

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA –Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Spécialité pharmacotoxicologie



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme
MASTER

Thème

**Evaluation des activités biologiques de *Ferula*
communis et d'*Asparagus acutifolius***

Présenté par :

IAZOUGUENE Massicylia et ILAZAZENE Rezkia

Soutenu le : **02 Juillet 2024**

Devant le jury composé de :

Mme AGUERSSIF. N	MCB	Présidente
Mr. BELKACEM NASSIM	MCB	Encadrant
Mr. BRIBI NOUREDDINE	Professeur	Examineur

Année universitaire : 2023 / 2024

REMERCIEMENT

Nous remercions tout d'abord Le Plus Puissant ALLAH de nous avoir illuminé et ouvert les portes du savoir et de nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.

Toutes les expressions de l'estime et de gratitude du monde sont Insuffisantes pour exprimer nos remerciements à nos parents qui nous ont accompagnés tout au long de notre parcours.

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre promoteur Mr BELKACEM Nassim pour avoir accepté l'encadrement de ce travail, pour sa générosité, sa gentillesse, son encouragement, son soutien et sa confiance, qu'il trouve ici toutes nos chaleureuses gratitudee.

Nous remercions madame MEZAHM pour ses conseils et le temps précieux qu'elle a sacrifié pour nous aider à réaliser ce travail.

Nous remercions les ingénieurs du laboratoire.

Nous remercions le membre du jury ; c'est un véritable plaisir pour nous que vous avez accepté de présider notre jury de mémoire.

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail :

*A celui qui s'est sacrifié pour mon éducation, mon
père "Hafid"*

*A ma source de bonheur, de tendresse et de
confiance, ma mère "Baya"*

*La prunelle de mes yeux que le bon ALLAH vous
garde en bonne santé*

A mon frère YOUNA

A mes grands-parents

A mes oncles et mes tantes

A mes cousines : Melissa, Ryma, Kenza et Leticia

*A mes copines : kenza, Fatima, Nadjet, Taalit,
Wardia, Tiziri et Fifa*

A mon binôme

A ceux que je porte dans mon cœur

A ceux qui m'aiment



Γ.ΘΞΘΞΗΣ.

DÉDICACE

*Je Remercie Allah de m'avoir donné la santé, la volonté, et le courage
pour accomplir ce travail*

À ma source de confiance : Mon Père

À la reine : Ma Mère

À mon frère et à mes sœurs

À mes amies et mes collègues

A mon binôme et mon encadrant

A Dietfried et Kentuni

À tous ceux qui aiment la science.



O:~ZΞΞ.

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction I

Synthèse Bibliographique

I.1. Généralités sur <i>Ferula communis</i> et <i>Asparagus acutifolius</i>	3
I.1.1. Systématique	3
I.1.2. Description botanique	4
I.1.3. Historique et aire de répartition	5
I.1.4. Propriétés pharmacologiques	5
I.2. Composés phénoliques.....	6
I.2.1. Classification des composés phénoliques	6
I.3. Activité antioxydante	8
1.3.1. Radicaux libres	8
1.3.2. Stress oxydatif	9
1.3.3. Antioxydants	10
I.4. Activité Antimicrobienne.....	10
I.5. Activité anti-hémolytique	11
1.5.1. Globules rouges.....	11
1.5.2. La membrane érythrocytaire	11
1.5.3. Hémolyse.....	12

Matériel et méthodes

II.1. Matériel.....	15
II.2. Méthodes	15
II.2.1. Extraction.....	15
II.2.2. Fractionnement	15
II.3. Rendement d'extraction.....	16
II.4. Analyse phytochimique	16
II.4.1. Dosage des antioxydants	16
II.4.1.1. Dosage des polyphénols totaux	16
II.4.1.2. Dosage des flavonoïdes	16
II.4.1.3. Dosage des tanins condensés	17
II.5. Détermination d'activité antioxydants.....	17
II.5.1 Méthode de réduction du radical libre DPPH.....	17

II.5.2. Méthode de réduction du radical-cation ABTS ⁺	18
II.5.3. Méthode de réduction du fer (FRAP)	19
II.6. Activité antimicrobienne	19
II.6.1. Préparation des échantillons	20
II.6.2. Préparation de milieu de culture	20
II.6.3. Mode opératoire.....	20
II.7. Test de l'innocuité « hémolyse »	21
II.7.1. Préparation de la suspension des globules rouges	21
II.7.2. Mode opératoire.....	21
II.7.3. Stabilisation de la membrane des globules rouges	21
II.7.4. Mode opératoire.....	21
II.8. Analyses statistiques.....	22
Résultats et discussion	
III.1. Rendement de l'extraction	23
III.2. Dosage des antioxydants	24
III.2.1. Teneur en polyphénols totaux	24
III.2.2. Teneur en Flavonoïdes	25
III.2.3. Teneur en tanins	26
III.3. Discussion générale des teneurs en composés phénoliques	26
III.4. Activité antioxydante	27
III.4.1. Activité scavenger du radical DPPH [·]	27
III.4.2. Activité anti radicalaire ABTS ⁺	28
III.4.3. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)	29
III.5. Discussion générale de l'activité antioxydante	30
III.6. Activité antimicrobienne	31
III.7. Etude de l'effet protecteur des extraits sur le GRH	33
III.7.1. Test de cytotoxicité	33
III.7.2. Test anti-hémolytique.....	35
III.8. Discussion générale l'activité anti-hémolytique	37
Conclusion.....	38
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

ABTS^{•+} : Acide 2, 2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique.

ADN : acide désoxyribonucléique.

Aeth : Fraction acétate d'éthyle.

Aq : Fraction aqueuse.

ATCC: American Type Culture Collection.

BHA : Butyl Hydroxy Anisol.

Chl : Fraction chloroforme

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DMSO : Dimethylsulfoxyde.

DPPH : 2, 2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazyl.

DO : Densité Optique

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène.

FRAP : FerricReducing Antioxydant Power.

IC50 : Les concentrations inhibitrices à 50%.

Mg EAA/g E : milligramme d'équivalent d'acide ascorbique par gramme de l'extrait.

Mg EAG/g E : milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

Mg EC/g E : milligramme d'équivalent de Cathéchine par gramme d'extrait.

Mg EQ/g E : milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme d'extrait.

MHA: Muller Hinton Agar.

MHB: Muller Hinton Broth.

n-But: Fraction n-Butanol.

O₂^{•-}: Anion superoxide.

PBS: phosphate buffered saline

pH :Potentiel d'hydrogène.

PDA: potato dextrose agar.

R% : Pourcentage de rendement.

R² : Coefficient de corrélation.

RBC : Red Blood Cell

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méticillin.

SD : Standard Déviation.

SOD : Superoxyde dismutase.

T° : Température.

TPTZ : 2, 4, 6-tris 2-pyridyl-1, 3, 5-s-triazine.

UV : Ultraviolet.

Vit C : Acide ascorbique.

Liste des tableaux

Tableau I : Principales classes des composés phénoliques.....	7
Tableau II : synthèse de certaines plantes qui ont démontré une activité anti hémolytique.....	14
Tableau III : Rendement d'extraction et pourcentages des fractions.....	23
Tableau IV : Diamètres d'inhibition obtenus avec les extraits et les fractions.....	32

Liste des figures

Figure 01 : Plante médicinale <i>Ferula communis</i> (photo originale)	3
Figure 02 : Plante médicinale <i>Asparagus acutifolius</i> (photo originale)	4
Figure 03 : Origine des espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	9
Figure 04 : Schématisation de la balance entre les ERO et les antioxydants.....	9
Figure 05 : Aspect en microscopie électronique à balayage des hématies	11
Figure 06 : Structure de La membrane érythrocytaire.	12
Figure 07 : Etapes du fractionnement	15
Figure 08 : Teneur en polyphénols totaux des extraits bruts et leurs fractions.....	24
Figure 09 : Teneur en Flavonoïdes des extraits bruts et leurs fractions.....	25
Figure 10 : Valeurs des IC50 DPPH des extraits bruts, leurs fractions et les standards....	27
Figure 11 : Valeurs des IC50 des extraits bruts, leurs fractions et les standards.....	28
Figure 12 : Pouvoir réducteur des extraits bruts et leurs fractions.....	29
Figure 13 : Résultats du test de cytotoxicité sur les globules rouges.....	34
Figure 14 : Taux d'inhibition d'hémolyse % (A : <i>A.acutifolius</i> , F : <i>Ferula</i>).....	36

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes sont utilisées pour traiter et soigner toutes sortes de maladies puisqu'elles sont capables de synthétiser de nombreux composés appelés « métabolites secondaires » (**Habryka et al., 2021**). Ces derniers possèdent des structures chimiques diversifiées et un large spectre d'activités biologiques, ce qui rend l'évaluation de leurs activités une tâche très intéressante (**Huang et al., 2005**). En effet, une attention importante s'est portée sur leur activité antioxydante en vue du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que le cancer, le diabète, l'hypertension et la maladie d'Alzheimer tout en combattant le stress oxydant qui est un statut généré par l'inflammation caractérisant ces maladies (**Meddour et al., 2013**).

D'autre part, la fréquence des infections microbiennes a augmenté significativement au cours des dernières années principalement chez les patients immunodéprimés ; en plus, la médication humaine se trouve face à des souches microbiennes résistantes survenues suite à l'usage extensif et abusif des agents antimicrobiens. Ainsi, la communauté scientifique prévoit un épuisement des choix thérapeutiques dans les quelques années à venir (**Meriem et Ouarda, 2019**). Ce qui pousse les chercheurs à revenir sur les produits naturels provenant des plantes qui se présentent comme une source inépuisable de molécules biologiquement actives ayant un grand impact sur la santé humaine avec des activités thérapeutiques améliorées et des effets secondaires réduits (**Worowounga et al., 2019**).

Le stress oxydatif, en plus d'être la raison derrière beaucoup de maladies, cause aussi des atteintes aux membranes des globules rouges et entraîne la destruction prématurée de ces dernières (hyper-hémolyse) (**Lecouffe et al., 2019**). Les molécules bioactives présentes dans les plantes médicinales comme les polyphénols sont capables de protéger les érythrocytes contre le stress oxydatif ; ils sont donc utilisés en thérapeutique comme anti-hémolytiques (**Valente et al., 2010**). Il devient intéressant alors d'étudier les propriétés anti-hémolytiques des plantes pour remplacer les agents anti-hémolytiques synthétiques.

Ce présent travail s'intéresse à l'étude des activités antioxydante, antimicrobienne et anti-hémolytique de deux plantes médicinales *Asparagus acutifolius* et *Ferula communis* de la famille des Asparagaceae et Apiacées, respectivement, largement présentes dans la wilaya de Bejaia, plus précisément à Gouraya. Il est divisé en deux parties.

La première partie, est consacrée à une synthèse bibliographique, constituée d'une présentation générale des plantes étudiées, l'activité antioxydante, antimicrobienne et anti-hémolytique.

La deuxième partie, est consacrée à l'expérimentation, constituée du matériel et méthodes, suivie de l'ensemble des résultats et leur discussion.

Enfin, ce travail est achevé par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Synthèse Bibliographique

I.1. Généralités sur *Ferula communis* et *Asparagus acutifolius*

I.1.1. Systématique

Ferula communis :

Le genre *Ferula* renferme des plantes vivaces glabres à racine pivotante, de la famille des carottes (Apiaceae) (figure 01), qui se rencontre dans les sols accidentés de la Méditerranée et l'Asie centrale. Dont la classification est la suivante (M. Panahi *et al.*, 2018).

Règne : Plantae

Phylum : Streptophyta

Classe : Equisetopsida

Sous-classe : Magnoliidae

Ordre : Apiales

Famille : Apiacées

Genre : *Ferula*

Espèce : *Ferula communis*



Figure 01 : Plante médicinale *Ferula communis* (photo originale prise à Bejaia en mois de mars)

A. acutifolius :

Asparagus acutifolius est une espèce d'asperges sauvages originaire de la région méditerranéenne, qui fait partie de la famille des Liliaceae, autrefois appelée Asparagaceae (Figure. 02). L'asperge est un légume riche en nutriments et sain qui possède des propriétés

biologiques depuis l'antiquité. La taxonomie de l'Asperge sauvage est la suivante selon Quézel et Santa (1962) :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Rang : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Sous-classe : Liliidae

Ordre : Liliales

Famille : Liliaceae

Genre : Asparagus

Espèce : *Asparagus acutifolius* L

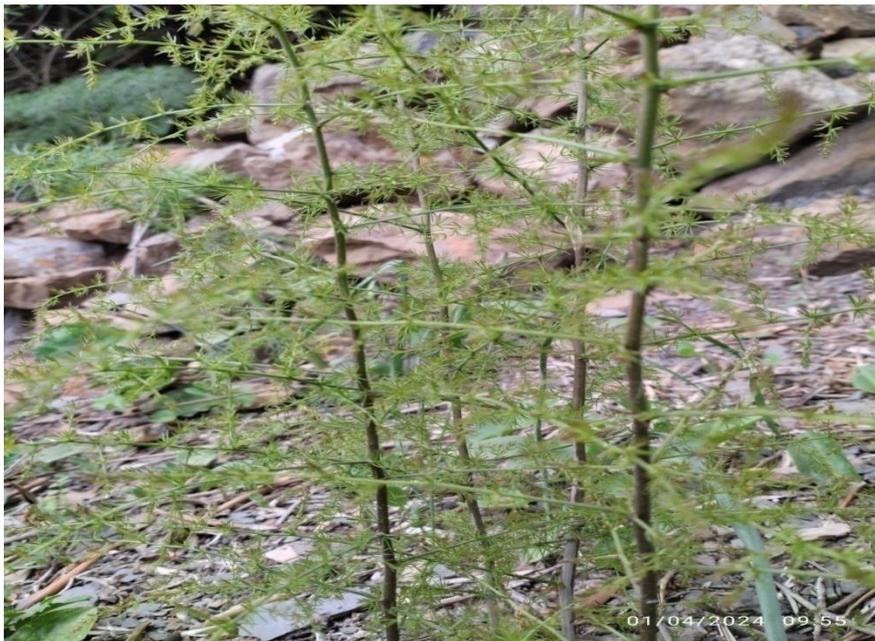


Figure 02 : Plante médicinale *Asparagus acutifolius* (photo originale prise à Bejaia en mois de mars).

I.1.2. Description botanique

Ferula communis :

Ferula communis donne des fleurs mousseuses avec des feuilles pennées au début du printemps. De ces monticules dressés jusqu'à 5 mètres de haut ; s'élèvent des tiges solides, creuses et ramifiées. Chaque branche produit des ombelles hémisphériques avec de

nombreuses petites fleurs à 5 pétales. Même si elle a une forte influence au printemps, le feuillage disparaîtra en été tout en laissant les tiges florales dressées. Cette espèce se développe dans des zones bien drainées et ensoleillées (**Yaqoob et Nawchoo.,2016**).

***Asparagus acutifolius* :**

Il possède une tige haute de 40 à 80 centimètres ; blanchâtre, striée, très rameuse et presque buissonnante. Les feuilles atteignent 3 mm ou plus de longueur ; raides, aiguës, un peu piquantes, vertes, nombreuses et regroupées par faisceaux très rapprochés les uns des autres et disposées sur les rameaux. Les fleurs sont solitaires, d'une couleur blanche jaunâtre ; portées sur des pédoncules en tout et pour tout plus longs que les feuilles (**Boubetra, K et al.,2017**).

I.1.3. Historique et aire de répartition

***Ferula communis* :**

Ferula communis provient des pays méridionaux de la Méditerranée, où elle se développe en abondance dans certains lieux, souvent près de la mer. Le mot *Ferula* provient du mot "férir" qui signifie "frapper" dont, d'ailleurs, ses tiges ont été utilisées pour créer des cannes pour punir les esclaves et les enfants.

***Asparagus acutifolius* :**

L'asperge sauvage (*Asparagus acutifolius* L.) est une espèce végétale autochtone présente dans toute la Méditerranée ; elle se rencontre en régions pierreuses et stériles. Elle est récoltée et utilisée depuis longtemps dans différentes cuisines traditionnelles (**Di Maro et al., 2013**).

I.1.4. Propriétés pharmacologiques

***Ferula communis* :**

F. communis possède une longue histoire d'utilisation pharmacologique ; elle est employée pour le traitement de la dysenterie et est utilisée en tant qu'anti-hystérique (**Iranshahi et al., 2009**).

On la trouve employée au Maroc pour traiter l'hypoglycémie et en Arabie Saoudite les rhizomes sont utilisés comme remède traditionnel pour les infections de la peau (**Collenette, S,1985 ; M, Mekhfi H et al., 2004**).

Dans les ouvrages de médecine traditionnelle comme *Dioscorides*, nombreuses utilisations bénéfiques de cette plante ont été rapporté. À titre d'exemple ; l'ingestion de purée de grains frais, les humeurs orales sanglantes et les ballonnements avec diarrhée. Comme elle est conseillée pour les morsures de serpent.

***Asparagus acutifolius* :**

Grace à ses propriétés antiprolifératives, cette plante est utilisée contre les neuroblastomes et les cellules cancéreuses du foie, du col de l'utérus et du poumon

En médecine traditionnelle, on trouve qu'*A. acutifolius* est utilisée en tant que diurétique et antinévralgique (Sautour M *et al.*, 2007).

I.2.Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires présents dans les plantes supérieures, capables de prévenir les maladies et d'améliorer la santé. Les tanins, les coumarines, les flavonoïdes, les acides phénoliques et les stilbènes font partie de ces composés (Tsao et Akhtar, 2005). Ils sont constitués d'un ou plusieurs cycles aromatiques avec des groupes hydroxyles, ce qui leur confère une grande diversité de structures chimiques, allant d'une molécule simple à des structures polymérisées (Liu *et al.*, 2015). Ils influencent la croissance et la reproduction des plantes comme ils jouent un rôle dans leur coloration et certaines de leurs caractéristiques sensorielles comme la saveur.

I.2.1. Classification des composés phénoliques

D'après la classification de Harborne et Simmonds (1973), les polyphénols sont répartis en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les constituent et des substitutions qui les relient. Les phénols simples dont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes sont classés dans le Tableau I.

Tableau I : Principales classes des composés phénoliques (**Harborne, 1989 ; Crozier et al., 2006**).

Structure	Classes
C ₆	Phénoliques simples
C ₆ - C ₁	Acides phénoliques et composés apparentés
C ₆ - C ₂	Acétophénone et acides phénylacétiques
C ₆ - C ₃	Acides cinnamyliques, cinnamylaldéhydes, alcools cinnamyliques
C ₆ - C ₃	Coumarines, isocoumarines et chromones
C ₁₅	Chalcones, auronnes, dihydrochalcones
C ₁₅	Flavans
C ₁₅	Flavones
C ₁₅	Flavanones
C ₁₅	Flavanonols
C ₁₅	Anthocyanidines
C ₁₅	Anthocyanins
C ₃₀	Biflavonyls
C ₆ -C ₁ -C ₆ -C ₂ -C ₆	Benzophenons, xanthonnes, stilbenes
C ₆ -C ₁₀ -C ₁₄	Quinones
C ₁₈	Betacyanins
Lignans, neolignans	Dimères ou oligomères
Lignin	Polymères
Tannins	Oligomères ou polymères
Phlobaphenes	Polymères

Acides phénoliques

On trouve parmi les acides phénoliques ; le cycle acide benzoïque, le groupe carboxyle et un ou plusieurs groupes hydroxyle et/ou méthoxyle. Il est possible pour ces derniers de se lier entre eux, tout comme avec d'autres composés différents (**Huang et al., 2005**).

Flavonoïdes

Selon **Harbone (1973)**, les flavonoïdes sont des molécules de faible poids moléculaire composés de quinze atomes de carbone disposés de manière C₆ C₃ C₆ (**Garde-Cerdán. T et al., 2017**).

Tanins

Les tanins sont des substances poly-phénoliques dont le poids moléculaire varie de 500 à 3000 Dalton (**Selvakumar *et al.*, 2007**). Deux groupes de tanins distincts sont généralement identifiés chez les végétaux supérieurs en fonction de leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**M. Cowan, 1999**).

I.3. Activité antioxydante

On s'intéresse de plus en plus à la biologie des radicaux libres ; pas seulement en raison de leur participation à des phénomènes aigus comme le traumatisme ou l'ischémie, mais également en raison de leur participation à de nombreuses maladies chroniques liées au vieillissement telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires, ainsi que la dégénérescence immunitaire (**Guinebert *et al.*, 2005**).

1.3.1. Radicaux libres

Selon **Jacques et André (2004)**, les radicaux libres désignent des atomes ou des molécules qui possèdent un électron non apparié (célibataire), ce qui les rend extrêmement réactifs. A titre d'exemple, l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$. Ces éléments sont extrêmement réactifs en raison de la tendance de cet électron à se réassocier, ce qui perturbe d'autres molécules.

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) englobent les radicaux libres de l'oxygène (comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) ainsi que certains dérivés oxydés non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Badeau, 2006**) (Figure 03). Il y a une formation continue de ces espèces dans l'organisme sain, notamment par émission d'électrons à partir de la chaîne respiratoire. Il est possible qu'elles soient également causées par une respiration excessive, un exercice physique ou un stress, ou même par une exposition à des facteurs pro-oxydants tels que le tabac, l'alcool, l'amiante... etc (**Aurousseau, 2002**).

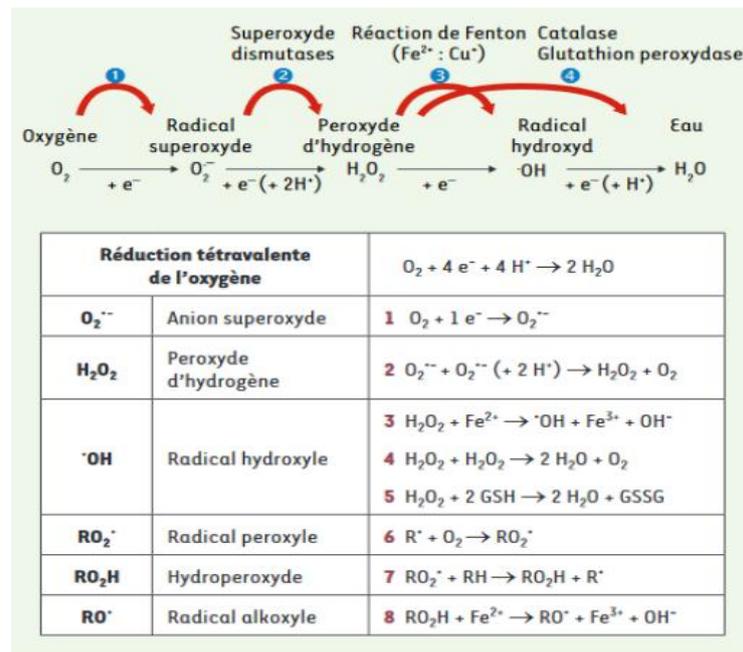


Figure 03 : Origine des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Camille Migdal et Mireille Serres, 2011).

1.3.2. Stress oxydatif

Un concept s'est imposé dans le domaine des sciences biologiques et médicales : le « stress oxydant », qui est un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants, favorisant les premiers (déséquilibre entre la production des ERO et leur défense contre les antioxydants) (Figure 04).

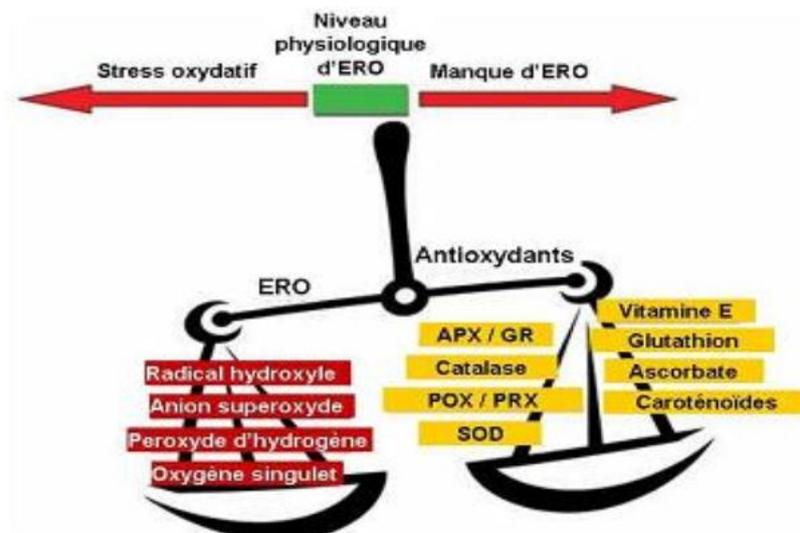


Figure 04 : Schématisation de la balance entre les ERO et les antioxydants (Ait yahia et Zemmoura, 2014).

La cellule dans cette situation ne peut plus contrôler la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques. Les chercheurs associent la plupart des maladies humaines au stress oxydatif (**Favier, 2003**).

1.3.3. Antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui peuvent fournir des électrons et/ou des atomes d'hydrogène aux oxydants à une concentration faible (**Siti et al., 2015**). Ils sont un ensemble de molécules qui entravent directement la production ou la propagation des espèces réactives d'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en décomposant ces espèces, en les capturant pour former un composé stable et en séquestrant le fer libre (**Favier, 2003**).

Les antioxydants jouent un rôle crucial dans le maintien de la santé humaine, la prévention et traitement des maladies à cause de leur effet à diminuer le stress oxydatif (**Munteanu et apetrei, 2021**). Ils jouent un rôle physiologique en prévenant l'endommagement des composants cellulaires causés par des réactions chimiques impliquant des radicaux libres (**Is. Y et Woodside JV., 2001**). Il est possible que ces derniers soient produits en excès en raison des agents externes tels que la pollution, les radiations et les UV. Par conséquent, notre système de défense interne ne parvient pas à réduire toutes ces espèces réactives, ce qui nécessite une alimentation riche en antioxydants. On retrouve parmi ces antioxydants les vitamines C, E et A, ainsi que les polyphénols (**Venkatachalam et Muthukrishnan, 2012**). Il est possible de classer les antioxydants en systèmes enzymatiques et non enzymatiques (**Pieme et al., 2017**).

I.4. Activité Antimicrobienne

Les extraits de plantes possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches bactériennes, ils sont efficaces contre un large spectre de microorganismes pathogènes et non pathogènes

Les plantes médicinales fournissent de potentiels composés antimicrobiens inhibiteurs des mécanismes de résistances aux antibiotiques à savoir les acides phénoliques, les quinones, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines (**Das1 et al., 2010**).

De différentes recherches ont été menées pour évaluer les propriétés antimicrobiennes des polyphénols. Actuellement, cet effet est certain et prouvé par nombreuses études expérimentales. Des recherches sur l'effet inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont montré que de nombreux composés flavonoïques ont un effet significatif sur diverses souches bactériennes à Gram+ et Gram- (**Ulanowska et al., 2007**) ; en attaquant la

paroi bactérienne ou la membrane cytoplasmique, en inhibant la production d'ADN ou en perturbant les voies métaboliques des bactéries. (Cushnie et Lamb, 2005).

I.5. Activité anti-hémolytique

1.5.1. Globules rouges

La figure 05 représente l'aspect en microscope électronique à balayage des hématies dites aussi globules rouges ou érythrocytes. Leur production quotidienne est de 200.109 Cellules par jour (Guillaume. L., 2007). Elles sont les plus abondantes dans la circulation sanguine, mesurant 7 μ m du diamètre et 2 μ m d'épaisseur, biconcaves, aplaties au centre ayant un aspect de disque, anucléés. Ces cellules, contiennent essentiellement de l'hémoglobine ; un pigment respiratoire qui assure le transport d'un élément indispensable à la vie, l'O₂ des poumons aux tissus, et aussi le transport du CO₂ des tissus aux poumons (Howard, 2004).

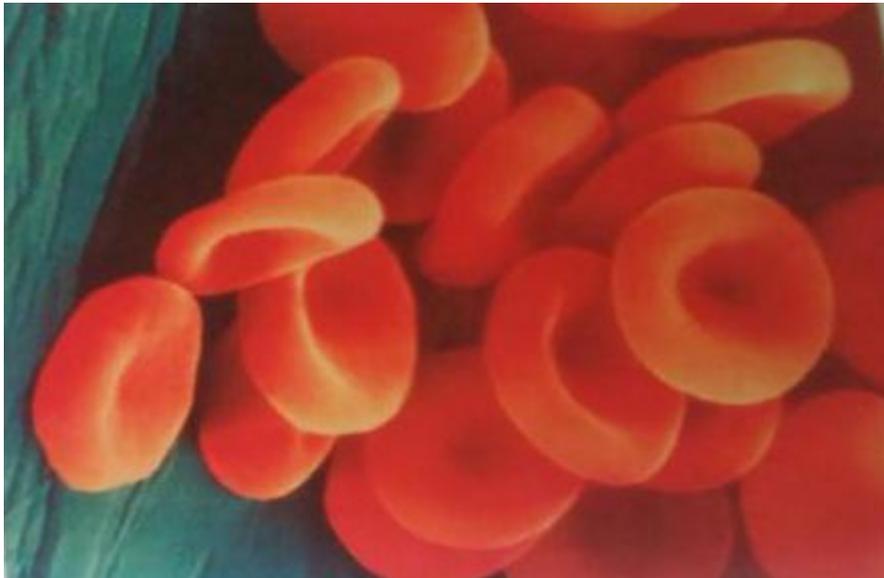


Figure 05 : Aspect en microscopie électronique à balayage des hématies d'après. (Howard, 2004)

1.5.2. La membrane érythrocytaire

La membrane plasmique des globules rouges est composée d'une double couche lipidique dans laquelle s'insère un nombre important de protéines reliées au cytosquelette sous membranaire (Mannargadoo *et al.*, 2016). Principalement (en poids) on trouve 52% de protéines, 40% de lipides et 8% de glucides. Les lipides membranaires comportent : les phospholipides (63%), les cholestérols non estérifiés (25%) et les glycosphingolipides.

Certaines de ces glycoprotéines et certains glycolipides expriment à la surface des globules des déterminants de groupes sanguins (**Dodge. J et al., 1963**). Elle contient aussi des protéines membranaires qui jouent des rôles importants dans les échanges avec le milieu extérieur tel que les pompes d'ATPase Na^+/K^+ et Ca^{2+} , les protéines de transport des anions, de l'eau et du glucose (**Bichis. M et al., 2000**). Ces protéines ayant aussi un rôle dans la stabilité et l'ancrage des hématies avec le cytosquelette cellulaire (**Elgsaeter. A et al., 1986**) (Figure 06).

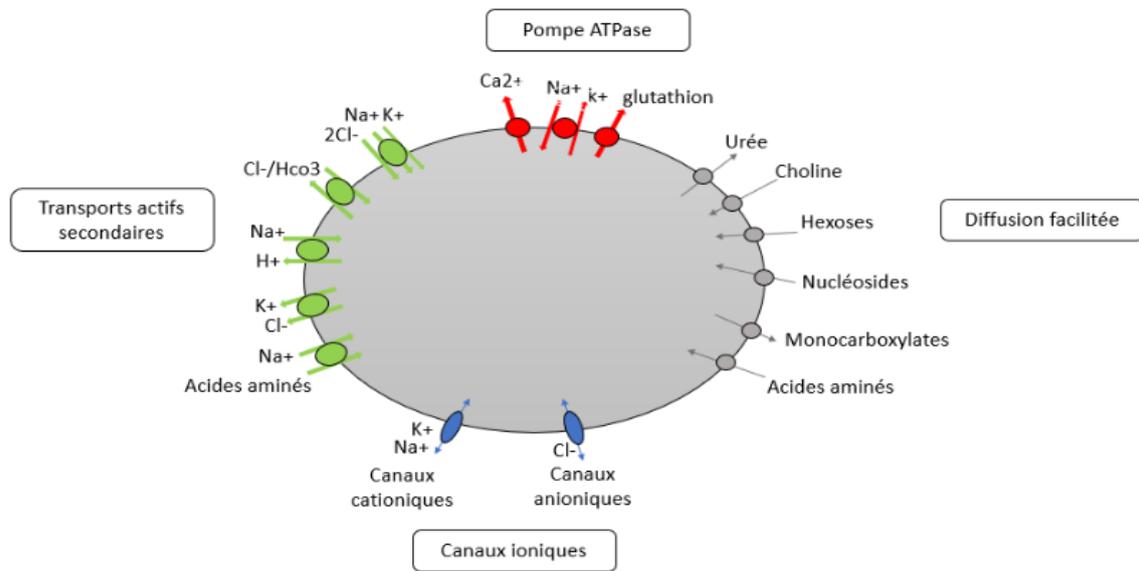


Figure 06 : Structure de La membrane érythrocytaire. (**Jaureguirry. S., 2015**).

1.5.3. Hémyolyse

L'hémyolyse (hémo : sang ; lyse : perturbation) est un phénomène irréversible qui aboutit à la rupture de la membrane des hématies provoquant la libération des éléments intra-érythrocytaires dans le plasma notamment l'hémoglobine (**Kato et al., 2017**).

Généralement, l'hémyolyse provoque une augmentation du taux d'hémoglobine, de la lactate déshydrogénase (LDH) et une diminution du taux d'haptoglobine et de l'hémoglobine glycosylé (**Marchand.A et al., 1980**). Elle est la cause de pathologies spécifiques telles que les maladies vasculaires aiguës et chroniques, l'inflammation, la thrombose et l'insuffisance rénale (**Schaer.D et al., 2013**). Cependant L'hémyolyse physiologique doit être différenciée de l'hémyolyse pathologique ou l'hyper hémyolyse (**Dahmani. S et al., 2000**).

Hémolyse physiologique

Elle se caractérise par la destruction du globule rouge après une durée de vie de 120 jours par vieillissement, elle sera compensée immédiatement par la moelle osseuse, sans répercussions cliniques ni biologiques. Ce phénomène est détecté visuellement en montrant une teinte rose rougeâtre dans l'échantillon après centrifugation ou en mesurant la densité optique du surnageant (hémoglobine) par spectrophotométrie (**Mezzour et al., 2006**).

Hémolyse pathologique ou hyper-hémolyse

L'hyper-hémolyse est le dépassement du processus physiologique de lyse des globules rouges qui devient pathologique, ce phénomène est dû à une destruction excessive des hématies ou à un raccourcissement de leur durée de vie, sous l'effet d'un processus hémolytique qui peut être intrinsèque (hémolyse corpusculaire) ou extrinsèque (hémolyse extra-corpusculaire) (**Ucar, 2002**).

Anti- hémolytique :

Les différentes causes héréditaires ou acquises (auto-immunes, toxiques ou traumatiques) rendent l'anémie hémolytique un sujet assez complexe qui nécessite nécessairement une étude spécialisée afin de déterminer les traitements adéquats. Il est inévitable que le traitement des anémies hémolytiques implique le traitement des origines de cette anémie. Le nombre de traitements est donc pratiquement équivalent à celui des causes. Il existe plusieurs médicaments anti-hémolytiques, des substances capables de retarder ou d'inhiber la lyse des globules rouges, on a deux types :

A. Anti-hémolytique synthétique

La lyse des globules rouges est retardée ou inhibée par les médicaments anti-hémolytiques. Il y en a plusieurs, tels que l'acide folique, les suppléments de fer, la vitamine B12 et d'autres vitamines, les corticostéroïdes, les stéroïdes et les médicaments immunosuppresseurs. (**Federici et al., 2007 ; Zanella et al., 2014 ; Barcellini et al., 2015**)

B. Anti-hémolytique d'origine végétale

La recherche de nouvelles substances anti-hémolytiques d'origine végétale connaît un essor considérable. De nombreux laboratoires de recherche à travers le monde mènent des recherches dans ce sens. Différents extraits de plantes ont prouvé leur efficacité en tant qu'agents anti-hémolytiques.

Tableau II : synthèse de certaines plantes qui ont démontré une activité anti-hémolytique.

Source végétale	Test utilisées	Effets	Références
Extrait de feuilles Mucunapruriens	Hémolyse induit par solution hypotonique	Effet anti- hémolytique: 69,31 % à 80 µg/ml d'extrait	(Assumptaanosike et Ngozi igboegwu, 2019)
Partie aérienne portulaca Oleracea. L (Algérie)	Hémolyse provoquée par l'eau distillée	Effet hémolytique et activité antioxydant Taux d'hémolyse qui ne dépasse pas 6%	(Ameziane amina, 2016)
Fruits de dactilifera du phénix (Maroc)	Hémolyse induite par un puissant oxydant l'AAPH	Antioxydant et anti hémolytique et anti bactériale activité	(Eimad dine tariq bouhali et al., 2016)
Extrait de Fleurs Albutinusindicum	Hémolyse induite par NaCl	Effet anti- hémolytique : 70,24% à 1 mg/ml d'extrait	(Shobana et Vidhya, 2016).
Extrait de feuilles Arbutusunedo	Hémolyse induit par HOCL	Effet –anti- hémolytique 73,90 % à 1 mg/ml d'extrait	(Moualek et al., 2016)

Matériel et méthodes

II.1. Matériel

Matériel végétal

Ferula communis et *Asparagus acutifolius* ont été récoltées à la région de Gouraya, wilaya de Bejaïa, au mois de mars. Elles ont été nettoyées et séchées dans l'étuve pendant une semaine à 40°C puis réduites en poudre à l'aide d'un moulin à café et tamisées à un diamètre $\leq 125\mu\text{m}$.

II.2. Méthodes

II.2.1. Extraction

On macère une quantité de 50 g de la poudre de *Ferula communis* d'*Asparagus acutifolius* dans le méthanol (1/10) jusqu'à l'épuisement ensuite on fait évaporer le solvant à l'aide du rotavator. Les extraits des deux plantes ont été conservés à 4°C jusqu'au moment de leur utilisation.

II.2.2. Fractionnement

Le fractionnement a été réalisé selon la méthode de **Rostagno et Prado (2013)**, en utilisant des solvants à des polarités croissantes à savoir : l'éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle, et n-butanol. Dans une ampoule à décompter pendant 24h.

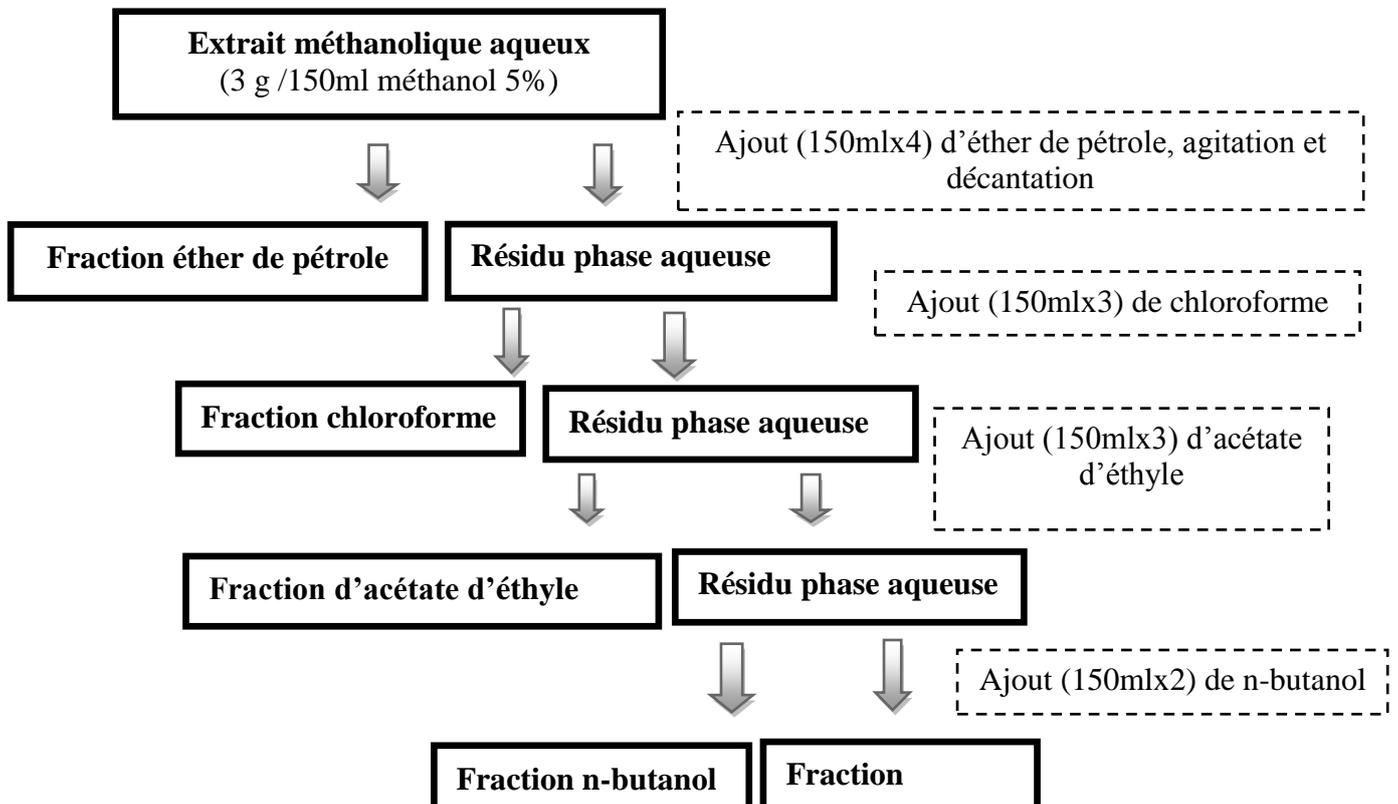


Figure 07 : Etapes du fractionnement.

II.3. Rendement d'extraction

On calcule le rendement des deux plantes avec la formule :

$$\text{Rendement (R \%)} = (M / M0) * 100$$

R% : rendement exprimé en pourcentage

M : Masse en gramme de l'extrait sec obtenu

M0 : Masse en gramme de l'échantillon de poudre utilisée

II.4. Analyse phytochimique

Cette analyse a pour objectif de déterminer la teneur en polyphénols, tanins, et flavonoïdes dans nos extraits bruts et leurs différentes fractions.

II.4.1. Dosage des antioxydants

II.4.1.1. Dosage des polyphénols totaux

Principe : En milieu alcalin, les polyphénols réduisent le réactif du Folin entraînant la formation d'un mélange de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) de coloration bleue qui absorbe à une longueur d'onde de 765 nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des polyphénols dans les extraits (Naithanie *et al.*, 2006).

Mode opératoire : L'estimation des teneurs en polyphénols dans les extraits méthanoliques ainsi que les différentes fractions organiques des deux plantes étudiées ont été effectués en se référant à la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu décrite par (Wong *et al.*, 2006). Pour cela ; un volume de 200 μ L de l'extrait végétal solubilisé dans le méthanol, a été mélangé avec 1 mL de Folin-Ciocalteu (10%). Après 4 minutes d'incubation à l'obscurité, 800 μ L de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 7,5%) est ajoutée. L'absorbance a été mesurée à 765 nm, après 1 heure d'incubation. Un blanc a été préparé dans les mêmes conditions en absence de l'extrait végétal.

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'acide gallique par 1g d'extrait (mgEAG/gE) en se référant à une gamme d'étalon obtenue avec l'acide gallique (Annexe01).

II.4.1.2. Dosage des flavonoïdes

Principe : Le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) se combine avec les flavonoïdes et forme un complexe jaune qui absorbe à une longueur d'onde de 430 nm.

Mode opératoire : La quantification des taux de flavonoïdes dans les extraits méthanoliques et leurs fractions a été calculée en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium décrite par **Quettier-Deleu *et al* (2000)**. Un volume de 1 mL d'extrait végétal solubilisé dans le méthanol a été additionné à 1 mL d' AlCl_3 à 2%. Après 10 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. Le blanc a été préparé dans les mêmes conditions précédentes en remplaçant l'extrait par le méthanol.

Les résultats obtenus ont été exprimés en mg équivalent de quercétine par 1g d'extrait (mgEQ/gE), en se référant à une courbe d'étalonnage de quercétine (Annexe01).

II.4.1.3. Dosage des tanins condensés

Principe : Cette méthode est basée sur l'interaction de la vanilline avec les unités des tanins condensés dans un milieu acide pour produire un complexe rouge mesuré à 500 nm (**Hagerman et Butler, 1978**).

Mode opératoire : Les teneurs en tannins condensés ont été déterminés selon la méthode décrite par **Ba *et al* (2010)**. Pour cela, un volume de 500 μL d'extrait végétal solubilisé dans le méthanol a été mélangé avec 1.5 mL de vanilline (4%) et 750 μL d'HCl à 37%, Après homogénéisation et incubation pendant 20 min à 30°C, l'absorbance a été mesurée à 500 nm (**Hagerman et Butler, 1978**). Le blanc est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'échantillon par le méthanol.

L'expression des résultats des concentrations en tanins condensés est faite en mg de catéchine équivalente par 1g d'extrait (mg EC/gE). En se référant à une courbe d'étalonnage de catéchine (Annexe01).

II.5. Détermination d'activité antioxydants

II.5.1 Méthode de réduction du radical libre DPPH

Le DPPH \cdot (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl) est un radical instable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorbance spectral maximal à 517 nm. En présence d'antioxydants, l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration de DPPH \cdot du violet foncé (forme radicalaire DPPH \cdot) au violet clair vers le jaune (forme réduite DPPH-H). Cette décoloration est due à la capacité de l'échantillon à piéger ce radical (**Ramadan, 2010**). Selon la réaction suivante :



AH : élément qui peut donner un hydrogène au radical DPPH· (Violet) afin de le convertir en diphényle picryl hydrazine (jaune) (**Habibou et al., 2019**).

Mode opératoire : L'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH a été effectuée selon le protocole décrit par **Shirwaiker et al (2006)**. Un volume de 1mL d'extrait végétal solubilisé dans 1mL de solution méthanolique du DPPH· (0.1mM). Après homogénéisation et incubation pendant 30 min à température ambiante, l'absorbance a été mesuré à 517 nm. Un contrôle positif a été réalisé, en remplaçant l'extrait par le méthanol.

Le calcul du pourcentage de réduction du radical DPPH· a été effectué selon la suivante équation

$$\% \text{ scavenging deradical DPPH} = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

AC : Absorbance du contrôle

AE : Absorbance d'échantillon

II.5.2. Méthode de réduction du radical-cation ABTS^{•+}

Cette méthode est basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cationique ABTS^{•+} qui présente un spectre d'absorption dans le visible à 734 nm (**Chen et al., 1997**). En réagissant avec le Persulfate de potassium (K₂S₂O₈), l'ABTS forme le radical ABTS^{•+}, de couleur bleue verdâtre. L'ajout d'un antioxydant va réduire ce radical et provoquer la décoloration du mélange. Cette dernière est proportionnelle à la concentration en antioxydants.

Mode opératoire : Le potentiel antioxydant radicalaire a été mesuré en utilisant le test de piégeage par le cation radicalaire ABTS^{•+} suivant la méthode décrite par **Le et al (2007)**. Le radical cation ABTS^{•+} a été formé par la réaction entre un mélange de solution d'ABTS (7 mM) et de persulfate de potassium (2,45 mM), conservée à l'obscurité et à température ambiante, pendant 16 h avant utilisation. La solution ABTS^{•+} a ensuite été diluée avec le méthanol pour obtenir une absorbance de 0,700±0.02 à 734 nm. Dans un tube à essai on met 100µL d'échantillon, on ajoute 1.9mL d'ABTS puis on procède à une incubation de 7min et on mesure l'absorbance à 734nm. Un contrôle positif a été réalisé, en remplaçant l'extrait par le méthanol.

Les résultats des absorbances obtenues permettent d'exprimer le pourcentage d'inhibition par la formule suivante :

$$\% \text{ scavenging radical ABTS} = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

AC : Absorbance du contrôle.

AE : Absorbance de l'extrait

II.5.3. Méthode de réduction du fer (FRAP)

La méthode FRAP développée par **Thaipong *et al* (2006)** correspond à la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique (TPTZ-Fe³⁺) en un complexe tripyridyltriazine ferreux (TPTZ-Fe²⁺) par un antioxydant (AH), à un pH acide (3.6) afin de maintenir la solubilité du fer. La réduction donne naissance à une coloration bleue intense évaluée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 593 nm (**Munteanu et Apetrei, 2021**).

Mode opératoire : La solution de FRAP est fraîchement préparée par mélange de 10 mL de tampon acétate à 300 mM (pH 3,6), 1 mL d'une solution de TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) à 10 mM et 1 mL d'une solution de FeCl₃ à 20mM, puis chauffé à 37 °C avant l'utilisation. 150 µL des extraits ont été réagis avec 2850 µL de la solution de FRAP pendant 15 min à l'obscurité. La lecture de produit coloré (le complexe tripyridyltriazine ferreux) a été effectuée à 593 nm. Un contrôle positif a été réalisé par 150 µL d'échantillon et 2850 µL de solution FRAP.

Les résultats sont exprimés par milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de l'échantillon (mg EAA/g E).

II.6. Activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne de deux plantes étudiées contre les souches bactériennes choisies pour le test est évaluée selon le protocole décrit par **clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2015)** par la technique de diffusion sur gélose. Les bactéries de référence utilisées sont :

*Bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 et *Salmonella typhi* ATCC14028.

*Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *SARM* ATCC6538

*Levure : *Candidaalbicans* ATCC10231

II.6.1. Préparation des échantillons

Revivification des souches

Les souches identifiées auparavant et conservées sur milieux spécifiques (géloses inclinés) ont été revivifiées sur bouillon nutritif.

La revivification consiste à prendre quelques colonies des tubes contenant les souches conservées et les mettre dans un tube à essai stérile contenant le bouillon nutritif préalablement préparé. Après incubation pendant 24 heures, la croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble dans le milieu. On a réalisé une standardisation des souches afin d'avoir une culture de 10^8 UFC /ml.

II.6.2. Préparation de milieu de culture

Dans notre étude, on a utilisé le milieu Muller Hinton Agar (MHA) et Muller Hinton Broth (MHB), qui sont préparés comme suit :

***Muller Hinton Agar (MHA) :** Ajouter 38g de la gélose Muller-Hinton à 1 L d'eau distillée pour dissoudre. Faire bouillir en agitant jusqu'à ce que la solution soit complètement dissoute, ajuster le pH à $7,4 \pm 0,2$, puis autoclaver pendant 20 minutes à 121°C et verser le milieu dans les boîtes à pétri.

***Muller Hinton Broth (MHB) :** Est préparé de la même manière que le milieu MHA en dissolvant 21g de la poudre de Muller-Hinton broth dans 1L d'eau distillée.

II.6.3. Mode opératoire

Les souches bactériennes sont ensemencées à la surface de la gélose en utilisant un inoculum de turbidité 0,5 McFarland (10^8 UFC ml^{-1}). Les boites de pétri sont ensuite laissées à température ambiante 15min. Un volume de 50 μl de chaque extrait est déposé dans chaque puits, puis les boites sont incubées pendant 24 heures à 37°C .

L'activité antimicrobienne de la levure est réalisée sur le milieu PDA.

Tous les extraits ont été solubilisé dans le DMSO pur, et ce dernier a été testé comme un témoin négatif.

Le diamètre de chaque zone d'inhibition est donné en mm, les extraits sont classés selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne (**Ponce et al., 2003**) : non sensible (< 8mm), sensible (8 à 14 mm), très sensible (15 à 19 mm) et extrêmement sensible (> 20mm).

II.7. Test de l'innocuité « hémolyse »

II.7.1. Préparation de la suspension des globules rouges

Le sang destiné à la préparation des suspensions érythrocytaires a été prélevé à partir de personnes saines dans des tubes héparinés. Le sang a été centrifugé à 3000rpm /10 min, le surnageant a été éliminé et le culot a été lavé trois fois avec la solution de PBS (0,2 M, pH 7,4) puis centrifugé à 3000rpm/5min afin d'obtenir un surnageant claire. Le culot est à nouveau rempli d'une solution de PBS à 1 volume du culot et 9 volumes de PBS, ce qui donne un hématocrite de 10% (Shobana et Vidhya, 2016).

II.7.2. Mode opératoire

On a préparé 0,4mL d'extrait, des différentes fractions et d'acide gallique dans du PBS salin à pH 7,4, en ajoutant 0,4 mL de suspension de 10% de GR. On a incubé le mélange pendant 10 min à température ambiante. L'eau distillée est utilisée comme référence (un témoin positif qui entraîne une hémolyse de 100 %), tandis qu'un tube de PBS salin a été utilisé comme témoin négatif. Ensuite, on a centrifugé à 2000 T/m pour mesurer l'absorbance du surnageant à 540 nm. On calcule les taux d'hémolyses de chacune des concentrations utilisées :

$$\text{Pourcentage d'hémolyse (\%)} = [\text{DoE} - \text{Doc-} / \text{Doc+}] \times 100$$

DoE: Densité optique de l'échantillon

Doc- : Densité du contrôle négatif

Doc+ : Densité du contrôle positif

II.7.3. Stabilisation de la membrane des globules rouges

Selon le protocole de Ganesh Gadamsetty *et al* (2013), le test repose sur l'impact des extraits des deux plantes étudiées ainsi que leurs fractions sur la stabilisation des érythrocytes après avoir induit l'hémolyse en utilisant une solution hypotonique associée à une température élevée.

II.7.4. Mode opératoire

Dans des tubes à essais, on a ajouté 0,5 mL des extraits des deux plantes (dissous dans NaCl 0,9 %), 1,5 mL de tampon phosphate (0.15 M, pH 7.4) et 2 mL de solution hypo-saline

(NaCl à 0.36 %), suivi d'une incubation à 56 °C pendant 30 min. On a placé les tubes dans un bain d'eau froide pendant 20 min pour stopper la réaction, puis on les a centrifugés à une vitesse de 3000 rpm pendant 5 min. On a réalisé la mesure de l'absorbance du surnageant à 560 nm en utilisant un spectrophotomètre. Un mélange de 2 mL de solution hypo-saline, 2 mL du tampon PBS et 0,5 mL de suspension de globules rouges est utilisé pour le contrôle. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse (\%)} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbance de control

At : absorbance de l'échantillon (test).

II.8. Analyses statistiques

Les données ont été analysées selon la méthode One-Way ANOVA du logiciel STATISTICA soumis à une analyse statistique à l'aide d'un ensemble de programmes statistiques. Trois mesures ont été réalisées pour chaque échantillon analysé et les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type. Des comparaisons statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel Graph Pad Prism 5. Les différences ont été considérées comme étant significatives à $P < 0,05$. Les valeurs des IC50 ont été calculées en utilisant le logiciel Graph Pad Prism 5. Les coefficients de corrélation ont été réalisés à l'aide du programme Microsoft Office Excel 2007.

Résultats et discussion

III.1. Rendement de l'extraction

Le tableau ci-dessous représente les résultats du rendement de l'extrait méthanolique exprimé en pourcentage (%) par rapport au poids de la poudre d'*Asparagus acutifolius* et *Ferula communis* ainsi que leurs fractions exprimées en pourcentage par rapport au poids de l'extrait méthanolique brut.

Tableau III : Rendement d'extraction et pourcentages des fractions.

Extrait/ fraction	Aspect	Couleur	Rendement extrait brut A	Rendement extrait brut F	Rendement fractions A (%)	Rendement fractions F (%)
Brut	Visqueux	Vert foncé	27,42	33.12	/	/
Ehter	Visqueux	Vert foncé	/	/	70,77	47,29
Chl	Visqueux	Vert foncé	/	/	5,31	3.57
Aeth	Sec	Vert brunâtre		/	3.75	2.81
n-But	Sec	Vert brunâtre	/	/	5.20	5.8
Aq	Collant	Marron caramel	/	/	12,31	40

L'extrait brut a subi un fractionnement avec des solvants ayant des polarités croissantes à savoir l'éther de pétrole, le chloroforme (chl), l'acétate d'éthyle (Aeth), n-butanol (n-But) et l'eau distillée (Aq). Ces solvants permettent de fractionner les composés en fonction de leur polarité. Les résultats du rendement d'extraction montrent des variations importantes entre les différentes fractions par rapport aux extraits bruts, dont le rendement le plus élevé a été observé dans les fractions d'éther du pétrole et aqueuse d'*Asparagus acutifolius* et *Ferula communis* qui sont de l'ordre de 47,29, 70,77, 40 et 12,31%, respectivement. Les rendements les plus faibles ont été constatés dans les fractions Aeth, Chl et n-But pour les deux plantes avec des valeurs allant jusqu'à 2.81 et 3.75%.

III.2. Dosage des antioxydants

III.2.1. Teneur en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols correspondant à l'extrait brut et ses fractions sont exprimées en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E) et sont déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe 01) réalisée avec l'acide gallique avec l'équation suivante : $Abs = 0,0115 [AG] + 0,035$; $R^2=0,996$.

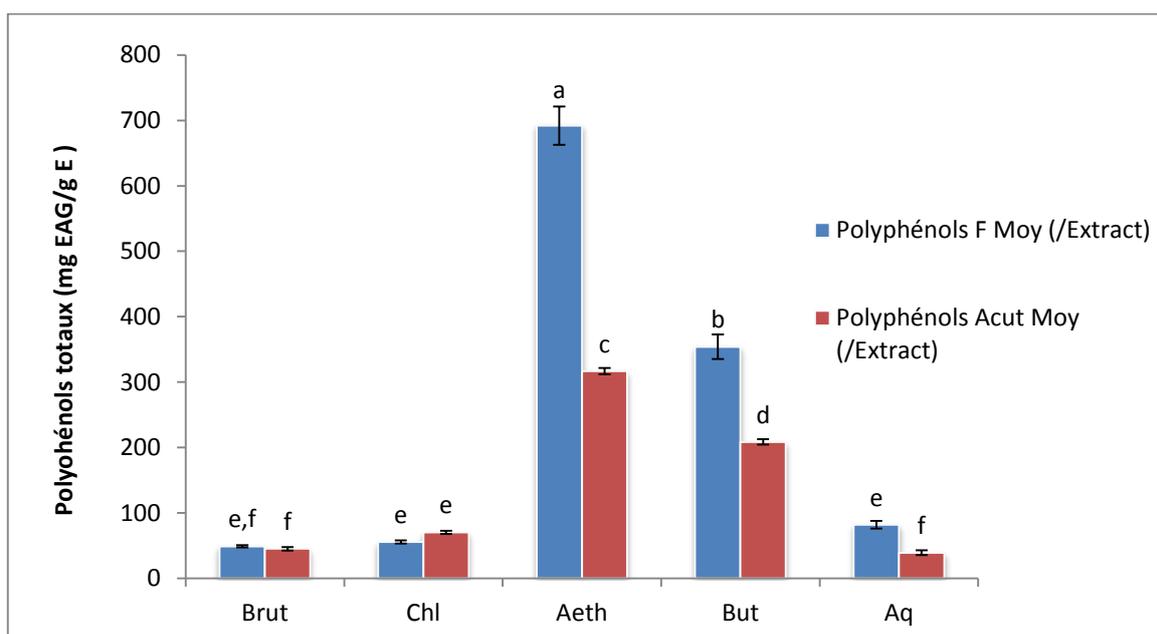


Figure 08 : Teneur en polyphénols totaux des extraits bruts et leurs fractions.

Les résultats d'étude statistique des teneurs en polyphénols totaux ont montré des taux qui varient entre les deux plantes étudiées ; et ne présentent aucune différence significative ($P < 0,05$) pour les extraits bruts et la fraction Chl. Par contre, les fractions Aeth, n-But et Aq présentent des variations significatives ($P < 0,05$).

D'après la Figure 08, la teneur en polyphénols totaux est clairement abondante dans les fractions d'acétate d'éthyle suivie par n-butanol pour les deux plantes *Ferula* et *Asparagus* ($P < 0,05$) avec des taux de : $(692 \pm 29,38, 316,72 \pm 4,91, 354,06 \pm 18,73$ et $208,48 \pm 4,18$ mg EAG/g E), respectivement ; tandis que pour les extraits bruts, la fraction chloroformique et aqueuse des deux plantes présentent des teneurs inférieures qui sont d'ordre de: $(48,90 \pm 1,81, 45,33 \pm 2,64, 55,81 \pm 2,44, 70,36 \pm 2,36; 81,93 \pm 6,03$ et $39,27 \pm 3,84$ mg EAG/g E, respectivement.

III.2.2. Teneur en Flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes correspondant aux extraits bruts et leurs fractions sont exprimées en milligramme d'équivalent Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g E), déterminées par référence à une courbe d'étalonnage (Annexe 01) réalisée avec la Quercétine possédant l'équation suivante : $Abs = 0,037[Q]-0,0464$; $R^2=0,995$. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 09.

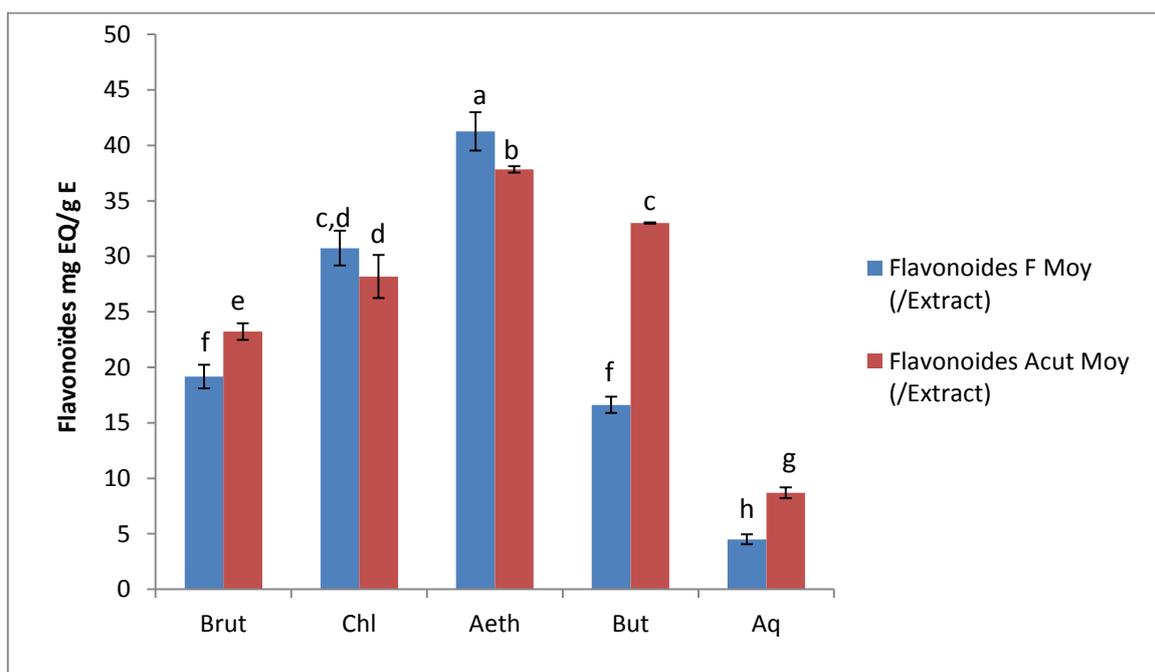


Figure 09 : Teneur en Flavonoïdes des extraits bruts et leurs fractions.

Les teneurs en flavonoïdes ont montré des différences significatives ($P<0,05$) entre les extraits bruts méthanoliques des deux plantes étudiées, ainsi que pour les fractions : Aeth, n-But et Aq, mais aucune différence significative ($P<0,05$) n'a été observée avec les fractions chl. Cependant des différences significatives ($P<0,05$) ont été observées entre les extraits bruts et leurs fractions, à l'exception de n-But de *Ferula* ($P<0,05$).

En effet, les fractions Aeth des deux plantes étudiées, sont les plus riches en flavonoïdes avec des teneurs de $(41.26\pm 1.73$ et 37.83 ± 0.28 mg EQ/g E), suivies par les fractions Chl (30.73 ± 1.56 et 28.18 ± 1.93 mg EQ/g E), respectivement. Cependant, les concentrations les plus faibles ont été observées dans les fractions Aq des deux plantes (4.50 ± 0.44 et 8.68 ± 0.49 mg EQ/g E).

Les teneurs en flavonoïdes sont néanmoins nettement plus faibles par rapport aux teneurs en polyphénols totaux.

III.2.3. Teneur en tanins

La courbe d'étalonnage (Annexe 03) réalisée avec la Catéchine est caractérisée par l'équation suivante : $Abs = 0,002[C] + 0,038$; $R^2=0,992$.

Les deux plantes étudiées à savoir *Asparagus acutifolius* et *Ferula communis* n'ont pas révélé de teneurs en tanins condensés.

III.3. Discussion générale des teneurs en composés phénoliques

Si on compare les résultats du dosage des composés phénoliques avec la littérature, on constate que la richesse d'*Asparagus acutifolius* a été confirmé par certain auteurs tels que les travaux réalisés par **kaska. A et ses collaborateurs (2018)** sur les différentes parties (feuilles, tiges et fleurs) d'*Asparagus acutifolius*, qui montrent des teneurs en polyphénols similaires à nos résultats (54.10 ± 0.67 mg EAG/g Ext), et des teneurs plus élevées en flavonoïdes et tanins (92.70 ± 0.21 mg EQ/g Ext et 37.72 ± 0.51 mg EC/ g Ext). L'étude réalisée par **Sanjay Kasture et ses associés (2009)** montre des teneurs plus élevées en polyphénols (110 ± 2.6) tandis que celle réalisé par **Palfi, M. et ses collègues (2017)** montre des teneurs similaires à nos teneurs en polyphénols (49.60 mg GAE/g Ext).

La bibliographie de *Ferula communis* illustre une grande abondance en composés phénoliques ; cela a été démontré par plusieurs chercheurs comme **F. Z. Rahali et ses collègues (2019)** qui ont trouvé des teneurs supérieures en polyphénols et en flavonoïdes par rapport à nos résultats avec des valeurs de $207,21$ mg EAG/g E et $48,77$ mg EQ/g E, respectivement. Les résultats du fractionnement réalisé par **Gamal M. A. et Atraiki R. A. M. (2015)** rapportent des valeurs en polyphénols dix fois inférieures à nos résultats dans les fractions n-But et Aeth, qui sont d'ordre de 55.8 et 44.7 mg EAG/g, respectivement.

Les écarts trouvés entre les résultats obtenus et les données de la bibliographie sont tout à fait justifiés. En effet, cette variation est due aux conditions d'extraction, l'état et l'origine de l'échantillon en termes de provenance géographique, saison de collecte et cultivation, les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et le type du microclimat (**Ranalli et al., 2006 ; Ksourial., 2007 ; Li et al., 2009 ; Atmani et al., 2009**). Ainsi, la diversité structurale des composés phénoliques conduit à la variabilité des propriétés physico-chimiques et la différence des standards à utiliser pour leur identification. Les

méthodes de conservation et d'exposition des plantes à la lumière peuvent affecter la teneur en composés phénoliques (Mateus, N *et al.*, 2003 ; Tawaha *et al.*, 2007).

III.4. Activité antioxydante

III.4.1. Activité scavenger du radical DPPH·

L'activité antioxydante est évaluée en fonction de l'effet inhibiteur des extraits bruts et de leurs fractions sur le radical DPPH·

La capacité antioxydante d'un composé est inversement proportionnelle à l'IC₅₀, car il représente la quantité d'antioxydants nécessaires pour réduire la concentration du radical libre DPPH· de 50 %. Les faibles valeurs d'IC₅₀ témoignent de la force de l'extrait, ce qui signifie qu'il possède un pouvoir antioxydant plus élevé (Enneb *et al.*, 2015). Les résultats des IC₅₀ du radical DPPH· Sont représentés dans la Figure 10.

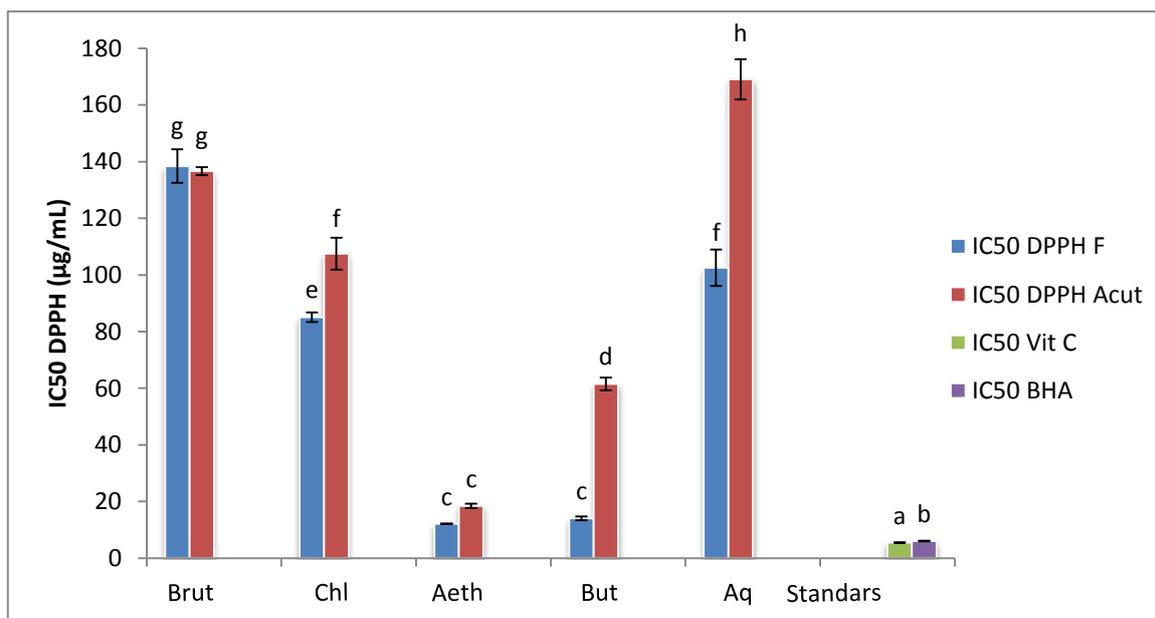


Figure 10: Valeurs des IC₅₀ DPPH· des extraits bruts, leurs fractions et les standards.

D'après la Figure08, la Vit C et la BHA, qui sont des antioxydants standards, ont un IC₅₀ de 5,47±0,13 et 6,03±0,13 µg/mL (P<0.05), respectivement. Ce qui indique que la Vit C est plus puissante que la BHA dans l'effet scavenger du radical DPPH·

Les IC₅₀ des extraits bruts de *Ferula communis* et *Asparagus acutifolius* et leurs fractions Chl, Aeth, n-But, et Aq, sont d'ordre de : 138.4±5.9 ; 136.66±1.42 ; 85.09±1.69 ; 107,53±5,65 et 12,15±0,095 µg/mL ; et 18,42±0,77 ; 14,08±0,66 ; 61,51±2 ,22 ; 102,53±6,37 et 169±7,09 µg/mL, respectivement.

Les résultats statistiques illustrés dans la figure montre qu'il n'existe aucune différence significative ($p < 0.05$) entre les deux extraits bruts et entre la fraction Aeth et n-But de *Ferula* mais des différences significatives ($p < 0.05$) avec ses autres fractions, d'autre part l'extrait d'*Asparagus acutifolius* diffère significativement avec ses fractions ($p < 0.05$).

Les IC50 des extraits bruts des deux plantes et la fraction Aq d'*A.acutifolius* sont importants comparé aux autres fractions ($P < 0.05$), ce qui indique une activité scavenger du radical DPPH· moins importante. Tandis que les IC50 d'Aeth des deux plantes et n-But de *Ferula* sont faibles et proche des IC50 des standards, ce qui indique que ces fractions possèdent une puissante activité scavenger du radical DPPH· ($P < 0.05$).

III.4.2. Activité anti radicalaire ABTS^{•+}

Les valeurs IC50 enregistrées pour l'*Asparagus acutifolius* et *Ferula communis* et leurs fractions sont présentées dans la figure11.

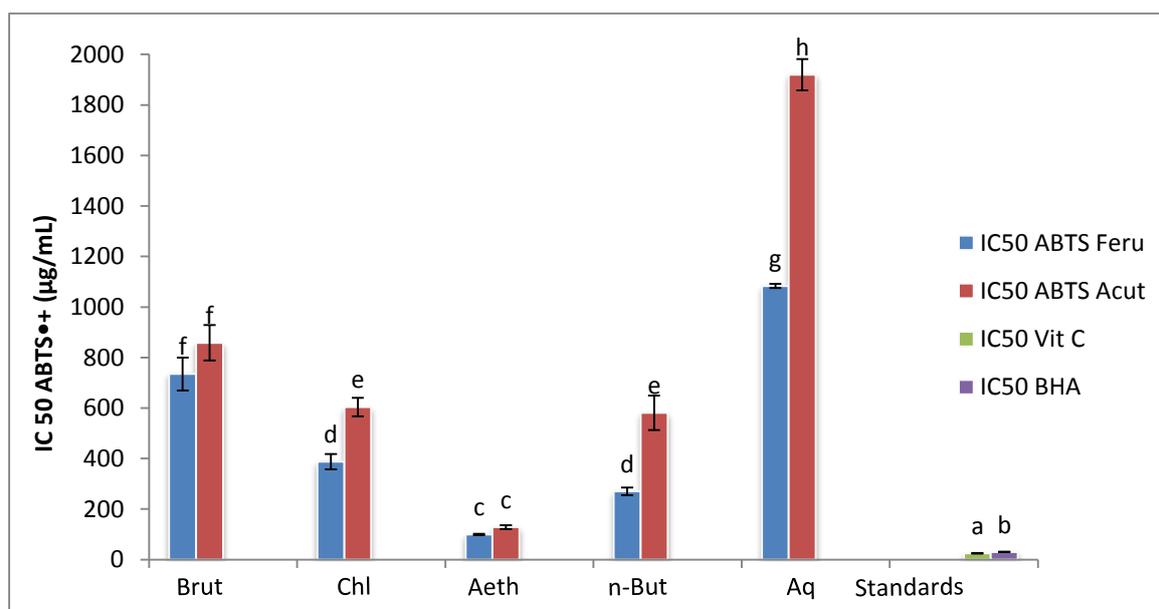


Figure11 : Valeurs des IC50 des extraits bruts, leurs fractions et les standards.

Les IC50 obtenus avec la Vit C et la BHA, sont d'ordre de : $24,92 \pm 1,32$ et $30,23 \pm 0,54$ µg/ml, respectivement, et celles des extraits bruts de *Ferula communis* et *Asparagus acutifolius* et leurs fractions Chl, Aeth, n-But, et Aq, sont d'ordre de : $734,66 \pm 65,13$; $857,9 \pm 70,20$; $387,86 \pm 30,03$; $603,93 \pm 37,05$ et $99,42 \pm 2,80$ µg/ml ; et $128,63 \pm 7,70$; $270,4 \pm 14,86$; $580,8 \pm 68,65$; $1083,33 \pm 8,14$ et 1920 ± 62 µg/ml, respectivement.

D'après ces résultats, la meilleure activité anti-radicalaire est enregistrée pour la fraction Aeth et n-But des deux plantes étudiées ; tandis que la fraction Aq et les extraits bruts

de *Ferula communis* et d'*Asparagus acutifolius* présentent une faible capacité anti-radicalaire ABTS^{•+}.

D'après l'analyse statistique, une différence significative ($p < 0.05$) entre les extraits avec leurs fractions a été enregistrée, à l'exception des deux extraits bruts et les fractions Aeth qui ne diffèrent pas significativement entre eux ($p < 0.05$), ainsi qu'entre les fractions chl et, n-But des deux plantes.

III.4.3. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Les résultats du pouvoir réducteur de nos échantillons sont exprimés en mg EAA/g E déterminés en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide ascorbique (Vit C) ayant l'équation suivante : $Abs = 0,014[Vit C] - 0,03$; $R^2 = 0,995$.

La Figure12 présente le pouvoir réducteur des extraits bruts et les fractions (Chl, Aeth, n-But et Aq) de *Ferula communis* et d'*Asparagus acutifolius* exprimés en mg EAA/g E, allant de $23,09 \pm 0,95$ à $155,14 \pm 4,57$ mg EAA/g E, respectivement.

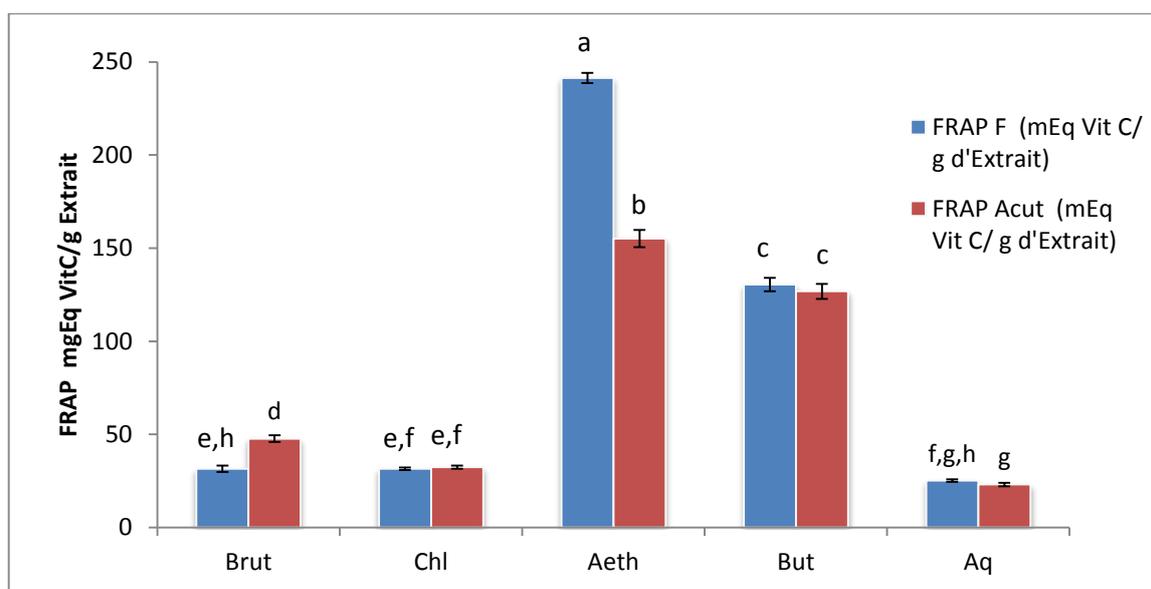


Figure12 : Pouvoir réducteur des extraits bruts et leurs fractions.

D'après ces résultats, on remarque que les fractions Aeth et n-but de *Ferula* et *Asparagus* présentent le pouvoir réducteur le plus important ($P < 0,05$) suivies respectivement des extrait bruts, les fractions chl et enfin par les fractions Aq qui possèdent une faible capacité réductrice FRAP.

L'analyse statistiques pour le test FRAP a montré qu'il n'existe aucune différence significative ($p < 0.05$) entre la fraction chl, n-But et Aq des deux plantes, mais il existe des

différences significatives ($p < 0.05$) entre les autres fractions. *Ferula communis* possède une similarité entre (Brut-Chl) et (Brut-Aq) et elle diffère significativement avec sa fraction Aeth et n-But. L'*Asparagus acutifolius* diffère significativement entre toutes ses fractions.

Pour la plante *Asparagus acutifolius*, la teneur en polyphénols totaux et le pouvoir réducteur des extraits (Brut, Chl, Aeth, n-But et Aq) (Annexe 02); montre un coefficient de corrélation $R^2 = 0,949$, et entre la teneur en flavonoïdes et le pouvoir réducteur un coefficient de corrélation $R^2=0,668$, un coefficient de corrélation $R^2=0.919$ entre DPPH et polyphénols, et un $R^2= 0.882$ entre le DPPH et flavonoïdes.

Par rapport à la courbe de corrélation tracée pour la plante *Ferula communis* entre la teneur en polyphénols totaux et le pouvoir réducteur des extraits et les fractions (Brut, Chl, Aeth, n-But et Aq) (Annexe 03), montre un coefficient de corrélation $R^2 = 0,994$; et un $R^2= 0.737$ entre la teneur des polyphénols et DPPH.

Cette forte corrélation indique que la puissance de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes et leurs fractions est due principalement aux polyphénols qui se concentrent essentiellement dans les fractions n-But et Aeth. Ces résultats confirment ceux obtenus avec le test scavenger de radical DPPH^{*} et de radical ABTS^{•+}.

Pour les tests antioxydants réalisés, des courbes de corrélation tracées entre (test DPPH^{*} – test FRAP), (FRAP – test ABTS^{•+}) et (ABTS^{•+} – test DPPH^{*}) pour *Asparagus acutifolius* (Annexe 02) montrent des coefficients de corrélation (R^2) qui sont de l'ordre de : 0,879; 0,529 et 0,778, respectivement. Et $R^2=0.600$ pour FRAP-ABTS^{•+} pour *Ferula communis* ; et entre le test ABTS / DPPH, un $R^2=0.623$.

Cela met en évidence l'accord entre les trois tests utilisés dans cette étude pour évaluer l'activité antioxydante et montre que les fractions n-But et Aeth présentent une activité antioxydante très élevée proche de celle des standards utilisés.

III.5. Discussion générale de l'activité antioxydante

L'efficacité de l'activité antioxydante d'*Asparagus acutifolius* et *Ferula communis* sont explorées en se servant de trois tests ; DPPH, ABTS et le test de réduction du fer (FRAP).

Parmi les travaux effectués sur *Asparagus acutifolius* ; **Kaska.A et ses collaborateurs (2018)** rapportent des IC 50 de DPPH supérieure et d'ABTS inférieures à nos résultats, d'ordre de 383 et 145 ± 30 $\mu\text{g/mL}$ respectivement. Dans une autre étude réalisée par **M. Palfi**

et ses collègues (2017), les concentrations inhibitrices de 50 % du radical DPPH retrouvées sont toujours inférieures à nos résultats. Tandis que l'étude menée par **Sanjay Kasture et ses associés (2007)** montre des IC 50 DPPH largement supérieure à nos résultats (550 µg/ml).

Dans son étude sur *Ferula communis*, **F. Z. Rahali E et ses collègues (2019)** soulignent des IC 50 de DPPH et d'ABTS inférieure à nos résultats ; d'ordre de 24.07 ± 1.11 et de $5,56 \pm 0.41$ µg/mL. Par contre ; la capacité du piégeage du radical DPPH est inférieure à nos résultats dans l'étude effectuée par **Neghliz. H et Benabdelkader. T (2021)** où on a obtenu un pourcentage d'inhibition égale à 11.99% avec une concentration de 2mg/mL d'extrait brut.

On peut expliquer cette relation entre l'activité antioxydante et les substances bioactives par la structure des composés phénoliques, en particulier le degré et la position des groupements hydroxyles, leur substitutions et la présence des doubles liaisons sur le noyau aromatique, ainsi que la glycosylation et la présence d'autres groupements donneurs de protons, ce qui renforcent l'activité antioxydante de ces molécules (**Cai et al., 2006**) ; par exemple, les flavanols aglycones comme la quercétine, la myricétine et le kaempferol qui contiennent plusieurs groupements hydroxyles et ont une activité antioxydante supérieure à celle de leurs dérivés glycosylés comme la rutine et la myricétine (**Scherer et Godoy, 2009**). Il est aussi à noter que l'extrait brut contient des composés non phénoliques tels que les lipides, les sucres ou la chlorophylle qui peuvent être responsables de l'activité antioxydante.

III.6. Activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne du *Ferula* et d'*Asparagus* est basée sur les mesures de diamètres en mm des halos d'inhibition. Les résultats obtenus sont illustrés dans le Tableau IV.

La méthode de diffusion des disques des extraits nous a permis de déterminer l'action des extraits de la plante sur les différentes souches. Plusieurs zones d'inhibition sont apparues autour certains disques d'extraits. Une absence d'activité chez le DMSO pur qui était utilisé comme un témoin négatif.

Tableau IV : Diamètres d'inhibition obtenus avec les extraits et les fractions.

Souche		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>	SARM	Levure
Echantillon							
Brut	Férula	–	–	–	14mm	18 mm	21 mm
	Acut	–	–	10mm	–	10mm	–
Chl	Férula	–	–	–	30mm	28mm	23mm
	Acut	–	–	–	–	–	–
Aeth	Férula		11mm	–	–	–	–
	Acut	11mm	13mm	–	14mm	15mm	–
n-But	Férula	–	–	–	–	–	–
	Acut	–	–	–	–	–	–
Aq	Férula	–	–	–	–	–	–
	Acut	–	13mm	–	–	–	–

Les diamètres des zones d'inhibition se diffèrent d'une bactérie à une autre et d'un extrait à l'autre. Ces derniers sont comparés à l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne (**Ponce et al., 2003**).

D'après le tableau IV, tous les extraits ont présenté une efficacité devant les bactéries. Au moins une zone d'inhibition pour chaque bactérie, à l'exception de n-But (*Ferula* et *Asparagus*), la fraction Aq de *Ferula* et la fraction Chl d'*Asparagus* qui n'ont rien marqué.

Absence totale de zones d'inhibitions chez la souche *E.coli* et *Salmonella typhi* pour les deux plantes et leurs fractions à l'exception de la fraction Aeth d'*Asparagus* qui a un diamètre de 11mm (sensible) et pour l'extrait brut d'*Asparagus* avec un diamètre de 10mm (sensible).

Apparition des zones d'inhibition chez la souche *Pseudomonas aeruginosa* en présence des fractions Aeth des deux plantes (11mm pour *Ferula communis*) et (13mm pour *Asparagus acutifolius*) et chez la fraction aqueuse d'*asparagus* avec un diamètre d'inhibition de 13mm.

La souche *Staphylococcus aureus* a une sensibilité à l'extrait de *Ferula* (14mm) et extrêmement sensible à sa fraction Chl avec une zone d'inhibition plus élevée de 30mm. Elle est aussi sensible à la fraction Aeth (14mm).

La souche *SARM* est très sensible à l'extrait brut de *Ferula* (18mm) et extrêmement sensible pour sa fraction Chl (28mm).et même l'extrait d'*Asparagus* avec sa fraction Aeth a une efficacité contre cette souche.

La levure est extrêmement sensible à l'extrait brut de *Ferula* (21mm) et sa fraction chl (23mm).

D'après ces résultats, on remarque que toutes les souches ont été affectées par les extraits bruts, les fractions Aeth et Chl, cela indique que ces dernières possèdent une activité antimicrobienne, en inhibant la croissance des germes, qui est variable en fonction de la souche, et de la fraction.

Une importante activité antibactérienne est obtenue sur la souche *Staphylococcus aureus* (Gram+) et *SARM* (Gram+) pour *Ferula*, par rapport aux autres souches et fractions étudiées.

Les bactéries à Gram+ sont naturellement plus sensibles aux extraits que les bactéries à Gram- ; cette différence de sensibilité est peut-être due aux différences de structure cellulaire. Les bactéries à Gram+ sont composées d'une paroi exclusivement de peptidoglycane épais semblent être plus favorables à la pénétration des phyto-molécules qui atteindraient facilement leurs cibles intracellulaires. A l'opposé, les bactéries à Gram -, ont leur membrane externe composée des phospholipides qui interfèrerait avec les molécules et rend leur passage à travers la paroi difficile (Yala *et al.*, 2016).

III.7. Etude de l'effet protecteur des extraits sur le GRH

III.7.1. Test de cytotoxicité

À fin d'étudier la cytotoxicité des extraits des deux plantes et leurs fractions sur les globules rouges, on a suivi cette dernière par la fuite de l'hémoglobine intracellulaire des hématies humaines in vitro. On a mis les GRH en contact avec les extraits bruts méthanoliques des plantes étudiées et leurs fractions à différentes concentrations. L'évolution de l'effet hémolytique est évaluée par rapport à un témoin négatif (PBS) et un autre positif (eau distillé), les résultats obtenus sont présentés dans la figure 13.

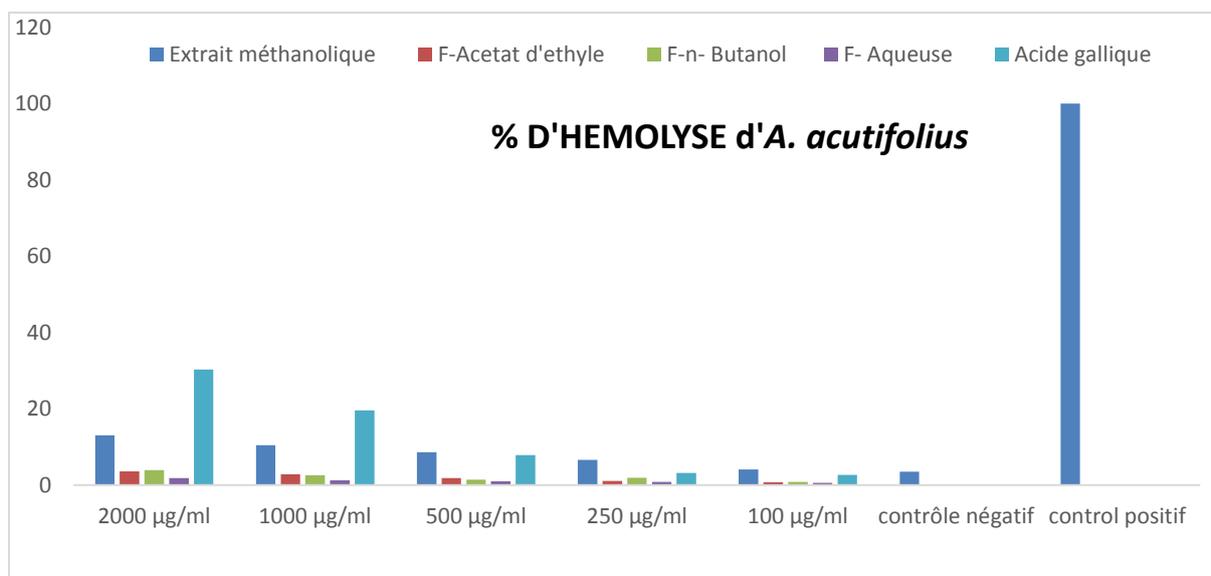
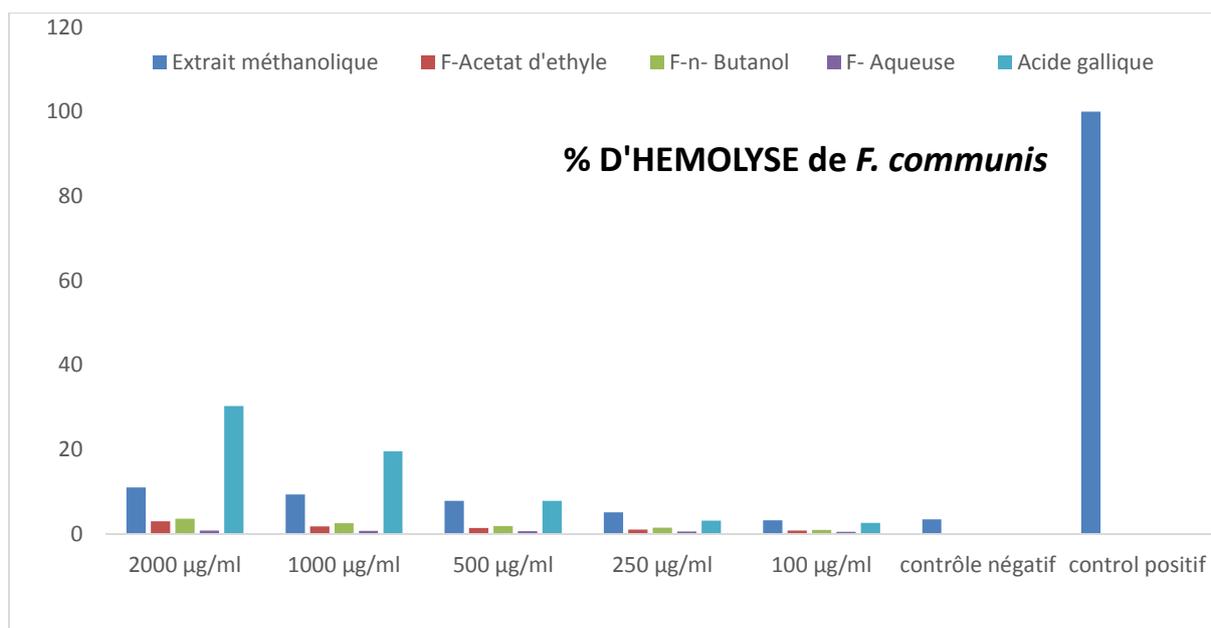


Figure 13 : Résultats du test de cytotoxicité sur les globules rouges.

Ces résultats révèlent que le traitement des globules rouges par l'acide gallique provoque une augmentation hautement significative du taux d'hémolyse, en fonction des concentrations. Cette molécule de référence présente un effet hémolytique significatif à partir de 0.025 mg/ml avec un pourcentage d'hémolyse de 07,84%. L'effet hémolytique maximum est aux alentours de 30,27% à une concentration de 2 mg/ml, il reste inférieur comparativement à l'hémolyse totale induite par l'eau distillée.

L'effet des extraits méthanoliques des deux plantes étudiées et leurs fractions sur les hématies a été évalué jusqu'à une concentration maximale de 2 mg/ml pour déterminer leur

cytotoxicité. D'après la Figure 13, il est évident que la présence des hématies en contact avec les différentes concentrations de l'extrait méthanolique et les fractions des deux plantes étudiées ne provoque qu'une hémolyse modérée, comparé à l'acide gallique. Les pourcentages d'hémolyse obtenus montrent des différences très significatives entre les extraits méthanoliques et leurs fractions ($P < 0.005$) avec les différentes concentrations et le contrôle positif. En effet les taux d'hémolyse sont très bas (entre 2 et 11%) même à des concentrations très élevées (100 $\mu\text{g/ml}$ [2%] ; 2000 $\mu\text{g/ml}$ [15%]),

Ces résultats nous montrent clairement que les extraits des plantes étudiées ainsi que leurs fractions n'avaient pratiquement aucun effet néfaste sur les globules rouges.

Ceci pourrait s'expliquer par la richesse de *Ferula communis* en acides phénoliques (Hamdi et al., 2021) et *Asparagus acutifolius* par les dérivés de l'acide p-hydroxybenzoïque, et des flavonoïdes glycosylés (quercétine, rutine ...) (Joty. A. et al., 2024), qui sont connues pour leur effet anti-hémolytique.

La glycosylation des flavonoïdes bloque leur entrée dans les cellules, d'où l'inactivité de certains extraits. En effet les flavonoïdes sont généralement cytotoxiques, mais cette efficacité dépend d'une part de leur glycolisation éventuelle et d'autre part de leur degré de méthylation (Nadour.2015).

III.7.2. Test anti-hémolytique

L'action anti-hémolytique *in vitro* de nos extraits de plantes et leurs fractions ainsi que la molécule de référence, a été évaluée par l'utilisation du modèle érythrocytaire (Shobana et Vidhya, 2016). Les globules rouges sont choisis comme modèle en biologie cellulaire et moléculaire pour l'étude de la cytotoxicité *In vitro*. Ils sont considérés comme un outil précieux pour l'étude des transports ioniques transmembranaires via la membrane érythrocytaire. Si les globules rouges (RBC) sont exposés à des substances nuisibles telles que le milieu hypotonique, la rupture de leurs membranes se produira, provoquant la libération de l'hémoglobine et d'autres composants internes dans le fluide environnant. L'effet hémolytique d'une solution hypotonique est lié à une accumulation excessive de liquide dans la cellule (Ward. A et al., 2015). Les propriétés hémolytiques d'un agent hypotonique sont attribuées à son interaction avec les stérols de la membrane érythrocytaire ce qui conduit à une augmentation de la perméabilité membranaire et un mouvement des ions : entrée de Na^+ et H_2O , sortie de K^+ , la membrane éclate, permettant ainsi la sortie de l'hémoglobine (Majester-Savornin, 1991).

Les taux de protection des cellules érythrocytaires par l'extrait méthanoliques des deux plantes et leurs fractions contre l'hémolyse ont été évalués en utilisant la densité optique (DO) pour mesurer la libération d'hémoglobine dans le surnageant. La figure 14 présente les pourcentages d'inhibition de l'hémolyse induite par un stress hypotonique en fonction des différentes concentrations des extraits méthanoliques et les différentes fractions des deux plante étudiées et l'acide gallique comme molécule de référence.

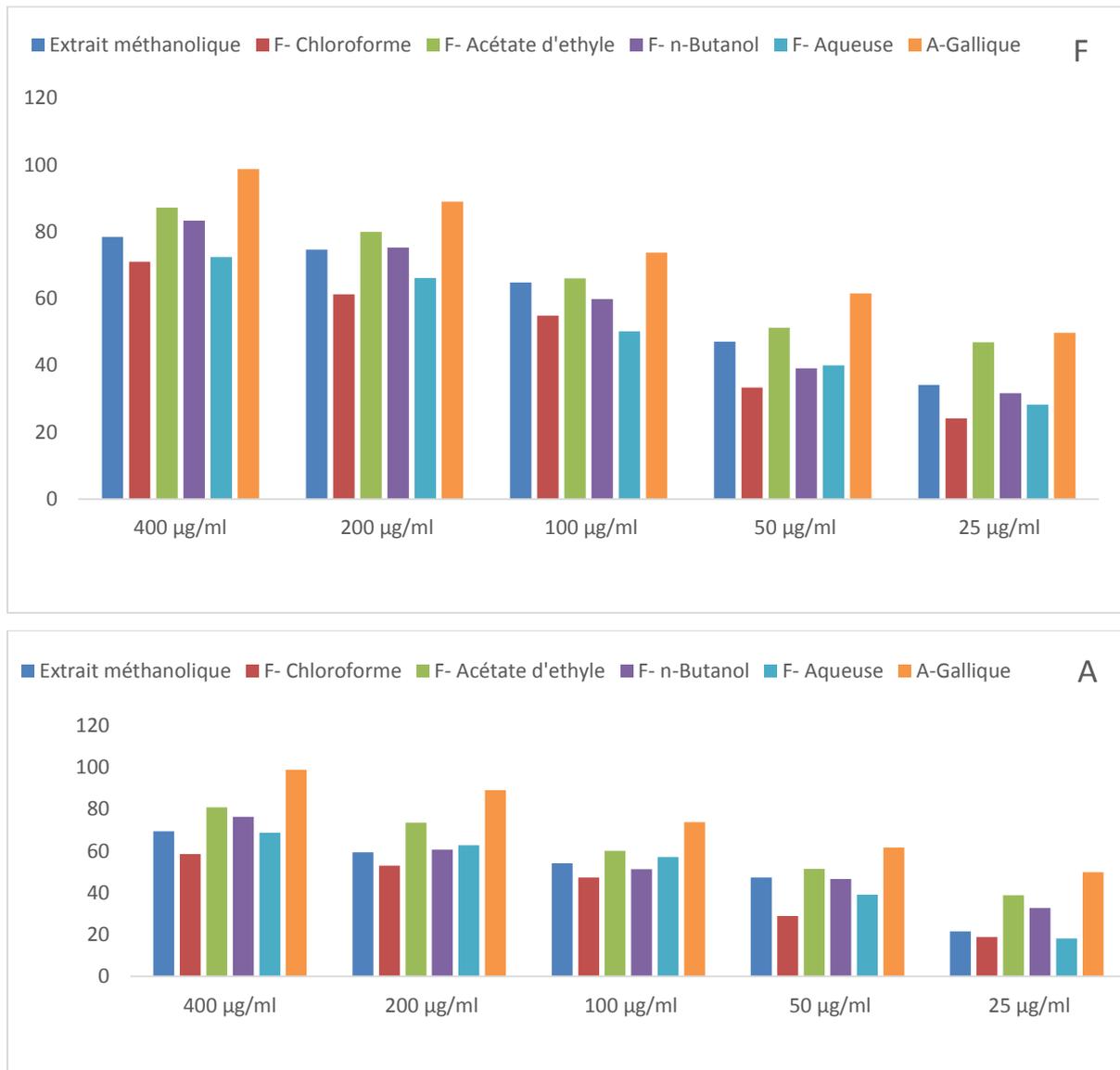


Figure14 : Taux d'inhibition d'hémolyse % (A : *A.acutifolius*, F : *Ferula*).

L'analyse statistique des résultats de l'activité anti-hémolytique induit par hypotonie associer avec la chaleur, montre des différences significatives importantes entre les extraits bruts des deux plantes étudiier et leurs fractions ($P < 0.005$). Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse augmente en fonction des différentes concentrations des extraits bruts et leurs fractions. En effet à la concentration 25 µg/ml, le taux d'inhibition

d'hémolyse le plus faible est de $(18,16 \pm 5.77\%)$ de la fraction aqueuse d'asparagus tandis que le taux maximal est de $(88,87 \pm 1.16\%)$ à la concentration 2 mg/ml, dans la fraction acétate d'éthyle. En parallèle ; des différences hautement significatives entre les pourcentages d'inhibition ont été constaté chez *Ferula* avec un maximum d'inhibition de $97,25 \pm 1.63\%$ à la concentration de 2 mg/ml de la fraction d'acétate d'éthyle et un minimum d'inhibition de $24,12 \pm 3.53\%$ à la concentration de 25 µg/ml de la fraction chloroforme.

III.8. Discussion générale l'activité anti-hémolytique

L'étude de *Ferula* par **Nabavi. S et ses collègues (2010)** sur L'hémolyse des érythrocytes du rat, effectuée avec H₂O₂ en tant qu'initiateur des radicaux libres, souligne des résultats inférieure $(77 \pm 11.4\%)$ à ceux que nous avons obtenue avec la faction Aeth . Par contre le pourcentage d'hémolyse trouvé par **Ebrahimzadeh. M et ses colegues (2011)** 52 ± 2.6) est inférieur à nos pourcentages

L'étude de *l'asparagus* réaliser par **Khorasani. A et ses associés (2010, et Esmaeili, A. K et ses collègues (2010)** sur l'essai d'hémolyse des érythrocytes du lapin ont montré une prévention d'hémolyse inférieures à nos résultats, d'ordre de $(53,19 \%, 65.2 \pm 1.36)$.

Conclusion

Depuis des siècles, les plantes médicinales sont regardées comme source majeure de produits à effets thérapeutiques comme les polyphénols et les flavonoïdes qui apportent un grand bénéfice par la prévention et le traitement de maladies.

L'objectif principal de la présente recherche est l'évaluation de l'activité antioxydante, antimicrobienne et anti-hémolytique des extraits et fractions d'*Asparagus acutifolius* et *Ferula communis* en utilisant différents solvants : méthanol, chloroforme, éther de pétrole, acétate d'éthyle et n-butanol pour la macération et le fractionnement. L'ensemble des résultats obtenus nous ont permis d'avoir une idée sur le profil phytochimique et la capacité antioxydante, antimicrobienne et anti-hémolytique d'*Asparagus acutifolius* et *Ferula communis*.

La teneur la plus importante en polyphénols totaux et en flavonoïdes a été enregistrée chez la fraction acétate d'éthyle de *ferula communis* avec un taux de 692 ± 29.38 mg EqAG/g et n-But avec 41.26 ± 1.73 mg EQ/g E, respectivement. Une relation linéaire a été établie entre l'activité antioxydante des échantillons testés et le contenu en polyphénols totaux et flavonoïdes. Les échantillons les plus riches en ces composés sont les plus actifs.

L'activité antibactérienne des extraits bruts et leurs fractions a été évaluée sur cinq bactéries et une levure par la méthode d'ensemencement sur un milieu gélosé. Les résultats montrent que les fractions Aeth et chl exècrent une activité antibactérienne vis-à-vis des différentes souches testées.

L'activité anti-hémolytique a été testée sur les hématies humaines. Différentes concentrations d'extraits bruts et leurs fractions ont été utilisées pour démontrer le pouvoir de ces dernières en matière de prévention de l'hémolyse ainsi que leur risque de cytotoxicité. La fraction Aeth montre le pouvoir anti-hémolytique le plus élevé avec des taux de ($88,87 \pm 1.16\%$ et $97,25 \pm 1.63\%$), pour les deux plantes

Les résultats de ce présent travail, montrent que les extraits Bruts et leurs fractions exercent une activité antioxydante, antimicrobienne et anti-hémolytique in vitro.

Il serait intéressant d'étayer ce travail par : l'étude d'activités antifongiques et d'approfondir les tests sur l'activité antimicrobienne (CMI et CMB).

Références bibliographiques

A

Ait yahia et zammora H. 2014. Etude de l'efft d'un sterss oxydatif et le système défensif enzymatique chez le blé dur ((Triticum durum Desf.). Université coenstantine1. p.34-44.

Ameziane Amina (2013) : recherche de l'effet hémolytique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Portulaca oleracea* .(L)

Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., et Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*, 112(2), 303-309.

Assumpta Anosike C, Ngozi Igboegwu O, Chiletugo Nwodo O F. Antioxidant properties and membrane stabilization effects of methanol extract of *Mucuna pruriens* leaves on normal and sickle erythrocytes. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*; 2019, 9 : 278-284.

Aurousseau, B. (2002)."Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *Productions Animales*, 15(1), 67-82.

B

Ba, K., E. Tine, J. Destain, N. Cissé and P. Thonart (2010). Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol agron soc environ* 14(1): 131-139.

Badeau, M. (2006). Effets d'un antioxydant, le tempol, sur les actions métaboliques et vasculaires de l'insuline chez le rat insulino-résistant avec un surplus de poids. Effets de l'insuline sur le transport du glucose dans le muscle squelettique, la réactivité vasculaire, l'expression des protéines eNOS, le stress oxydatif et les effets hémodynamiques régionaux. *Doctoral dissertation, Université Laval*.

Barcellini W, Fattizzo B. Clinical Application of hemolytic markers in the differential diagnosis and management of hemolytic anemia. *Disease Markers* ; 2015,3 : 1-7.

Bichis, M., Huber, A.R., 2000.Les maladies héréditaires de la membrane érythrocytaire : du tableau clinique aux mécanismes génétiques et moléculaires sousjacents. *Annales de biologie clinique*, 58 : 277 – 289.

Boubetra, K., Amirouche, N., & Amirouche, R. (2017). Comparative morphological and cytogenetic study of five *Asparagus* (Asparagaceae) species from Algeria including the endemic *A. altissimus* Munby. *Turkish Journal of Botany*, 41(6), 588-599.

C

Cai. Y.Z, Sun. M, Xing. J, Luo. Q, Corke. H, (2006), Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78: 2872-2888.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2015.

Camille M, Mireille S. 2011. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. Université Lyon 1, EA 41-69, Laboratoire de recherche dermatologique, pavillon R, Hôpital Édouard Herriot, 69437 Lyon Cedex 03, France. P

Chen, J. H., & Ho, C. T. (1997). Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(7), 2374-2378.

Collenette, S. (1985). Illustrated guide to the flowers of Saudi Arabia. *Scorpion*.

Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2006). Phenols, polyphenols and tannins: an overview. *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet*, 1, 1-25.

Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356.

D

Dahmani, S., Orliaguet, G.A., Meyer, P.G., Blanot, S., Renier, D., Carli, P.A., 2000. Perioperative blood salvage during surgical correction of craniosynostosis in infants. *British journal of anaesthesia*, 85(4), 550-555.

Das, K., Tiwari, R. K. S., & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of medicinal plants research*, 4(2), 104-111.

Di Maro, A., Pacifico, S., Fiorentino, A., Galasso, S., Gallicchio, M., Guida, V., ... & Parente, A. (2013). Raviscanina wild asparagus (*Asparagus acutifolius* L.): A nutritionally valuable

crop with antioxidant and antiproliferative properties. *Food research international*, 53(1), 180-188.

Dodge, J. T., Mitchell, C., & Hanahan, D. J., 1963. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Archives of biochemistry and biophysics*, 100(1), 119-130.

E

Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., & Dehpour, A. A. (2011). Antioxidant activity of hydroalcoholic extract of *Ferula gummosa* Boiss roots. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 15(6), 658-64.

Eimad dine Tarik bouhlali, Mohamed Bammou, Khalid Sellam, Mohamed Benlyas, Chakib Alem, Younes filali-Zegzouti (2016): evaluation of antioxidant, antihemolytic and antibacterial potential of six Moroccan date fruit (phoenix *dactylifera.L*)

Elgsaeter, A., Stokke, B. T., Mikkelsen, A., Branton, D., 1986. The molecular basis of erythrocyte shape. *Science*, 234(4781), 1217-1223.

Enneb H., Belkadhi A., Cheour F. et Ferchichi A. (2015). Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis L.*). *Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology*, 20(2) : 788-793.

Esmaeili, A. K., Taha, R. M., Mohajer, S., & Banisalam, B. (2016). In vitro regeneration and comparison of phenolic content, antioxidant and antityrosinase activity of in vivo and in vitro grown *Asparagus officinalis*. *Sains Malaysiana*, 45(3), 373-381.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Federici L, Loukili NH, Zimmer J, Affenberger S, Maloisel F, Andrés E. Manifestations hématologiques de la carence en vitamine B12: données personnelles et revue de la littérature. *La Revue de médecine interne* ; 2007, 28(4) : 225-231.

G

Gadamsetty, G., Maru, S., & Sarada, N. C. (2013). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant *Mimusops elengi L.* *Journal of pharmaceutical sciences and research*, 5(6), 125.

- Gamal, M. B., & Atraiki, R. A. (2015). Phytochemical constituents of *Ferula communis* plant extracts and their antimicrobial and antioxidant activity. *Lebda Medical Journal*, 1(1).
- Garde-Cerdán, T., Gutiérrez-Gamboa, G., Garde-Cerdán, T., Portu, J., Moreno-Simunovic, Y., & Martínez-Gil, A. M. (2017). Foliar nitrogen application in Cabernet Sauvignon vines: Effects on wine flavonoid and amino acid content. *Food Research International*, 96, 46-53.
- Guillaume, L., 2007. Elasticité de squelette de globules rouge humain-une étude en pince optique. *Thèse de doctorat, université de paris 4*, 17
- Guillaume, B., Chapiro, J., Stroobant, V., Colau, D., Van Holle, B., Parvizi, G., ... & Van den Eynde, B. J. (2010). Two abundant proteasome subtypes that uniquely process some antigens presented by HLA class I molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(43), 18599-18604.
- Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. and Bernigault R, (2005). Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole* ; 554-558.

H

- Habibou, H. H., Idrissa, M., Ikhiri Khalid, P., & Benjamin, O. (2019). Activité Antioxydante des extraits méthanoliques de différents organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. *Eur Sci J*, 15(12), 1857-7881.
- Habryka, C., Socha, R., & Juszczak, L. (2021). Effect of bee pollen addition on the polyphenol content, antioxidant activity, and quality parameters of honey. *Antioxidants*, 10(5), 810.
- Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1989). Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. *Journal of Chemical Ecology*, 15, 1795-1810.
- Harbone, J. B. (1973). Flavonoids as systematic markers in the angiosperms. In *Chemistry in botanical classification*, (First Ed., pp. 103–150). Netherlands: Academic Press.
- Harborne JB. (1989). Recent advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Rep.* 25 (7): 85-109.
- Howard, M.R., Hamilton, P.J., Britton, R. (2004). *Hématologie*. Ed. Elsevier. France. 118p.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.

I

Iranshahi, M. (2009)., Asili, J., Sahebkar, A., Bazzaz, B. S. F., Sharifi, S., & Iranshahi, M. (2009). Identification of essential oil components of *Ferula badrakema* fruits by GC-MS and ¹³C-NMR methods and evaluation of its antimicrobial activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12(1), 7-15.

J

Jaureguierry, S., 2015. Rétention et "pitting" splénique des globules rouges au cours d'paludisme aigu traité par dérivé de l'artémisine, *université pierre*,54

Joty, F. A., Hasan, M. M., Sohan, M. S. R., Alam, M. J., Reza, M. A., & Ferdousi, Z. Hemolytic, antioxidant, and phospholipase A2 neutralization efficacy of *Asparagus racemosus*, *Withania somnifera*, *Syzygium cumini*, *Psidium guajava*, *Basella alba*, *Morus indica*, *Morus laevigata*, and *Morus latifolia*.

K

Kaska, A., Deniz, N., & Mammadov, R. (2018). Biological activities of wild asparagus (*Asparagus acutifolius* L.). *International Journal of Secondary Metabolite*, 5(3), 243-251.

Kato, G.J., Steiberg, H.M., Gladwin, M.T. (2017). Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 127(3): 750-760.

Kasture, S., Kasture, A., Ballero, M., & Maxia, A. (2009). Antioxidant, anti-inflammatory, and adaptogenic activity of *Asparagus acutifolius* extract. *Advances in Traditional Medicine*, 9(1), 83-89.

Khorasani, A., Sani, W., Philip, K., Taha, R. M., & Rafat, A. (2010). Antioxidant and antibacterial activities of ethanolic extracts of *Asparagus officinalis* cv. Mary Washington: Comparison of in vivo and in vitro grown plant bioactivities. *African Journal of Biotechnology*, 9(49), 8460-8466.

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., & Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(3-4), 244-249.

L

Lamarck (1744-1829) Tits, D. (1930). *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique/Bulletin van de Koninklijke Belgische Botanische Vereniging*, 62(Fasc. 2), 178-181.

Liu, Y., Wang, P., Chen, F., Yuan, Y., Zhu, Y., Yan, H. & Hu, X. (2015). *Role of plant*.

Le, K., F. Chiu and K. Ng (2007). "Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*." *Food Chem.* 105(1): 353-363.

Le Couffe, N. E., Treurni et, K. M., Kappelhof, M., Jansen, I. G., Boers, M., Marquering, H. A., ... & Coutinho, J. M. (2024). Outcome of patients with multivessel occlusion stroke after endovascular treatment. *European Stroke Journal*, 9(2), 312-319. polyphenols in acrylamide formation and elimination. *Food Chemistry*, 186, 46–53.

Li, X., Xing, Y., Jiang, Y., Ding, Y., & Li, W. (2009). Antimicrobial activities of ZnO powder-coated PVC film to inactivate food pathogens. *International journal of food science & technology*, 44(11), 2161-2168.

M

M, Cowan. 4, 1999, Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 12, pp. 564–582.

Majester-Savornin, B., Elias, R., Diaz-Lanza, A. M., Balansard, G., Gasquet, M., & Delmas, F. (1991). Saponins of the ivy plant, *Hedera helix*, and their leishmanicidal activity. *Planta medica*, 57(03), 260-262.

Mannargadoo-Catin, M., Ali-Cherif, A., Pognas, J.L., Perrin, C., 2016. Hemolysis by Surfactants. *A review. Advances in colloid and interface science*, 228:1-16.

Marchand, A., Galen, R. S., Van Lente, F., 1980. The predictive value of serum haptoglobin in hemolytic disease. *Jama*, 243(19), 1909-1911

Mateus, N., Silva, A. M., Rivas-Gonzalo, J. C., Santos-Buelga, C., & De Freitas, V. (2003). A new class of blue anthocyanin-derived pigments isolated from red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7), 1919-1923.

Meddour, R. A. C. H. I. D., & El Mokni, R. I. D. H. A. (2016, June). État de l'art sur les plantes envahissantes ou à caractère invasif introduites en Algérie et en Tunisie. In *Actes de la Conférence XV OPTIMA Meeting, 6-11 juin 2016, Montpellier, France*.N

Mekhfi, H., El Haouari, M., Legssyer, A., Bnouham, M., Aziz, M., Atmani, F., ... & Ziyat, A. (2004). Platelet anti-aggregant property of some Moroccan medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 94(2-3), 317-322.

Mezzour, H., Khelifa, A.B., Neffati, F., Douki, W., Benmor., A., Najjar, M.F. (2006). Détermination de l'hémoglobine plasmatique et évaluation spectrophotométrique de l'hémolyse en biochimie clinique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 386 : 59-64

Moualek I, Iratni Aiche G, Mestar Guechaoui N, Lahcene S, Houali K. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*; 2016, 6(11): 937-944.

Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3380.

N

Nabavi, S. F., Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., & Eslami, B. (2010). Antioxidant activity of flower, stem and leaf extracts of *Ferula gummosa* Boiss. *Grasas y aceites*, 61(3), 244-250.

Nadour, M., Laroche, C., Pierre, G., Delattre, C., Moulti-Mati, F., & Michaud, P. (2015). Structural characterization and biological activities of polysaccharides from olive mill wastewater. *Applied biochemistry and biotechnology*, 177, 431-445.

Neghliz, H., & Benabdelkader, T. (2021). Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oils from Different Organs of *Ferula Communis* L. growing Wild in Algeria. *African Review of Science, Technology and Development*, 6(1), 1-9.

O

Ouarda, F., Drissa, M., Hakim, K., & Msaad, H. (2019). Fetal Persistent junctional reciprocating tachycardia: a diagnostic and a therapeutic challenge. *La Tunisie Medicale*, 97(3), 500-503.

P

Palfi, M., Jurković, Z., Ćosić, J., Tomić-Obrdalj, H., Jurković, V., Knežević, N., & Vrandečić, K. (2017). Total polyphenol content and antioxidant activity of wild and cultivated asparagus in Croatia. *Poljoprivreda*, 23(1), 56-62.

Panahi, M., Banasiak, Ł., Piwczyński, M., Puchalka, R., Kanani, M. R., Oskolski, A. A., ... & Spalik, K. (2018). Taxonomy of the traditional medicinal plant genus *Ferula* (Apiaceae) is confounded by incongruence between nuclear rDNA and plastid DNA. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 188(2), 173-189.

Pieme, C. A., Tatangmo, J. A., Simo, G., Biapa Nya, P. C., Ama Moor, V. J., Moukette Moukette, B., ... & Sobngwi, E. (2017). Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and non-enzymatic antioxidants in African patients with type 2 diabetes. *BMC Research Notes*, 10, 1-7.

Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.

Q

Quettier-Deleu, C., B. Gressier, J. Vasseur, T. Dine, C. Brunet, M. Luyckx, M. Cazin, J.-

C. Cazin, F. Bailleul and F. Trotin (2000). "Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour." *J Ethnopharmacol.* 72(1-2): 35-42.

R

Rahali, F. Z., Kefi, S., Bettaieb Rebey, I., Hamdaoui, G., Tabart, J., Kevers, C., ... & Hamrouni Sellami, I. (2019). Phytochemical composition and antioxidant activities of different aerial parts extracts of *Ferula communis* L. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 153(2), 213-221.

Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Di Febo, M., Marchegiani, D., & Di Fonzo, V. (2006). Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(2), 434-440.

Rostagno, M. A. and J. M. Prado (2013). Natural product extraction: principles and applications, R. Soc. Chem

S

Sautour, M., Miyamoto, T., & Lacaille-Dubois, M. A. (2007). Steroidal saponins from *Asparagus acutifolius*. *Phytochemistry*, 68(20), 2554-2562.

Schaer, D.J., Buehler, P.W., Alayash, A.I., Belcher, J.D. and Vercellotti, G.M., 2013. Hemolysis and free hemoglobin revisited: exploring hemoglobin and hemin scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *Blood*, 121(8), 1276-1284

Scherer, R, Godoy, H.T, (2009), Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112, 654–658.

Selvakumar, G., Saha, S., & Kundu, S. (2007). Inhibitory activity of pine needle tannin extracts on some agriculturally resourceful microbes. *Indian Journal of Microbiology*, 47, 267-270.

Shirwaikar, A., K. Rajendran and I. S. R. Punitha (2006). "In vitro antioxidant studies on the benzyl tetra isoquinoline alkaloid berberine." *Biol. Pharm. Bull.* 29(9): 1906-1910.

Shobana S, Vidhya R. Evaluation in vitro hemolytic activity of different parts of *Abutilon Indicum*(Linn). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 2016, 5 :1182-1196.

Siti, H. N., Kamisah, Y., & Kamsiah, J. J. V. P. (2015). The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascular pharmacology*, 71, 40-56.

T

Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., & El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food chemistry*, 104(4), 1372-1378.

Thaipong, K., U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallos and D. H. Byrne (2006). "Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts." *J Food Compost Anal.* 19(6-7): 669-675.

Tsao Rong, T. R., & Akhtar, M. H. (2005). Nutraceuticals and functional foods: I. Current trend in phytochemical antioxidant research.

U

Ucar, K. (2002). Clinical presentation and management of hemolytic anemias. *Oncology*. 16:163-170

Ulanowska, K., Majchrzyk, A., Moskot, M., Jakóbkiewicz-Banecka, J., & Węgrzyn, G. (2007). Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*, 62, 132-135.

V

Valente, L. M., Savolainen, V., & Vargas, P. (2010). Unparalleled rates of species diversification in Europe. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1687), 1489-1496.

Venkatachalam, U., & Muthukrishnan, S. (2012). Free radical scavenging activity of ethanolic extract of *Desmodium gangeticum*. *Journal of Acute medicine*, 2(2), 36-42.

W

Ward, A., Sivakumar, G., Kanjeechal, S., Hamm, C., Labute, B. C., Shum, D., & Hudson, J. W. (2015). The deregulated promoter methylation of the Polo-like kinases as a potential biomarker in hematological malignancies. *Leukemia & lymphoma*, 56(7), 2123-2133.

Wong, C.-C., H.-B. Li, K.-W. Cheng and F. Chen (2006). "A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay." *Food chem.* 97(4): 705-711.

Worowounga, X., Namkona, A. F., Olivia, S., Mathurin, I. M., Hermann, K. O. K., Foto, B. A. É., & Syssa-Magalé, J. L. (2022). Quantification of Total Phenolics, Flavonoids, Tannins, Anthocyanins and Antioxidant Activities of *Cola urceolata* K. Schum. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 36(3), 670-677.

Y

Yala, J. F., Mabika, R. M., Camara, B., Souza, A., Lepengue, A. N., Seydou, T., ... & Mâ, B. (2016). In vitro antibacterial activity of *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus citriodora*, *Lippia multiflora*, *Melaleuca quinquenervia* essential oils and Neco on extended-spectrum-lactamases producing or non-producing bacterial strains. *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(43), 796-804.

Yaqoob, U., & Nawchoo, I. A. (2016). Distribution and taxonomy of *Ferula* L.: A review. *Res. Rev. J. Bot*, 5(3), 15-23.

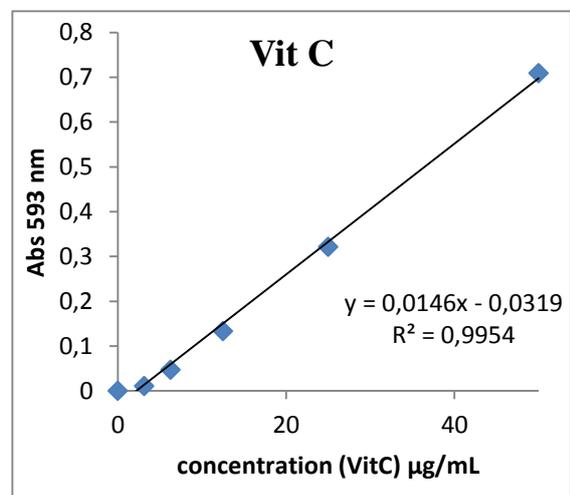
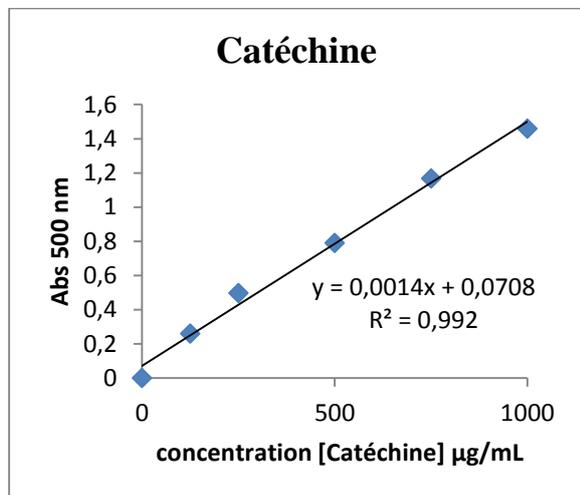
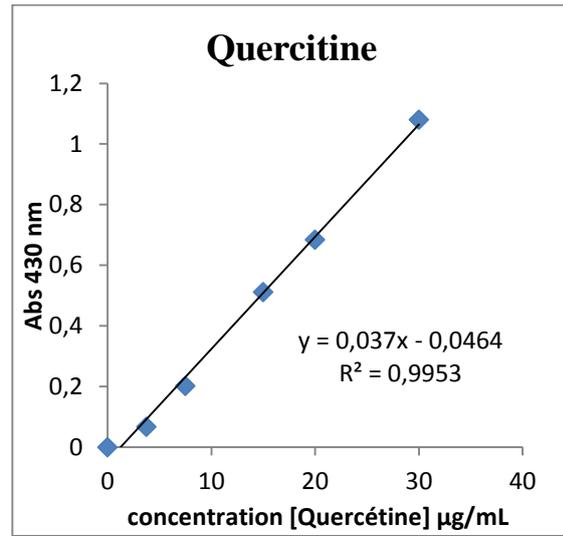
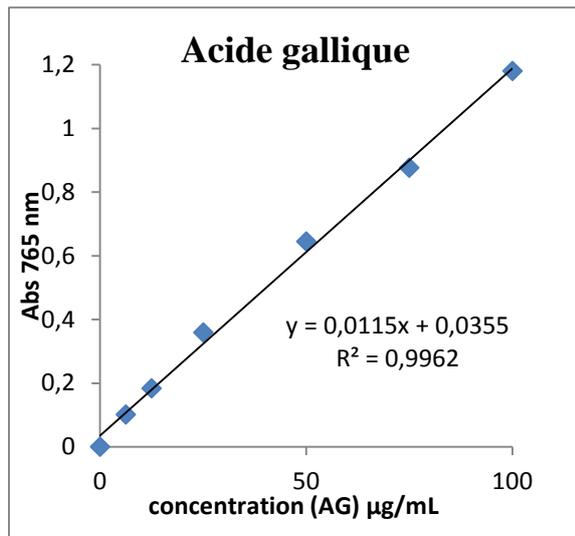
Young, I. S., & Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.

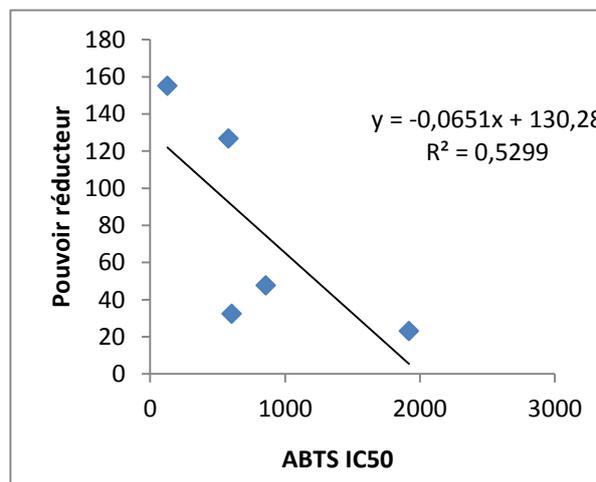
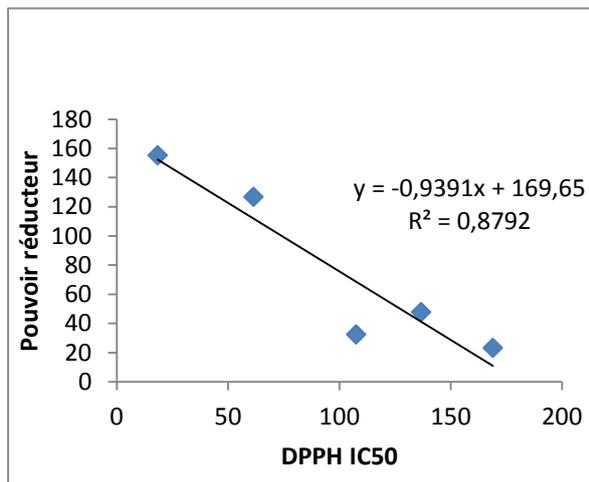
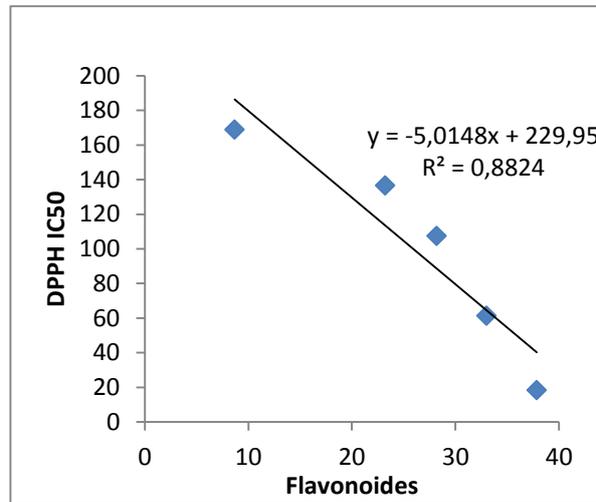
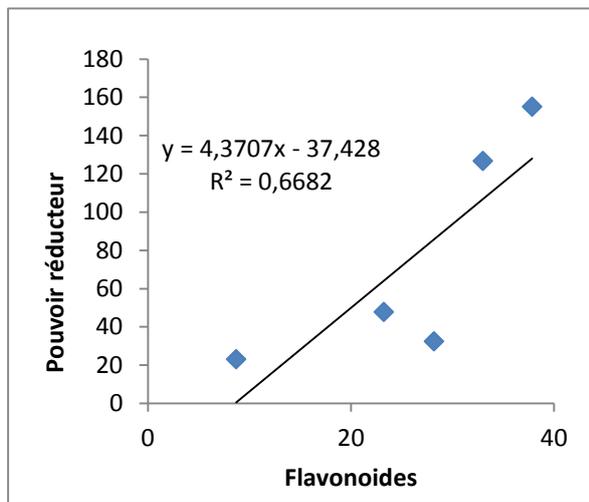
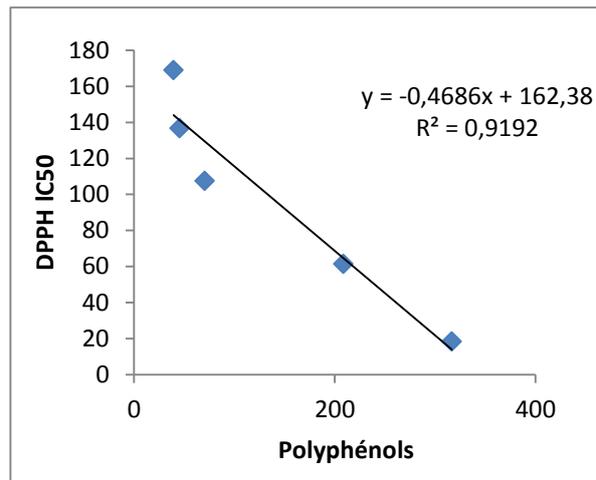
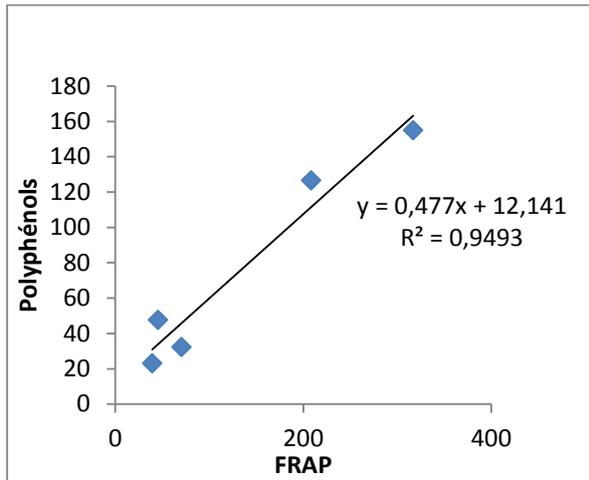
Z

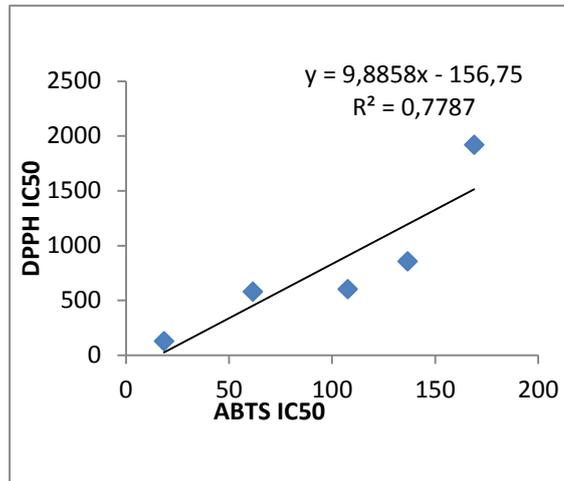
Zanella A, Barcellini W. Treatment of autoimmune hemolytic anemias. *Heamatologica*; 2014, 99(10) : 1547-1554.

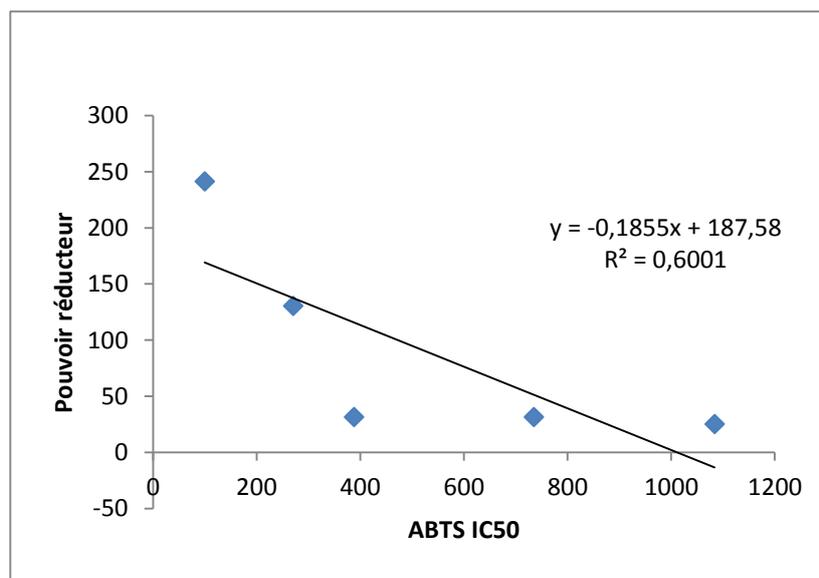
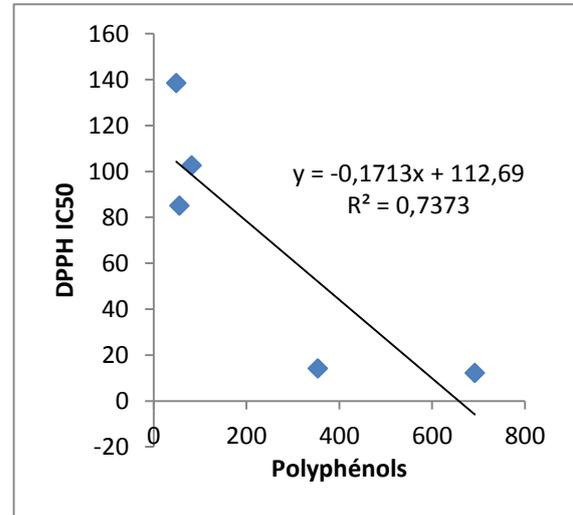
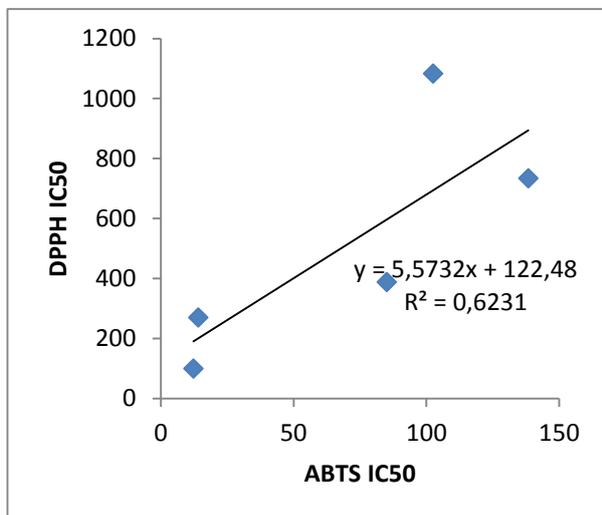
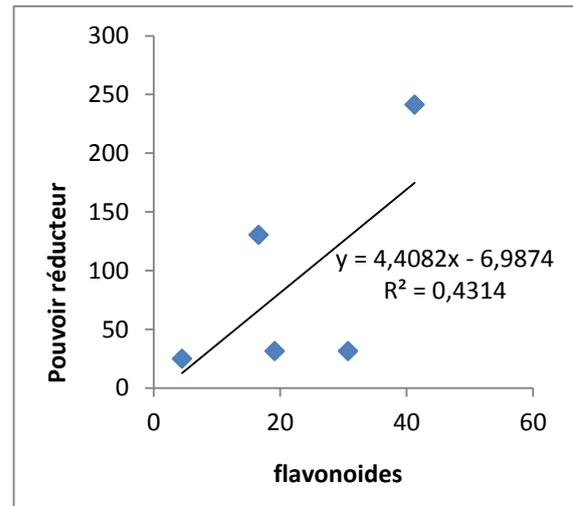
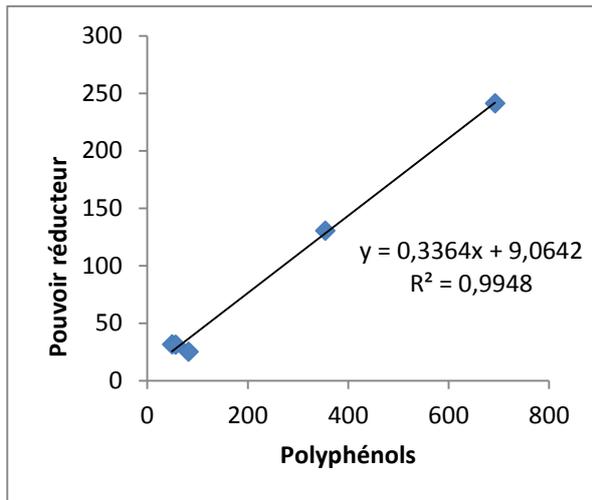
Annexes

Annexe 01 : Courbes détalonnage

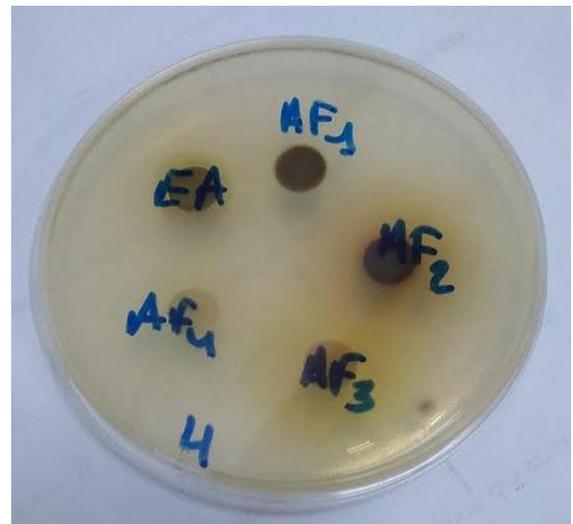
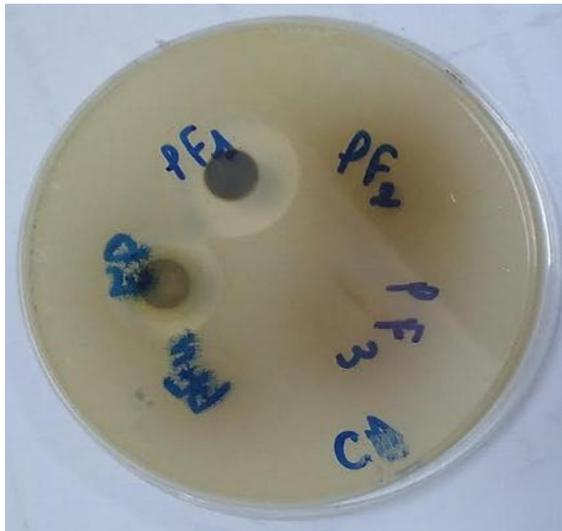
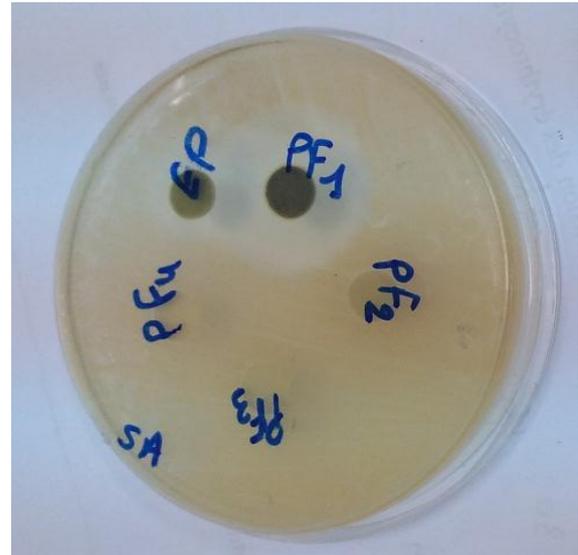


Annexes 02 : Courbes de corrélation d'*Asparagus acutifolius*



Annexe 03 : Courbe corrélation de *Ferula communis*

Annexe 04 : Résultat d'activité antimicrobienne



Annexe 05 : Les appareils, produits chimiques et milieux de cultures utilisé

Les appareils

Agitateur magnétique ; Autoclave ; Bain marie ; Balance analytique ; Bec benzène ; centrifugeuse ; Etuve ; Moulin à café ; pH mètre ; Rotavator; Spectrophotomètre; Tamis; Thermomètre et Vortex.

Produits chimiques et réactifs

ABTS ; Acétate d'éthyle ; Acide acétique ; Acide gallique ; Acide sulfurique ; BHA ; Carbonate de sodium ; Catéchine ; Chloroforme ; Chlorure d'aluminium ; Chlorure de fer ; DMSO ; DPPH ; Eau distillée ; Eau physiologique ; Ethanol ; Folin-Ciocalteu; HCL; Hexane; Méthanol; n-Butanol; PBS ; Persulfate de potassium; Quercétine; solution érythrocytaire ; solution hypo-saline, TPTZ; Vanilline et Vit C .

Milieu de culture

Bouillon Muller Hinton et Gélose Muller Hinton.

Résumé

Ce travail a consisté en l'étude des activités antioxydante, antibactérienne et anti-hémolytique des composés phénoliques de deux plantes *Asparagus acutifolius* et *Ferula communis*. L'extraction s'est faite par macération dans le méthanol. Les extraits méthanoliques issus sont fractionnés en utilisant des solvants ayant des polarités croissantes à savoir l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. La discrétisation des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés a été déterminée suivant la méthode colorimétrique au réactif du Folin-Ciocalteu, la méthode $AlCl_3$ et la méthode de vanilline-HCL, respectivement. Nous avons étudié l'activité antioxydante des extraits bruts et leurs différentes fractions avec trois méthodes ; Scavenger du radical DPPH^{*}, Scavenger du radical ABTS⁺⁺ et le test du pouvoir réducteur FRAP. L'activité antibactérienne des deux plantes a été étudiée en se fiant à la méthode de diffusion sur gélose. Les fractions Aeth et chl étaient celles qui ont manifesté une activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées avec les deux plantes. L'activité anti-hémolytique a été examinée en utilisant une solution érythrocytaire humaine, la lyse des hématies a été créée suivant un model inflammatoire. Différentes concentrations des extraits bruts d'*Asparagus* et *Ferula* ainsi que leurs fractions ont été utilisées pour évaluer la cytotoxicité et la capacité anti-hémolytique de ces dernières. Les résultats montrent une absence de cytotoxicité et un pourcentage maximal d'inhibition d'hémolyse obtenu avec la fraction Aetht des deux plantes ($88,87 \pm 1.16\%$ et $97,25 \pm 1.63\%$).

Mot clés : *Asparagus acutifolius*, *Ferula communis*, activité antioxydante, activité antibactérienne, Activité anti-hémolytique.

Abstract

The following work consisted of the study of the antioxidant, antibacterial and antihaemolytic activities of the phenolic compounds of two plants *Asparagus acutifolius* and *Ferula communis*. Extraction was done by maceration in methanol. The resulting methanolic extracts are fractionated using solvents of increasing polarities, namely petroleum ether, chloroform, ethyl acetate and n-butanol. The discretization of total polyphenols, flavonoids and condensed tannins was determined using the Folin-Ciocalteu reagent colorimetric method, the $AlCl_3$ method and the vanillin-HCL method, respectively. We studied the antioxidant activity of crude extracts and their different fractions with three methods; DPPH^{*} radical scavenging, ABTS⁺⁺ radical scavenging and the FRAP reducing power test. The antibacterial activity of the two plants was studied using the agar diffusion method. The Aeth and chl fractions were those which demonstrated antibacterial activity against the strains tested with both plants. The anti-haemolytic activity was tested using a human erythrocyte solution, the lysis of red blood cells was created following an inflammatory model. Different concentrations of crude extracts of *Asparagus* and *Ferula* as well as their fractions were used to evaluate the cytotoxicity and anti-haemolytic capacity of the latter. The results show an absence of cytotoxicity and a maximum percentage of haemolysis inhibition obtained with the Aetht fraction of both plants ($88.87 \pm 1.16\%$ and $97.25 \pm 1.63\%$).

Key words: *Asparagus acutifolius*, *Ferula communis*, antioxidant activity, antibacterial activity, Anti-haemolytic activity.

ملخص

تألف هذا العمل من دراسة الأنشطة المضادة للأكسدة والبكتيريا ومضادة لانحلال الدم للمركبات الفينولية لنباتين *Asparagus acutifolius* و *Ferula communis*. تم الاستخراج عن طريق النقع في الميثانول. يتم تجزئة مستخلصات الميثانوليك الناتجة باستخدام المذيبات ذات الاستقطاب المتزايدة وهي الإيثر النفطي والكلوروفورم وأسيئات الإيثيل والبيوتانول n. تم تحديد تقصي إجمالي البوليفينول والفلافونويد والعص المكثف باستخدام طريقة قياس الألوان الكاشفة Folin-Ciocalteu ، وطريقة AICI3 وطريقة HCL الفانيلين، على التوالي. درسنا النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الخام وكسورها المختلفة بثلاث طرق؛ • Scavenger of the radical DPPH ، Scavenger of ، FRAP اختبار الطاقة المخفضة وربطه بإجمالي محتويات البوليفينول والفلافونويد. تمت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا لكلا النباتين باستخدام طريقة انتشار الأجار. كانت كسور Aeth و N-But هي تلك التي أظهرت نشاطاً مضاداً للبكتيريا ضد السلالات التي تم اختبارها مع كلا النباتين. تم فحص النشاط المضاد لانحلال الدم باستخدام محلول كريات الدم الحمراء البشرية، وتم إنشاء تحلل خلايا الدم الحمراء باتباع نموذج التهابي. تم استخدام تركيزات مختلفة من مستخلصات خام الهليون والفيرولا وكسورها لتقييم السمية الخلوية والقدرة المضادة لانحلال الدم. تظهر النتائج عدم وجود سمية خلوية ونسبة مئوية قصوى من تثبيط انحلال الدم تم الحصول عليها مع جزء Aetht من كلا النباتين (88.87 ± 1.16% و 97.25 ± 1.63%)

الكلمات الرئيسية: *Asparagus acutifolius* ، *Ferula communis* ، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا،

نشاط مضاد لانحلال الدم