre que notre plante *Globularia alypum* est très riche en composés bioactifs qui manifestent un pouvoir réducteur important.

La différence des solvants peut être expliquée par le fait que les polarités des composés bioactifs dans chaque extrait peuvent être différentes, et sa peut influencer sur leurs solubilité et leurs pouvoir réducteur (Turkman *et al.*, 2006) ; Jayaprakasha et Pati., 2007).

### III.5.2.activité anti radicalaire :



**FigureIII-7** : l'activité anti-radicalaire d'extrait des feuilles *Globularia alypum*

L'activité anti-radicalaire est très importante du au rôle délétère des radicaux libres dans le domaine alimentaire et dans les systèmes biologiques (Gulçin et al., 2010). La méthode du radical de DPPH, utilisée dans la présente étude, est une procédure commune dans laquelle l'activité antioxydante de l'échantillon étudié est estimée par le degré de décoloration de la solution de DPPH.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Globularia alypum* a une activité anti-radicalaire de 79,75%. Dans la présente étude, il apparait que l'extrait éthanolique de *Globularia alypum* L. possède des capacités importantes à céder des atomes d'hydrogène pour agir comme antioxydants puissants.

Selon khlifi., (2011), l'Extrait méthanolique du *Globularia alypum* a une capacité antioxydante supérieure  $IC_{50} = 15,58$  mg / L par dosage DPPH.

Ceci confirme que la polarité du solvant affecte sa capacité à dissoudre un groupe de composés antioxydants et influence ainsi l'estimation de l'activité antioxydant.

Cette différence est peut être due à la différence dans le protocole de dosage suivie ainsi qu'à la méthode d'extraction adopté. En effet, la réactivité des composés phénoliques contre le DPPH dans le méthanol est plus efficace que leur réactivité dans d'autres solvants non alcooliques (Tsimogiannis et Oreopoulou., 2004).

### III.6. L'activité antibactérienne

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

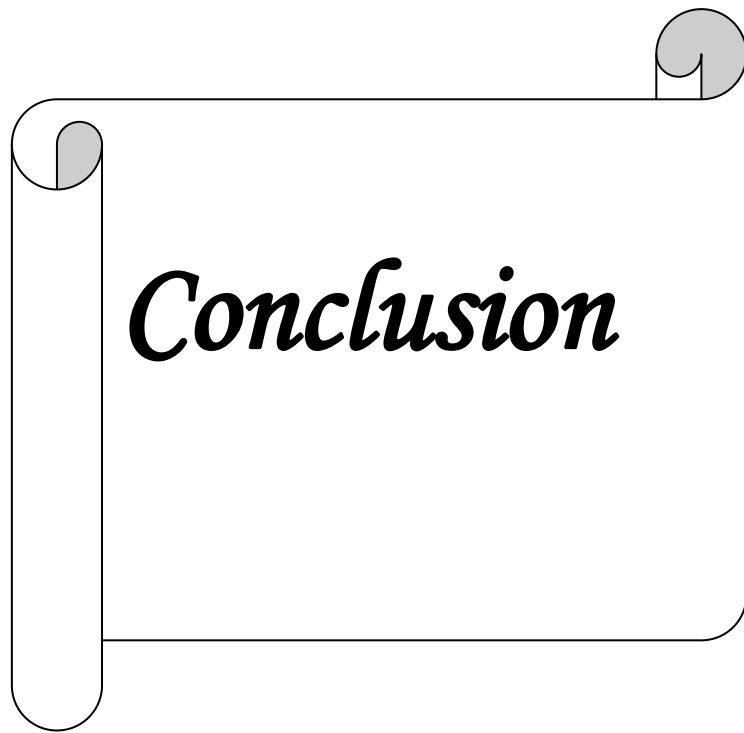
Après incubation de notre échantillon pendant 48h à une température de 30°C, les boîtes contenant les bactéries prélevées des mains sont représenté dans la (figure III.8.A) et les boîtes contenant la solution bactérienne et le gel hydro alcoolique sont représentées dans la (figure III.8.B).



**Figure III.8.A.** Représente un tapie bactériens avant l'ajout de la solution hydro alcoolique, **Figure III.8.B** absence de prolifération de bactérie après l'ajout de la solution.

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

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



***Conclusion***

Les plantes médicinales sont utilisées partout dans le monde pour traiter diverses maladies, y compris l'inflammation, les maladies cardiaques, le cancer...etc.

Un grand nombre de plantes médicinales contiennent des composés présentant des propriétés thérapeutiques très importantes. L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. Pour permettre l'utilisation vaste des plantes médicinales dans la médecine moderne, la recherche et le développement de nouveau traitement important est demandé. Cependant, l'information scientifique sur les activités biologiques des plantes médicinales, y compris *Globularia alypum* est encore insuffisante. De ce fait, on a inspiré cette étude, une demande très croissante pour revenir à la nature dans le but de chercher des soins de santé et de nouveau traitement est une autre motivation importante.

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins ainsi que les effets antioxydants et l'effet antibactérien de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Globularia alypum* a été évalué dans le présent travail.

Le dosage de l'extrait éthanolique a fait ressortir les résultats suivants :

- ✓ La teneur en composés phénoliques est de 244,16 (mgEqC/gMS)
- ✓ Pour les flavonoïdes, on a obtenu une valeur de 257,17 (mgEqQ/gMS)
- ✓ Les tannins 6,63 (mgEqC/gMS)
- ✓ Les chlorophylles 33,78 (mg /gMS).

L'activité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique a été évaluée par le test de DPPH. L'extrait a présenté une activité anti-radicalaire très importante dont son pourcentage est 79,75%.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanol 80% présente un pouvoir réducteur de 44,14 (mgEqAA/gMS). *Globularia alypum* possède une activité anti microbienne excellente vis-à-vis sa teneur élevé en antioxydants.

Comme perspective il serait souhaitable :

- D'élargir l'échantillonnage et d'augmenter le nombre d'échantillons
- D'utiliser des solvants et d'autre méthodes d'extraction (extraction par fluide supercritique, extraction assistée par micro-onde...etc)

- D'évaluer d'autres effets biologiques in vitro comme in vivo des extraits et de leurs composés actifs en utilisant différentes techniques
- D'orienter les chercheurs scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires de l'activité antioxydante et antibactérienne des composés polyphénolique en générale et de flavonoïdes en particulier.



*Références  
bibliographiques*

**A**

**Akshatha.C, P. Arul, Suresh Masilamani., 2015.** A study of malignancy rates in different diagnostic categories of the Bethesda system for reporting thyroid cytopathology: An institutional experience.

**B**

**Bellakhdar J, Claisse R, Fleurentin J, Younos C., 1991.** Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia. *Journal of Ethnopharmacology*. 35: 123-143.

**Bouhadjra, K., 2011 :** étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydatif de l'huile d'olive vierge. Thèse pour l'obtention du diplôme de magister. Université Mouloud Mameri, Tizi-Ouzou.

**Bougatef Ali, Balti Rafik, Hajji Mohamed, Nasri Moncif., 2009.**Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases.

**C**

**Charles DJ.,2013.** Natural Antioxidants. Chapitre 3. Dans: Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. New York. Springer Science+Business Media. pp. 39-64.

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

**D**

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



**Djemai. S Zoughlache** : étude de l'activité biologique des extraits de fruit de zizyphus lotus L, mémoire magister, université-Elhadj Lakhedar-Batna (2008).

## E

**Es-Safi, N. E., Khlifi, S., Kollmann, A., Kerhoas, L., El Abbouyi, A., & Ducrot, P. H., 2006.** Iridoid glucosides from the aerial parts of *Globularia alypum* L.(Globulariaceae). Chemical and pharmaceutical bulletin, 54, 85–88.

## F

**Fehri Badreddine et Aiache Jean-Marc., 2010.** Effects of *Globularia alypum* L. on the gastrointestinal tract

**Fehri Lina Fassi, Tim N. Maka, Britta Laube, Volker Brinkmann, Lesley A. Ogilviea, Hans Mollenkopf, Michael Leind, Timo Schmidt, Thomas F. Meyer, Holger Brüggemann., 2010.** Prevalence of *Propionibacterium acnes* in diseased prostates and its inflammatory and transforming activity on prostate epithelial cells

## G

**Géorge S ,Brat p, Alter P, Amiot MJ., 2005.** Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products.

**Gülçin İlhami, Mahfus Elmastas, Hassan Y.Aboul-Enein., 2002.** Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source.

## H

**Hennebelle.T.,Sahpaz. S., et Bailleul.F., 2004.** Les polyphénols végétaux, source, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif.phytothérapie (1) :3-6.

## J

**Jouad H, Maghrani M, Eddouks M., 2002.** Hypoglycaemic effect of *rubus fruticosus* L. and *Globularia alypum* L. In normal and streptozotocin-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol. (81) :351-6

**K**

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

**L**

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

**M**

**Martin, S., et Andriantsitohaina,R :**Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51-304-315. (2006).

**Merghache, S., Zerriouh, M., Merghache, D., Tabti, B., Djaziri, R., & Ghalem, S., 2013.** Evaluation of hypoglycaemic and hypolipidemic activities of Globularin isolated from *Globularia alypum* L. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4, 1–7.

**Mojca Skerget, Petra Kotnik, Majda Hadolin, Andreja Rizner Hras, Marjana Simonic, Zeljko Knez,(2005).**, Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities

**N**

**N.T. Beniston et W.S. Beniston,**Fleurs d'algerie, 1984, E.N.L. Alger.

**O**

**Othmane Khalifi Taghzoutia, Mounyr Balouirib\*, Wessal Ouedrhiric, Abdellah Echahadd, Abderrahmane Romanea (2016).** *In vitro* evaluation of the antioxidant and antimicrobial effects of *Globularia alypum* L extracts .

**P**

**Pastre, J.O.C., (2005).** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Paul Sabatier de toulouse.P116.

## Q

**Quezel P., Santa S., 1963.** Nouvelle flore de l'algerie et des régions désertiques méridionales. Edition du centre national de la recherche scientifique.P :35-40.

## R

**Ramdani M; Lograda T; Ounoughi A; Chalard P; Figueredo G; Laidoudi H; Elkollint MJ.** Curr.Microbiol.App.Sci., **2014**, 3, 7, 306-318.

**Ribereau-Gayon P.,1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris, 254 p.

**Ribeiro, R.P,Flemming J.S, Bacila, A.R., 2008.** Uso de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), parede celular de leveduras (SSCW), acidos organicos e avilamicina na aliment açao de frangos de corte.

## S

**A.Sass-Kiss, J. Kiss, P. Milotay, M.M. Kerek, M. Toth-Markus., 2005.** Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables.

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

## W

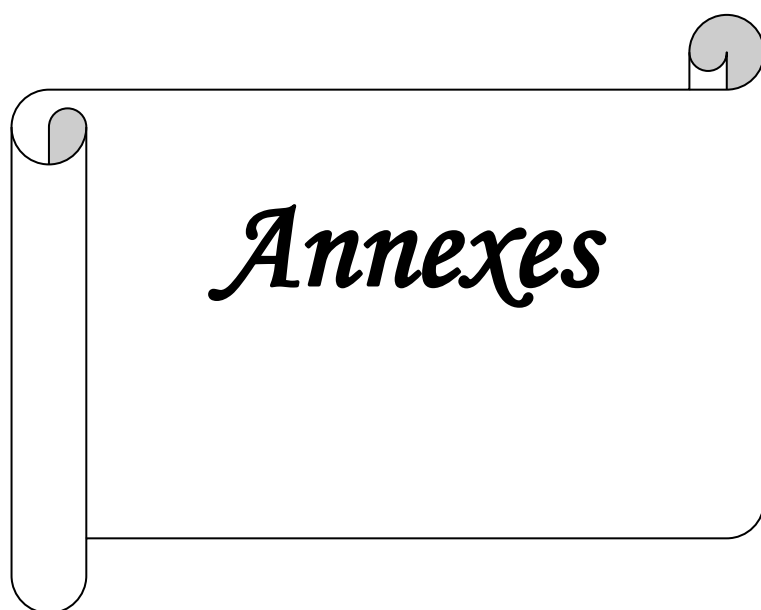
**W.Brand-wiliams, M.E.Cuvelier and C.Berset., 1994.** Use of free radical methode to evaluate antioxydant activity.

**Wilson.A., Salamatian.L.,2003.** Les Radicaux Libre :une question d'équilibre.Université de versailles Saint-Quentin-en-Yvelines.Dess IST.37.

## Z

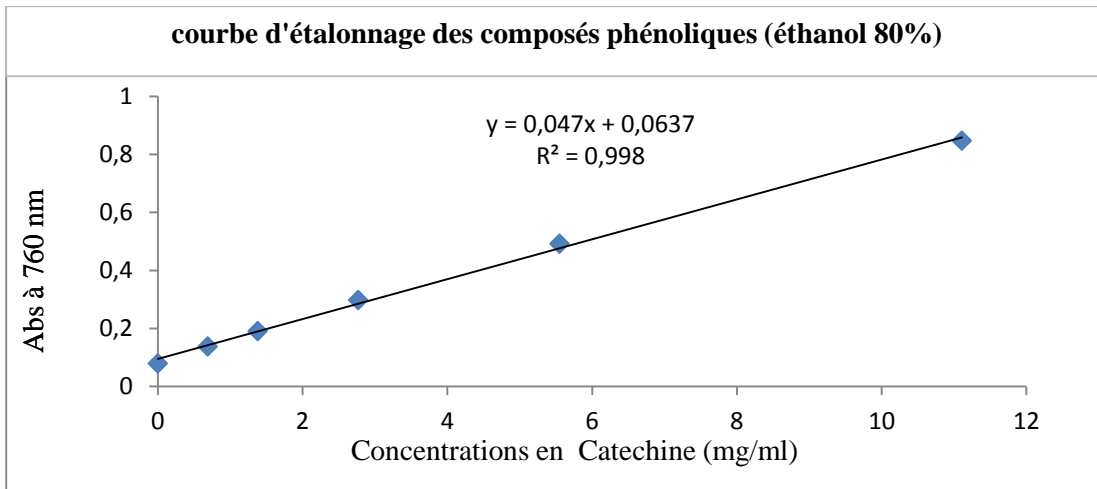
**Zenaki S, Karouf D ,Talebsenouci D, Bouchenak M., 2009).** *Globularia alypum L* Lyophilized Methanolic Extract Decreases Hyperglycemia and improves antioxidant status in

various tissues of streptozotocin-induced diabetic rats J. Complementary. Integrative Med.  
Vol. 6 (1). Article 34

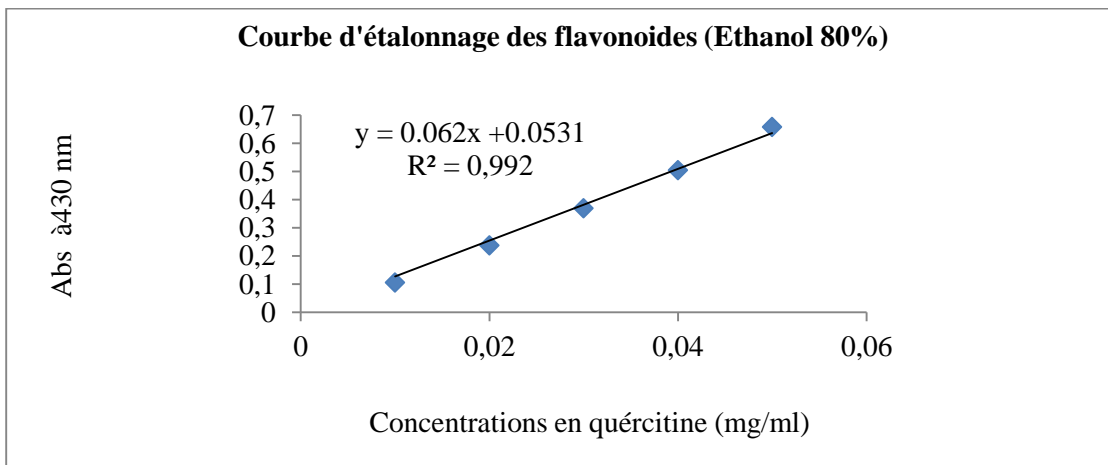


*Annexes*

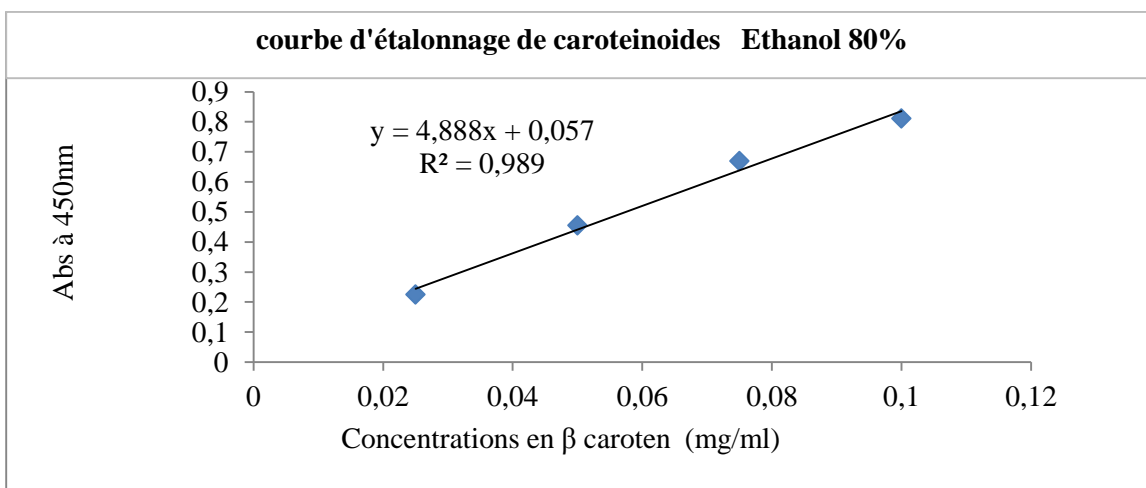
Annexes I: courbes d'étalonnages des composés phénoliques.



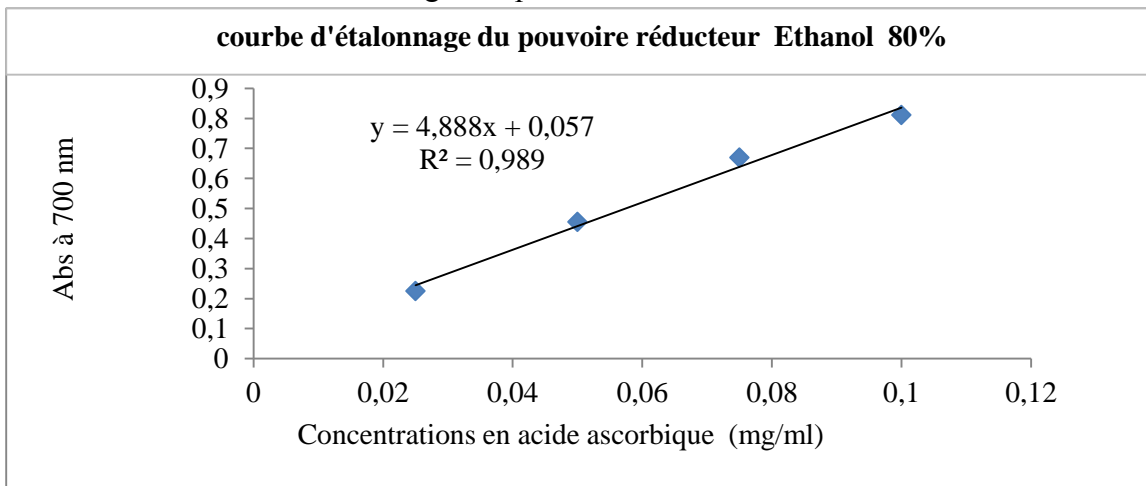
Annexe II : Courbes d'étalonnages des flavonoïdes.



Annexes I : Courbes d'étalonnages des caroténoïdes.



Annexes VI : courbes d'étalonnages du pouvoir réducteur



## Résumé

*Globularia alypum* (GA) est une plante très utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie, connues sous le nom Tasselgha. Empiriquement, elle semble efficace dans le traitement de diverses maladies tel que le diabète et les maladies cardio-vasculaires, d'où l'intérêt de mener une étude sur les composés phénoliques présents dans son extrait éthanolique à 80% et son activité antioxydante.

Ce présent travail est basé sur l'extraction des composés phénoliques contenus dans l'extrait des feuilles de notre plante, en utilisant la méthode d'extraction à froid.

Le dosage de l'extrait éthanolique a fait ressortir les résultats suivants :

- ✓ La teneur en composés phénoliques est de 244,16 (mg EqC/gMS)
- ✓ Pour les flavonoïdes, on a obtenu une valeur de 257,17(mg EqQ/gMS)
- ✓ Les tannins 6,63 (mg EqC/gMS)
- ✓ Les chlorophylles 33,78 (mg /gMS)

L'activité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique a été évaluée par le test de DPPH. L'extrait a présenté une activité anti-radicalaire très importante dont son pourcentage est 79,75%.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanol 80% présente un pouvoir réducteur de 44,14(mgEqAA/gMS). *Globularia alypum* possède une activité anti microbienne excellente vis-à-vis sa teneur élevée en antioxydants.

**Mot clés :** extrait *Globularia alypum*, activité antioxydant, activité antibactérienne, solution hydro alcoolique,

## Abstract

*Globularia alypum* (GA) is medicinal plant largely used traditionally in folk medicine in Algeria, locally named: Tasselgha,. This is effective in the treatment of various diseases such as diabetes and the cardiovascular diseases. From where the interest to undertake a study on the phenolic compounds present in its extract ethanolic with 80% and its antioxidant activity.

This present work is based on the extraction of the phenolic compounds contained in the extract of the leaves of our plant, by using the method of cold extraction.

The proportioning of the extract ethanolic emphasized the following results:

- ✓ the content of phenolic compounds is of 244,16 (mgEqC/gMS)
- ✓ For the flavonoids, one obtained a value of 257,17 (mgEqQ/gMS)
- ✓ Tannins 6,63 (mgEqC/gMS)
- ✓ Chlorophylls 33,78 (Mg /gMS).

The anti-radicalizing activity of the extract ethanolic was evaluated by the test of DPPH. The extract presented a very important anti-radicalizing activity of which its percentage is 79,75%.

The results obtained show that the extract ethanol 80% presents a reduction of 44,14 (mgEqAA/gMS).

*Globularia alypum* has an anti-activity microbial excellent opposite its high percentage of antioxidants.

**Key word:** extract *Globularia alypum*, antioxydant activity, activity antibacterial,