

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire.

Département : Sciences de la Nature et de la Vie.

---

### Thème : Activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Fumaria officinalis L*

---

Présenté par :

- \* Djebaihia Selma
- \* Guernine Amel
- \* Menasria Lemya

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme Abdaoui  
Examinatrice : Mme Hamdiken  
Encadreur : Mme Ayed  
Co-encadreur : Mme Merabet

(MAA) Université de Guelma  
(MCB) Université de Guelma  
(MCB) Université de Guelma  
(MAA) Université de Guelma

Jun 2019

# Remerciements

*Nos remerciements d'abord à dieu « Allah » le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toute ces années.*

*Nos chaleureux remerciements à notre encadreur Mme AYAD H. Maitre de conférence B à l'université de 08 Mai 1945 pour avoir accepté de diriger ce travail, qu'elle trouve ici, l'expression de nous profonde reconnaissance, nôtre immense gratitude et nous grand respect, Pour son savoir, ses idées, sa confiance ses encouragements*

*A Mme Merabet R. Pour avoir co-encadré et diriger ce travail avec une grande rigueur scientifique, son aide et ses conseils pertinents afin de réaliser ce travail.*

*Nos vifs remerciements pour les membres de jury à commencer par :  
Mme ABDAOUI W. Maitre assistante à l'université de 08 Mai 1945. Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond.*

*Mme HAMDIKEN M. Maitre de conférence B à l'université de 08 Mai 1945  
D'avoir accepté d'examiner ce modeste travail et de l'attribuer des remarques et des corrections très intéressantes.*

*On tient à remercier maintenant très respectueusement les techniciennes des laboratoires Ratiba, Ghania pour nous avoir soutenus durant notre période de travail ou laboratoire de l'université de Guelma ainsi qui nous ont facilité notre travail.*

*Nos vifs remerciements à tous nos professeurs de notre département de Biologie qui ont contribué à notre formation notre premier cycle d'étude jusqu'à la fin de notre cycle universitaire.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde mes chers parents qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions.*

*Je dédie aussi cette modeste réalisation à :*

*Mes chères sœurs Ahlem et Nesrine*

*A mon cher futur mari Majed pour ses encouragements permanent, et son soutien moral.*

*A mes camarades de la promotion de Master biologie moléculaire et cellulaire*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible, Merci d'être toujours là pour moi.*

***Selma***

## *Dédicace*

*Je rends grâce, à mon dieu de m'avoir donné le courage, la volonté, et la sagesse d'être patiente dans mes études.*

- *Je dédie ce travail de recherche en premier lieu à mon défunt père qui n'a pas pu aujourd'hui assister à ma soutenance mais qui a été toujours présent par son âme.*
- *Ensuite, à ma chère maman qui m'a encouragé par sa patience et ses prières.*
- *En plus, je dédie également ce mémoire à mon très cher frère Khaled qui m'a soutenu tout au long de mon parcours universitaire, grâce à ses conseils et à ses orientations.*
- *Par ailleurs, grand merci à mon fiancé Oussama qui a été là, présent pour me remonter le moral.*

*Amel*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les  
soutiens*

*Indéfectibles et sans limite de mes chers parents qui ne cessent  
de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse  
arriver à ce que je suis aujourd'hui.*

*Que dieux vous protège et que la réussite soit toujours à ma  
portée pour que je puisse vous combler de bonheur.*

*Je dédie aussi ce travail à :*

- *Mon cher mari*
- *Mon frère*
- *Ma sœur*
- *Tous mes amis, mes collègues*

*Lemya*

# Table de Matières

---

## Table de matières

**Remerciements****Liste des figures****Liste des tableaux****Abréviations**

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

### Partie 01 : Etude bibliographique

#### Chapitre I : Phytothérapie et Plantes Médicinales

I. Phytothérapie.....	2
I. Définition.....	2
II. Plante médicinale.....	2
II. Éléments actifs des plantes médicinales.....	2
II.1.1 Métabolites primaires.....	2
II.1.2 Métabolites secondaires .....	2
II.1.2.1 Alcaloïdes.....	3
II.1.2.2 Flavonoïdes.....	3
II.1.2.3 Coumarines.....	3
II.1.2.4 Tanins.....	4
II.1.2.5 Vitamines.....	4
II.1.2.6 Mucilages.....	4
II.1.2.7 Saponines (ou saponosides) .....	4
II.1.2.8 Phénols.....	5
II.1.2.9 Polysaccharides.....	5
II.2 Activités biologiques des extraits de plantes médicinales.....	5
II.2.1 Activité antioxydante.....	5
II.2.1.1 Définition des antioxydants.....	5
II.2.1.2 Antioxydants primaires.....	6
II.2.1.3 Antioxydants secondaires.....	6
II.2.2 Activité anti microbienne.....	6
II.2.2.1 Agents anti microbiens.....	6
II.2.2.2 Mode d'action des agents antimicrobiens.....	6
II.2.2.3 Types d'agents antimicrobiens.....	6

– Agents physiques.....	6
– Agents chimiques.....	7
– Agents chimio thérapeutiques.....	7
II.2.2.4 Détermination de l'activité antimicrobienne.....	7

## **Chapitre II : *Fumaria officinalis L***

I. Définition.....	8
II. Nomenclature.....	8
III. Classification .....	8
IV. Description botanique de <i>Fumaria officinalis L</i> .....	9
V. Distribution géographique et habitat.....	10
VI. Composition Chimique.....	10
VII. Applications thérapeutiques et traditionnelles .....	11
VIII. La toxicité de la fumeterre.....	11

## **Partie 02 : Matériel et méthodes d'analyses**

I. Récolte du matériel végétal.....	13
II. Screening phytochimique.....	13
II.1 Phytochimiques à la plante.....	13
a) Flavonoïdes.....	13
b) Tanins.....	14
c) Test des saponosides.....	14
d) Mise en évidence des mucilages.....	15
e) Mise en évidence des Alcaloïdes.....	15
f) Glycosides.....	15
g) Terpènes.....	15
h) Coumarines .....	15
II.2 Préparation de l'extrait éthanolique.....	15
II.3 Séparation et identification par chromatographie sur couche mince (C.C.M).....	16
III. Analyse de l'extrait méthanolique de <i>Fumaria officinalis L</i> .....	17
III.1. Dosage des polyphénols totaux.....	17
III.2. Activité à oxydante in vitro.....	17
III.2.1 L'évaluation de l'activité anti-oxydante DPPH.....	17
III.2.2 Test de peroxydation lipidique (TBA-rs).....	18



III.2.3 Test de neutralisation de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	19
III.3 Evaluation de l'activité antibactériennes.....	19
III.3.1 Souches bactériennes.....	19
III.3.2 Milieux de culture utilisés.....	20
III.3.3 Préparation de l'inoculum.....	20
III.3.4 Test du méthanol ou contrôle négatif.....	21
III.3.5 Antibiogramme ou contrôle positif.....	21
III.3.6 Méthode de diffusion en milieu gélosé ou aromatoigramme.....	22

### **Partie 03 : Résultats et discussion**

I. Résultats de l'étude phytochimique.....	23
I.1 Rendement d'extraction.....	23
I.2 Analyse phytochimique qualitative.....	23
I.2.1 Screening phytochimique.....	23
I.2.2 Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	25
I.2.3 Dosage des polyphénols.....	26
I.3 Evaluation du pouvoir oxydant.....	26
I.3.1 L'évaluation de l'activité antioxydante (DPPH) .....	26
I.3.2 Test de peroxydation lipidique (TBA-rs) .....	28
I.3.3 Test de neutralisation de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	29
II. Résultats de l'activité antibactérienne.....	30
II.1 Control négatif.....	30
II.2 Control positif.....	30
II.3 Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de <i>F. officinalis</i> L (sur les souches testées par la méthode de diffusion des disques.....	32
<b>Conclusion</b> .....	35
<b>Perspective</b> .....	36

المخلص

**Résumé**

**Abstract**

**Référence bibliographiques**

**Glossaire**

**Annexes**

## Liste des figures

Figure N°	Titre	N° page
<b>Figure 01</b>	<i>Fumaria officinalis L</i>	09
<b>Figure 02</b>	Fleurs, fruits et feuilles de <i>Fumaria officinalisL</i>	09
<b>Figure 03</b>	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.	18
<b>Figure 04</b>	Rendement de l'extraction	23
<b>Figure 05</b>	Screening phytochimique de la plante <i>Fumaria officinalis L</i>	24
<b>Figure 06</b>	Chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique	25
<b>Figure 07</b>	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'extrait méthanolique de FO et de l'acide ascorbique à différentes concentrations.	26
<b>Figure 08</b>	Valeurs des IC50 en (mg/ml) pour l'extrait méthanolique de FO et l'AA.	27
<b>Figure 09</b>	Activité anti peroxydation lipidique de l'extrait méthanolique de FO et l'acide ascorbique	28
<b>Figure 10</b>	Pourcentages de l'effet scavenging de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> par l'extrait méthanolique de FO	29
<b>Figure 11</b>	Résultats de test du méthanol	30
<b>Figure 12</b>	Antibiogramme des souches	31
<b>Figure 13</b>	Résultats de diffusion en milieu gélosé d'extrait méthanolique de FO sur les souches testées	33

## Liste des tableaux

Tableaux N°	Titre	N° page
<b>Tableaux 01</b>	Les différents noms vernaculaires de <i>Fumaria officinalis</i> L	08
<b>Tableaux 02</b>	Constituants chimiques principaux de <i>Fumaria officinalis</i> L	10
<b>Tableaux 03</b>	Diamètres critiques des antibiotiques utilisés	21
<b>Tableaux 04</b>	Rendement de l'extraction	23
<b>Tableaux 05</b>	Screening phytochimique de la plante <i>Fumaria officinalis</i> L	24
<b>Tableaux 06</b>	Distances parcourues par les taches de <i>Fumaria officinalis</i> L	25
<b>Tableaux 07</b>	Teneur des polyphénols dans l'extrait méthanolique de FO	26
<b>Tableaux 08</b>	Diamètre d'inhibition du test positif exercé sur les différentes souches en (mm)	30
<b>Tableaux 09</b>	Diamètres d'inhibition de test diffusion en milieu gélosé sur les souches testées	32

---

**Liste des abréviations**

<b>Abs</b>	absorbance
<b>ADN</b>	Acide Désoxyribose Nucléique
<b>AT</b>	Alcaloïdes Totaux.
<b>DPPH</b>	2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl
<b>MeOH</b>	Méthanol
<b>FAME</b>	Monoéthyl ester d'acide fumarique
<b>IC50</b>	Concentration Inhibitrice à 50%
<b>ERO</b>	Espèces Réactives de l'Oxygène
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	perchlorure de fer --Chlorure Ferrique
<b>HCl</b>	Acide chlorhydrique
<b>Ac<sub>2</sub>O</b>	anhydride d'acétate
<b>C.C.M</b>	chromatographie sur couche mince
<b>UV</b>	Ultra-Violet
<b>λ</b>	longueurs d'ondes
<b>nm</b>	nanomètre
<b>Rf</b>	Rapport frontal
<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub></b>	carbonate de sodium
<b>EAG</b>	équivalents d'acide gallique
<b>AH</b>	antioxydant
<b>ATCC</b>	American type culture collection
<b>TBA</b>	2-thiobabaturicacide
<b>SDS</b>	dodécylsulfate de sodium
<b>GN</b>	Gélose nutritive
<b>MH</b>	gélose de Mueller Hinton
<b>C</b>	chloramphénicol
<b>VA</b>	Vancomycine
<b>CN</b>	Gentamicine
<b>AMX</b>	Amoxicilline
<b>° C</b>	degré Celsius
<b>h</b>	Heure
<b>R</b>	Rendement
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène.
<b>ROO.</b>	Radical pyroxyde
<b>OH•</b>	Radical Hydroxyle.
<b>O•</b>	radical superoxyde
<b>SOD</b>	Super Oxyde Dismutase
<b>pH</b>	Potentiel d'Hydrogène
<b>PS</b>	Poids Sec
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Acide Sulfurique.
<b>NaOH</b>	hydroxyde de sodium
<b>KCL</b>	Chlorure de potassium
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	Chlorure de mercure
<b>NH<sub>4</sub>OH</b>	Hydroxyde d'ammonium
<b>KI</b>	iodure de potassium

<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la santé
<b><math>m_0</math></b>	masse initiale
<b>m</b>	masse
<b>FO</b>	<i>Fumaria officinalis L</i>

# Introduction

## Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales sont considérées comme une source majoritaire des produits utilisés en thérapeutique. De nos jours, le traitement par les plantes est reconnu pour sa facilité d'utilisation et son efficacité, et a tendance de plus en plus à se développer pour rechercher des molécules actives d'origine naturelle à causes des effets indésirables des produits chimiques synthétiques.

Les plantes ont constitué depuis toujours la source majeure de médicaments grâce à leur richesse en métabolites secondaires. Cependant, l'Homme n'a découvert leurs vertus bénéfiques que par une approche progressive (Fouché *et al.*, 2000).

Les métabolites secondaires qui constituent ces plantes sont responsables de leurs effets, il s'agit : des composés phénoliques, des huiles essentielles, des alcaloïdes qui ont un effet inhibiteur sur les enzymes. Ces composés possèdent une capacité anti-oxydante très importante et peuvent contribuer à une diminution du stress oxydatif (Koyama *et al.*, 1999).

Les plantes du genre « *Fumaria* » sont très répandues dans notre région, leur utilisation dans la médecine traditionnelle couvre plusieurs pathologies. Ces plantes sont connues pour leurs multiples activités biologiques : anti-inflammatoires, antimicrobiennes, diurétique. Elles contribuent également à dissiper les troubles liés à une digestion difficile, leur effet calmant est utile en cas de nausées (Iwasa *et al.* 2000 ; Iwasa *et al.*, 2001).

Le stress oxydatif et les moyens de le combattre, constituent un axe de recherche d'actualité. Dans cette optique l'étude et la recherche de substances antioxydantes d'origine végétale est d'un intérêt majeur.

Ce manuscrit est structuré en deux grandes parties. La première est une synthèse bibliographique composée de deux chapitres, la première traite : la phytothérapie et les plantes médicinales, et le deuxième est focalisé sur la plante étudiée : *Fumaria officinalis* L.

La deuxième partie est consacrée pour : matériels et méthodes d'analyses ainsi que les résultats obtenus et leur discussion et la conclusion.

Notre travail a pour objectif l'évaluation du pouvoir antioxydant in vitro de l'extrait méthanolique de *Fumaria officinalis* L vis-à-vis le radical DPPH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, et le MDA (TBARS). Ainsi la détermination de l'activité antibactérienne sur les souches : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

**Partie 01 :**

**Etude bibliographique**



**Chapitre I :**

**Phytothérapie et Plantes**

**Médicinales**

## I. Phytothérapie

### I.1 Définition

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecs : phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement". Elle peut donc être défini comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe. Depuis 1987, la phytothérapie est reconnue à part entière par l'Académie de médecine Il est important de ne pas confondre cette discipline avec la phytopharmacie qui, quant à elle, désigne l'ensemble des substances utilisées pour traiter les plantes, à savoir les pesticides, fongicides, herbicides, ou encore insecticides (**Chabrier, 2010**).

## II. Plante médicinale

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française comme une « drogue végétale : ce sont tous les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (**Sofowora, 2010**). Elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (**Chabrier, 2010**), Elle est utilisée de différentes manières (décoction, macération, infusion, etc.)

L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments.

### II.1 Éléments actifs des plantes médicinales

#### II.1.1 Métabolites primaires

Se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie, ils sont classés en quatre grandes familles, à savoir, **les glucides, les lipides, les acides aminés (Protéines) et les acides nucléiques**. Ils sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme (**Diallo, 2005**).

#### II.1.2 Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des produits à structure chimique souvent complexe, on recense plusieurs milliers de métabolites (au moins 30000 structures caractérisées) et sont classés selon leur appartenance chimique (**Judd et al., 2002**). Donc les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des

plantes mais plutôt intervenaient dans des relations avec les stress biotique et abiotique ou améliorent l'efficacité de la reproduction (**Leurent, 2012**). On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre.

Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue : les **polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Bruneton, 1999., Zenk et Juenger, 2007)**

#### **II.1.2.1 Alcaloïdes**

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (**Guignard, 1994**). Ils ont des structures très diverses et dérivent de différents acides aminés ou de l'acide mévalonique en passant par différentes voies biosynthétiques (**Judd et al, 2002**), ils sont détectés par des réactions de précipitation (capacité de se combiner avec des métaux), représentant un groupe fascinant de produits naturels. Les alcaloïdes sont utilisés comme anti cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (**Iserin et al., 2007**). On les retrouve dans toutes les plantes vasculaires, dans divers organes : racine, tiges, feuilles et fruits (**Bruneton, 1999**).

#### **II.1.2.2 Flavonoïdes**

Les flavonoïdes constituent chez les plantes un groupe très diversifié de métabolites secondaires qui se produisent naturellement sous leurs formes conjuguées (**Macejstobiechi, 2000**). Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils sont des composés phénoliques et interviennent pour protéger les plantes des herbivores et contrôler les transports des auxines (**Judd et al., 2002**).

Les flavonoïdes hétérosidiques sont hydrosolubles et solubles dans les alcools. Les flavonoïdes lipophiliques des tissus superficiels des feuilles sont solubles dans les solvants polaires et dans les solvants moyennement polaires (comme par exemple le dichlorométhane) (**Bruneton, 1999**).

#### **II.1.2.3 Coumarines**

Les coumarines sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal (**Benayache, 2005**). Elles sont de différents types et se trouvent dans de nombreuses espèces végétales. Elles possèdent des propriétés très diverses et existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau (**Bruneton, 1999**).

#### **II.1.2.4 Tanins :**

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (**Eberhard et al., 2005**). Les tannins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Ce sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (**Alkurd et al., 2008**). Ayant la propriété de tanner la peau c'est-à-dire de la rendre imputrescible (l'empêche de pourrir), composés solubles dans l'eau (**Sweeney et al., 2001**).

#### **II.1.2.5 Vitamines**

Bien qu'elles soient souvent négligées, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines (**Iserin, 2001**). Le citronnier notamment (Citrus limon) contient des doses élevées de vitamine C et la carotte (Daucus carota) est riche en bêta-carotène (provitamine A). Le cresson de fontaine (Nasturtium officinale) par exemple, contient des doses élevées de vitamines B1, B2, C et E et de bêta-carotène tandis que l'argousier (Hippophae rhamnoides) peut être considéré comme un complément vitaminique et minéral en tant que tel (**Eberhard et al., 2005**).

#### **II.1.2.6 Mucilages**

Les mucilages des plantes médicinales ont une structure chimique variée, mais contiennent toujours des molécules de glucose qui se combinent à des acides végétaux ou à d'autres substances. Ils sont tous en mesure d'absorber de grandes quantités d'eau, ce qui les fait gonfler. Les plantes médicinales à mucilages sont utilisées contre la constipation, mais également pour apaiser les muqueuses enflammées de la bouche et de la gorge (**Wolfgang, 2008**).

#### **II.1.2.7 Saponines (ou saponosides)**

Le terme saponoside est dérivé de la saponaire (saponaria) qui était jadis utilisée comme substitut du savon, ils ont un goût amer et acre (**Hopkins, 2003**) Ils sont des glycosides à poids moléculaire élevé, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules triterpéniques ou stéroïdes. Les saponosides ont également une action veinotrope et même des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et anti-œdémateuses ce qui justifier leur emploi dans les manifestations de l'insuffisance veineuse,

le traitement des signes fonctionnels de la crise hémorroïdaire et dans les troubles de la fragilité capillaire (Catier et Roux, 2007).

#### II.1.2.8 Phénols

Petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être également estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ayant tendance à s'isomériser et à se polymériser, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires. Ce sont surtout des antiseptiques (arbutoside de la busserole), des antalgiques (dérivés salicylés de la reine des prés et du saule) et des anti-inflammatoires (Garnero, 2000). On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages.

#### II.1.2.9 Polysaccharides

Ce sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble que l'on trouve dans toutes les plantes. Du point de vue de la phytothérapie, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages « visqueux » et les gommés, présents dans les racines, les feuilles et les graines (Iserin, 2001). Le mucilage et la gomme absorbent de grandes quantités d'eau, produisant ainsi une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés (par exemple quand la peau est sèche et irritée ou la paroi des intestins est enflammée et douloureuse). Certains polysaccharides, comme les glucomannanes et les pectines, sont utilisés en cosmétologie (Eberhard *et al.*, 2005).

### II.2 Activités biologiques des extraits de plantes médicinales

#### II.2.1 Activité antioxydante

##### II.2.1.1 Définition des antioxydants

Les antioxydants sont des composés très divers qui regroupent des protéines à activité enzymatique (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) et non enzymatique (séquestrant des métaux) et des petites molécules liposolubles (vitamine E,  $\beta$ -carotène) ou hydrosolubles (vitamine C, acide urique) se sont Toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat (Halliwell, 1999).

L'organisme est capable, dans certaines mesures, de limiter les dommages dus aux radicaux libres, grâce à des mécanismes de défense développés au cours de l'évolution. (Marfak, 2003 ; Hennebelle, 2006)

### **II.2.1.2 Antioxydants primaires**

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate). (Favier, 2006)

### **II.2.1.3 Antioxydants secondaires**

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes. (Dacosta, 2003)

## **II.2.2 Activité anti microbienne**

### **II.2.2.1 Agents anti microbiens**

On désigne par agent antimicrobien tout agent chimique, physique ou biologique empêchant la croissance et/ou la survie des micro-organismes. (Asada *et al.*, 1998) Ces substances ayant une attirance pour les cellules des parasites et le pouvoir de les tuer plus fort que les dommages qu'elles causent à l'organisme ; ce qui rendra possible la destruction des parasites sans perturbation sérieuse de l'organisme. (Perry *et al.*, 2002)

### **II.2.2.2 Mode d'action des agents antimicrobiens**

Les agents antimicrobiens agissent par différents mécanismes et peuvent être utilisés de diverses manières, selon les objectifs recherchés et leur spécificité d'action qui peut être germicide ou germistatique.

### **II.2.2.3 Types d'agents antimicrobiens**

Il existe trois types d'agents antimicrobiens : physiques, chimiques et chimio thérapeutiques.

#### **– Agents physiques**

De nombreux agents physiques exercent un effet antagoniste vis-à-vis des microorganismes. La chaleur ou certains types de radiations ont une action létale qui permet leur emploi dans la stérilisation de différents milieux. D'autres agents moins agressifs, comme la dessiccation limitée sont utilisés à d'autres fins. Les principaux agents physiques sont la chaleur (humide ou sèche), les radiations (micro-ondes, rayons ultraviolets, rayons gamma, rayons bêta, rayons alpha ; rayons X). Chaque type de radiation a une longueur

d'onde spécifique qui détermine son énergie, son mécanisme d'action et son domaine d'application. **(Bousseboua, 2006)**

– **Agents chimiques**

Ils correspondent aux substances utilisées comme désinfectants et antiseptiques. Les Désinfectants sont des agents antimicrobiens utilisés sur les matériaux inertes ; leur action est létale ou inhibitrice de la croissance microbienne. Les antiseptiques ont la même nature chimique que les désinfectants mais leur toxicité plus réduite permet leur emploi sur les tissus vivants. Les désinfectants et antiseptiques les plus largement employés sont les alcools, les composés phénoliques qui agissent par dénaturation des protéines et altération des membranes cellulaires, les aldéhydes, les halogènes et les détergents. **(Bousseboua, 2006)**

L'aldéhyde le plus commun est le formaldéhyde, souvent commercialisé en solution à 40% (Formol). Les halogènes sont des composés dérivés du chlore, du brome et de l'iode : hypochlorites et chloramines, hypobromites, iodures, qui ont une action bactéricide par l'oxydation dénaturante des protéines et d'autres composés cellulaires. Les détergents enfin, ont la propriété de solubiliser les résidus normalement peu solubles. Seuls les détergents cationiques sont des désinfectants efficaces. **(Guiraud, 1998)**

– **Agents chimio thérapeutiques**

Un agent chimio thérapeutique est un composé chimique ou de synthèse qui inhibe le Développement des microorganismes. Ce composé agit à faibles doses, il exerce une action très spécifique sur le fonctionnement cellulaire tout en ayant une toxicité sélective. Il inhibe le développement de sa cible ou la tue tout en étant inoffensif pour l'hôte. Dans ce groupe, on retrouve les antibiotiques, les antifongiques et les antiviraux. **(Guillaume, 2000)**

#### **II.2.2.4 Détermination de l'activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne est déterminée par plusieurs tests : le germe-test, mesure des doses actives ; porte-germes ; doses minimales inhibitrices et bactéricides (CMI et CMB).

## **Chapitre II :**

*Fumaria officinalis L*



## I. Définition

La fumeterre (*Fumaria officinalis* L) est une plante annuelle faisant partie de la famille des Papavéracées, envahissante, elle colonise les champs de céréales, les potagers, les grandes cultures, mais aussi les friches, les décombres, les tas de fumiers ou les prairies (1). Originnaire d'Europe et d'Afrique du Nord, la fumeterre pousse en Asie, en Amérique du Nord et en Australie (Iserin *et al.*,2001).

## II. Nomenclature

L'origine du nom vernaculaire est sujette à discussion « Fumeterre » vient du latin « Fumusterrae » car la plante semble sortir de terre comme une fumée à cause de son feuillage grisâtre léger et vaporeux. Une autre interprétation veut que le suc de la plante fasse pleurer les yeux comme de la fumée ce qui explique aussi son nom d'herbe à la veuve. Son autre nom de « fiel de terre » lui vient de son amertume (1).

**Tableau N°01** : Différents noms vernaculaires de *Fumaria officinalis*L. (Goetz *et al.*, 2009)

langues	Noms vernaculaires
Français	Fumeterre, herbe à la veuve, fiel de terre, herbe à la jaunisse
Anglais	Fumatory, common fumitory
Kabyle	Zalamit ou Tijujar yesghi
Arabe	Chick al kanoune, Lewliya, Ourag el nssa
Espagnol	Fumaria oficinal, Sangre de Cristo, fundeterra, palomilla
Italien	Fumaria comune, Feccia, Fumosterno

## III. Classification

La position du genre *Fumaria* dans les systèmes de classifications de Cronquist et Takhtajan est donnée comme suit (Goetz *et al.*, 2009) :

- Règne : Plantae (plantes)
- Sous-règne : Tracheobionta (plantes vasculaires)
- Super division : Spermatophyta (plantes à graines)
- Division : Magnoliophyta (plantes à fleurs)
- Classe : Magnoliopsida (dicotylédones)
- Sous classe : Magnoliidae
- Ordre : Papaverales
- Famille : Fumariaceae
- Genre : *Fumaria* L
- Espèce : *Fumaria officinalis* L

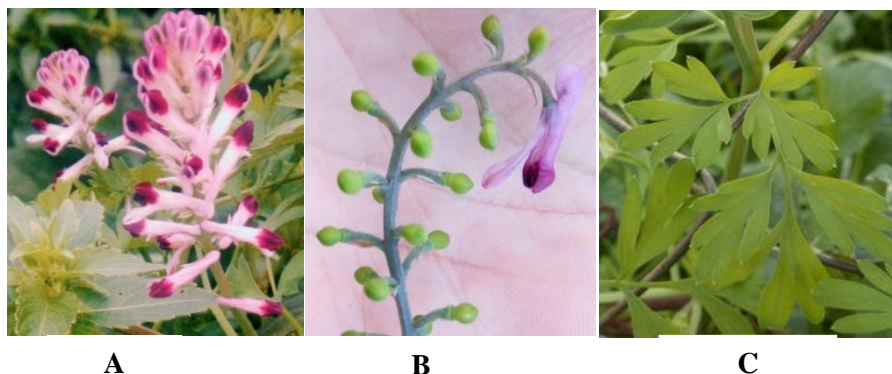


**Figure N°01 : *Fumaria officinalis* L (prise personnelle ; 2019)**

#### IV. Description botanique de *Fumaria officinalis* L

*Fumaria officinalis* L est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle, dressée ou diffuse, rarement grimpante, elle présente :

- **Tige** : dressée de 30 à 70 cm, fortement rameuse (Goetz *et al.*, 2009) ;
- **Feuilles** : tenues alternes, très découpées de couleur verte pale cendré ou glauque, ayant l'aspect de feuilles de coriandre di ou tri pennatiséquées à segments étroits (Bayer *et al.*, 2005) ;
- **Fruits** : petites capsules ovoïdes, mures plus large que long, tronqués, engrainés au sommet (Couplan, 2007) ;
- **Fleurs** : purpurines ou rosées, très irrégulières, sont disposées en grappes assez lâches ou denses sur la partie terminale de la tige, le pétale supérieur prolonge en éperon. Les sépales sont ovales-lancéolés irrégulièrement dentés (Goetz *et al.*, 2009).



**Figure N°02 : A ; Fleurs, B ; fruits et C ; feuilles de *Fumaria officinalis* L (prise personnelle ; 2019)**

## V. Distribution géographique et habitat

*Fumaria officinalis* L est ré pondue en Europe, en Afrique du nord et en Asie. Elle est fréquente au bord des chemins et des terres non cultivées, le long des vieux murs, les champs, les jardins et dans des basses et moyennes montagnes (Beloued, 2009 ; Debuigne et Couplan, 2009).

## VI. Composition Chimique

La fumeterre est composée de plusieurs constituants chimiques parmi ces composés on trouve les alcaloïdes, qui confère à la plante ces vertus thérapeutiques (Goetz *et al.*, 2009). Les principaux constituants chimiques sont résumés dans le **tableau N°02**.

**Tableau N° 02** : constituants chimiques principaux de *Fumaria officinalis* L (Goetz *et al.*, 2009).

Familles de Constituants chimiques	Constituants chimiques
<b>Alcaloïdes</b>	<p><b>Dérivés de l'isoquinoléine</b> : (0,3-1%) protopine (fumarine 0,13%), cryptopine.</p> <p><b>Protoberberines</b> : aurotensine, stylopine, sinactineet N-methylsinactine</p> <p><b>Dérivés de type spirobenzylisoquinoleine</b> : fumaricine, fumaritine, fumariline</p> <p><b>Dérivés de type benzophénanthridine</b> : sanguinarine.</p> <p><b>Dérivés de type indénobenzazépine</b> : fumaritridine, fumaritrine, etc.</p>
<b>Hétérosides flavoniques</b>	Hétérosides de la quercétine : isoquercitrine, rutine (= rutoside) et le quercitrine-3,7-diglucoside-3-arabinoglucoside.
<b>Acides phénols</b>	Acides caféique, chlorogéniqueet fumarique. Esters maliques de l'acide Cinnamique et de l'acide caféique.
<b>Acides organiques</b>	Acides maliques, éritique, succinique, lactique, glycolique
<b>Autres</b>	Principes amers, mucilage, résine, sels de potassium

## VII. Applications thérapeutiques et traditionnelles

*Fumaria officinalis* L joue un rôle important dans la médecine traditionnelle, elle a été employé pendant des siècles dans plusieurs pays pour le traitement des éruptions cutanées, des conjonctivites, les eczémas chroniques, rhumatismes, hypertension, les infections. Les maladies du foie et de la rate, c'est un régulateur hépatovésiculaire, la fumeterre a également été utilisée, pour faciliter les fonctions d'élimination urinaire et digestive, comme cholérétique ou cholagogue (Sturm *et al.*, 2005).

De nos jours, cette herbe est un composant de plusieurs produits phytopharmaceutiques, elle est présente dans 13 préparations répertoriées dans le dictionnaire *Vidal*, elle est réputée, pour avoir un tropisme particulier pour les voies biliaires, elle est proposée dans les pathologies fonctionnelles du tractus biliaire et de l'appareil gastro-intestinale. La plante est apéritive, antiscorbutique, vermifuge, (Goetz *et al.*, 2009). Elle s'indique utilement dans les états scrofuleux, l'aménorrhée, la dysménorrhée (Lieutaghi, 2019). L'activité biologique du *Fumaria* est la plupart du temps associée à la présence des alcaloïdes d'isoquinoléine (Tuğçe, 2009).

## VIII. La toxicité de la fumeterre

De nombreuses études qui s'inscrivent dans ce cadre ont démontrées la toxicité de la fumeterre à des doses élevées :

- ✚ **Hohenegger** et ces collaborateurs en **1989** ont étudié les actions néphrotoxiques des doses élevées administrées par voie orale de (FAME) : monoéthyl ester d'acide fumarique (phyto-médicament à base de fumeterre) chez le rat, 50 mg de cette substance a produit les lésions morphologiques des glomérules sans réduire le taux de filtrage glomérulaire (GFR). Après 100 mg, les lésions étaient plus prononcées et GFR a été diminué aux environ de 40%. **Tuğçe** a démontré en **2009** que l'extrait de n-hexane de *Fumaria officinalis* L possède une activité cytotoxique contre la crevette de saumure avec une concentration létale IC50 < 1000mg/kg. L'extrait de l'eau ne montre aucune activité cytotoxique.
- ✚ Dans l'étude de la toxicité aiguë réalisée par **Uday** en **2014**, l'extrait éthanolique des feuilles de *Fumaria officinalis* L s'est avéré toxique (2/3 de souris mortes) à une dose de 2000 mg/kg, administré par voie intrapéritonéale. Par conséquent, la valeur de DL50 de cet extrait a été fixée à 2000 mg/kg de poids corporel.

✚ **Lambert** en **2001** a rapporté une étude montrant le déclenchement d'une hypovolémie et d'une hypotension et difficulté à contrôler l'hypertension l'or d'utilisation de fumeterre associé à un hypertenseur.

**Partie 02 :**

**Matériel et Méthodes**

**D'analyse**

## I. Matériel végétal

Le matériel végétal choisi pour la réalisation de cette étude est : la partie aérienne de *Fumaria officinalis* L qui appartient à la famille des Fumariaceae, leur taxonomie et toutes les données relatives à ce espèce cibles ont été détaillées précédemment.

Les échantillons (tiges, feuilles et fleurs) de *Fumaria officinalis* L sont récoltés le mois de Février 2019, au niveau de la commune de Boumahra Ahmed-wilaya de Guelma.

Le séchage est fait à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité afin d'éviter la dégradation des principes actifs et le développement des moisissures. Après séchage, un broyage est réalisé à fin d'obtenir une poudre fine.

## II. Phytochimiques à la plante

### II.1 Screening phytochimique

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer la présence ou non de différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Neuf composants sont mis en évidence selon la disponibilité des produits au laboratoire pédagogique de biochimie (Université 08 mai 1945.Guelma).

#### a) Flavonoïdes

##### a.1) Extraction

Les flavonoïdes sont extractibles par l'alcool ou par l'eau chaude ; ils sont peu solubles dans l'eau froide. Trois grammes de la poudre sont ajoutés à 75ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition pendant 15 minutes. Puis il est filtré et laissé refroidir (**Mbodj, 2003**).

#### Réactions générales de caractérisation des flavonoïdes :

- Coloration en milieu alcalin

En milieu alcalin, les flavonoïdes se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun. A 2 ml de l'extrait, sont additionné quelques gouttes de soude dans un tube à essai (**Mbodj, 2003**). L'apparition de la couleur jaune orangé indique la présence des flavonoïdes

- Coloration par le perchlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ )

Les flavonoïdes, du fait de la présence de fonctions phénoliques dans leur génies, donnent des colorations variées avec des diluées de  $\text{FeCl}_3$ . A 2 ml de solution extractive il est ajouté 2 à 3 gouttes d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  (2%). L'apparition d'une coloration verdâtre, indique que le test est positif (**Mbodj,2003**).

**b) Tanins****b.1) Extraction**

5g de poudre sont dispersés dans 100ml d'eau bouillante. Après un quart d'heure, L'infusion est filtrée et le volume est complète a 100 ml avec l'eau distillée.

**b.2) Caractérisation par le chlorure ferrique**

A 5ml de filtrat sont ajoute quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) à 2%, puis agiter le mélange agité ,l'apparition de la couleur brun-vert révèle la présence de tanin. (**Karumi et al., 2004**)

**b.3) Différenciation des tanins****\* Tanins catéchiqes**

A 5ml de solution, sont additionnées 5ml d'HCl concentré. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15mn puis filtré. Il est formé un précipité rouge en présence de tanins.

**\* Tanins Galliques (Réaction de Stiasny)**

A 30 ml de solution, sont ajoutés 15 ml de réactif de Stiasny (10ml de formol à 40% et 5ml d'HCl concentré), le mélange est chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 mn. Après filtration, le filtrat est saturé par 5g d'acétate de sodium. Puis 1 ml d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  à 1 % sont additionnés goutte à goutte. L'obtention d'une teinte bleue noire montre la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny. (**Edeoga1 et al., 2005**).

**c) Test des Saponosides**

2 g de poudre de la plante sont mélangés à 80 ml d'eau distillée l'ensemble est porté à l'ébullition pendant 5 minutes. Après filtration, le filtrat est refroidi et agité vigoureusement pendant 2 minutes. La formation d'une mousse plus ou moins importante indique la présence des saponosides (**Benzahi et al., 2001**).

**d) Mise en évidence des mucilages**

1 ml du décocté à 10 % sont introduits dans un tube à essais à 5 ml d'éthanol absolu. Après quelques minutes, la formation d'un précipité floconneux dans le mélange, indique la présence de mucilages (**Karumi et al., 2004**).

**e) Mise en évidence des Alcaloïdes**

5g de la poudre sont mélangés à 15 ml d'HCl dilué à 1% après une demi-heure de macération, le mélange est filtré. Au filtrat obtenu, il est additionnée quelques gouttes de réactif de Mayer



(5g de KI + 1,358g de HgCl<sub>2</sub> solubilisés dans 100 ml d'eau distillée). L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes. (**Dohou *et al.*, 2003**)

#### **f) Glycosides**

5g de la poudre de la plante sont ajoutés 50 ml d'une solution d'acide tartrique à (2 %), le mélange est chauffé durant 2 h, après filtration et lavage par l'éthanol, le résidu est solubilisé dans l'eau chaude. Dans un tube à essai, à 2 ml du filtrat il est ajouté 2 gouttes de la liqueur de Fehling, après chauffage, la réduction de la liqueur de Fehling montre la présence des glycosides (**Chaouch, 2001**).

#### **g) Terpènes**

5g de la poudre de la plante, sont dispersés dans 20 ml de chloroforme. Après filtration la solution obtenue est répartie entre deux tubes à essais (l'un servira de référence). Il est ajouté l'anhydride d'acétate (Ac<sub>2</sub>O) ; ensuite il est ajouté 1ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La formation d'un anneau rouge brunâtre dans la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette de la couche surnageante révèlent la présence des stérols et des triterpènes. C'est la réaction de Liebermann-Buchard (**Benzahi *et al.*, 2001**).

#### **h) Coumarines**

1 g d'échantillon dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et le placer dans un bain marie pendant quelques minutes. Ajouter 0,5 ml de NH<sub>4</sub>OH (10%). Mettre deux tâches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des tâches confirme la présence des coumarines (**Rizk, 1982**).

### **II.2 Préparation de l'extrait méthanolique**

La méthode utilisée est celle décrite par **Bruneton (1999)**. Elle se base sur le degré de solubilité des molécules dans les différents solvants modifiés. 60 g de la drogue végétale sont suspendus dans du méthanol à 85%. L'extraction est réalisée par macération à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 72 heures. Après une double filtration sur papier filtre, le résidu est mélangé avec 50% du méthanol pendant 24 h les filtrats sont soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rota vapeur (BUCHI) à 45°C puis l'extrait est conservé à froid jusqu'à son utilisation (**Fadili, 2015**).

### ✓ Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait obtenu et le poids initial de la plante utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = 100 \frac{m}{m_0}$$

D'où :

**R** : le rendement en %

**m** : la masse de l'extrait en mg ou g

**m<sub>0</sub>** : la masse initiale de la plante

## II.3 Séparation et identification par chromatographie sur couche mince (C.C.M)

### ❖ Principe

La chromatographie sur couche mince est une méthode analytique utilisée pour la séparation, identification des constituants d'un mélange complexe par entraînement à l'aide d'une phase mobile le long d'une phase stationnaire, en se basant sur les phénomènes d'adsorption et de partage (Riov & Gottlieb, 2006).

- **La phase stationnaire** : il s'agit de plaques en gel de silice de type Silice gel 60F 254 de 0,25 mm d'épaisseur, sur feuille d'aluminium ou de verre.
- **La phase mobile** : La phase mobile ou (éluant), est composé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants qui migrent lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé. Pour cette phase, il est choisi le mélange butanol/acide acétique/Eau (40 :10 :70).
- ❖ 10 µl de l'extrait sont déposés sur une plaque. Cette dernière est déposée en position verticale dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque (Sine, 2003). Après migration, la plaque est séchée à température ambiante, les taches sont observées sous la lumière UV (longueurs d'ondes  $\lambda = 254\text{nm}$ ). Chaque spot est caractérisé par son Rapport frontal (**Rf**) qui est calculé comme suit :

$$Rf = \frac{\text{distance parcourue par l'échantillon}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

### III. Analyse de l'extrait méthanolique de *Fumaria officinalis* L

#### III.1 Dosage des polyphénols totaux

La méthode utilisée est celle décrite par (Wong *et al.*, 2006), elle utilise le réactif Folin-Ciocalteu (solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ion).

Le dosage est basé sur la quantification de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement les hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu. 200µl de l'extrait (dissous dans le méthanol) sont ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions sont mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après incubation, 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75g /l) sont ajoutée. Le mélange final est incubé pendant 2h dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc sur l'extrait.

La concentration des composés phénolique dans l'extrait est exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g). Grâce à un courbe d'étalonnage (**annexe 3**) obtenue avec différents concentration d'acide gallique.

#### III.2 L'activité oxydante in vitro

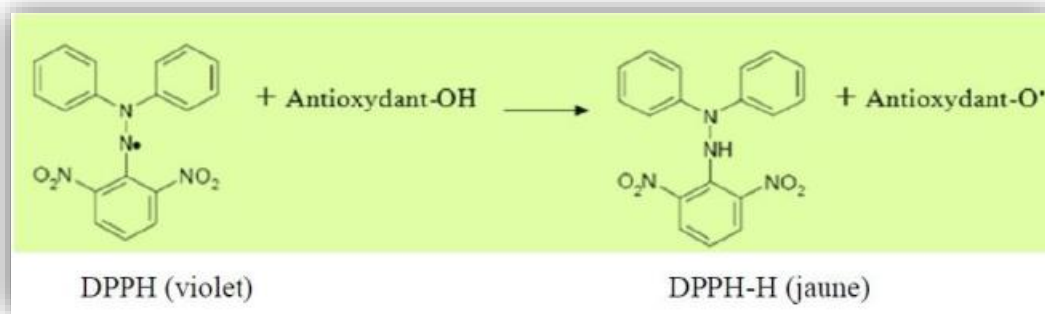
##### III.2.1 Évaluation de l'activité anti-oxydante : Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

L'activité scavenger du DPPH(2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) (couleur violette) de l'extrait est déterminée par la méthode (Tepe *et al.*, 2005). Son principe repose sur la réduction de la couleur violette en couleur jaune.

Ce radical est un oxydant qui peut être réduit par l'antioxydant (AH) selon la réaction suivante :



Une solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol, 50 µl de l'échantillon et du témoins (acide ascorbique) sont ajoutées à 1,950 ml de la solution de DPPH, après incubation de 30 min en obscurité à température ambiante, les absorbances sont mesurées à une longueur d'onde  $\lambda = 515$  nm.



**Figure N° 03 :** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

L'activité antioxydante est estimée selon l'équation suivante :

« % d'activité antioxydante =  $[\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100.$  »

D'où :

- **Abs contrôle** est l'absorbance du contrôle.
- **Abs échantillon** est l'absorbance en présence de l'échantillon.

#### Calcul de l'IC50 :

IC50 elle définit la concentration de l'antioxydant correspondant à 50 % d'inhibition (50% de radical DPPH). Cette valeur est calculée graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées (**Torres et al, 2006**).

$$[I \% = f(c)]$$

**N.B :** L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif

#### II.2.3 Test de peroxydation lipidique (TBA-rs)

Le test des substances réactives de l'acide thiobarbiturique (TBA-rs essai) a été également utilisé pour mesurer la capacité antioxydante potentielle de l'extrait étudiée (**Wong, Hashimoto, et Shibamoto, 1995**). L'homogénat du jaune d'œuf préparé dans du KCl 1,15 % (p/v) à raison de 10% (p/v) était utilisé comme source riches en lipide. Le jaune d'œuf est homogénéisé pendant 1 min, suivie par un traitement aux ultrasons pendant 5min. Cinq cents microlitres de l'homogénat sont mis dans un tube à essai avec 100 µl de l'échantillon solubilisé dans du méthanol à raison de (0,4, 0,8, 1,2, 1,6, 2, 4 mg/ml), puis le volume réactionnel est complété à 1ml avec de l'eau distillé, il est ajouté 1,5 ml d'acide acétique à 20 % (PH 3,5) et 1,5 ml de 0,8% (p/v) de 2-thiobabaturicacide (TBA) préparé dans 1,1% (p/v) de dodécylsulfate de sodium (SDS). Après agitation au vortex, le mélange est chauffé à 95°C pendant 1h. Après refroidissement, à température ambiante, 2ml de butanol

sont ajoutés à chaque tube, puis agités et centrifugés à 3000 tours pendant 10 min. l'absorbance du surnageant est mesurée à une longueur d'onde  $\lambda = 532$  nm. La concentration IC 50 qui permet d'inhiber 50 % de la peroxydation lipidique est déduite à partir d'une courbe de régression portant le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations testées.

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = [(A0 - A1) / A0] \times 100$$

Où : A0 étant la valeur d'absorbance du contrôle totalement oxydé et A1 l'absorbance de l'échantillon testé (Bounatirou, 2007).

### III.2.3 Test de neutralisation de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

L'essai de réduction du peroxyde d'hydrogène a été effectué suivant la méthode de (Ruch et al, 1989). Pour ce test, une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (43Mm) est préparée dans du tampon phosphate (0,1 ; Ph = 7,4). Pour l'extrait méthanolique de *Fumaria*, 3,4 ml des dilutions de (10 et 20µg/ml) préparé dans du tampon phosphate sont ajoutés à 0,6ml d'une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,6 ml, 43Mm). La valeur de l'absorbance du mélange réactionnel est enregistrée à  $\lambda = 230$  nm. Le blanc contient uniquement le tampon phosphate sans H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Le pourcentage de réduction de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (scavenging %) de l'extrait méthanolique a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Scavenging\%} = [(1 - Ae) / Ac] \times 100$$

Ac est l'absorbance du contrôle et Ae est l'absorbance en présence de l'échantillon

# **Evaluation de l'activité antibactériennes**

### III.3 Evaluation de l'activité antibactériennes

#### III.3.1 Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans l'essai antibactérien sont des souches de références, il s'agit de : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

\* *Escherichia coli*

Bacille à Gram négatif, commensal du tube digestif, c'est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales. (Nataro et Kaper, 1998)

\* *Pseudomonas aeruginosa*

Bacilles à Gram négatif, c'est une bactérie de l'environnement opportuniste souvent à l'origine des infections nosocomiales. Il s'agit aussi de bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques. (Philippon, 1995)

\* *Staphylococcus aureus*

Les Staphylocoques sont des cocci à Gram positif qui tendent à se grouper en amas. L'espèce *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré), tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales. (Chambers, 1997)

Ces bactéries sont conservées et maintenues en vie par des repiquages continus sur milieux MH et sur divers milieux de culture solides et liquides, selon les choisies.

#### III.3.2 Milieux de culture utilisés

Selon les techniques employées, les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- **Gélose nutritive (GN)** : un milieu d'isolement non sélectif, utilisé dans le but de repiquer la bactérie ou de la purifier si elle est contaminée.
- **La gélose de Mueller Hinton (MH)** : c'est un milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et toutes autres substances qui possèdent une activité antimicrobienne.

#### III.3.3 Préparation de l'inoculum

La méthode de préparation de l'inoculum est celle préconisée par SFM (Comite de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommandations) (SFM, 2005)

qui consiste à prélever à partir d'une culture de 18 à 24h, 2 à 3 colonies à l'aide d'une anse stérile, et les suspendre dans 5ml d'eau physiologique stérile, bien homogénéisé. La turbidité de cette suspension bactérienne est ajustée à celle d'une suspension standard (0,5 de Mc Farland), l'absorbance doit être comprise entre (0,08 à 0,1) à  $\lambda = 625$  nm. Cet inoculum contient environ  $1 \text{ à } 2 \times 10^8$  UFC/ml (**standardisation de l'antibiogramme selon l'OMS, 1999**).

L'ensemencement se fait en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum. Les boîtes de pétri sont coulées avec la gélose MH (4mm d'épaisseur), à proximité du bec bunsen. Après solidification du milieu l'écouvillon stérile est trempé dans chaque suspension bactérienne préalablement préparée, est frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée en tournant la boîte de  $60^\circ$  à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

### III.3.4 Test du méthanol ou contrôle négatif

Après ensemencement du MH par les suspensions bactériennes (0,5 Mc Farland), des disques stériles de papier Whatman de 6 mm de diamètre sont déposés en surface à raison de deux disques par boîte, par la suite un volume de  $10 \mu\text{l}$  de méthanol est déposé sur un disque. Les boîtes sont incubées 24 heures à  $37^\circ\text{C}$ . Après incubation, les diamètres d'inhibitions formés sont mesurés. (**Lesueur *et al.*, 2007**)

### III.3.5 Antibiogramme ou contrôle positif

Le but de réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques, il permet de catégoriser une souche bactérienne en classe semi-quantitatives (sensible **S**, intermédiaire **I** ou résistante **R**) et d'orienter l'antibiothérapie.

Dans la présente étude quatre antibiotiques sont sélectionnés (**tableau N°03**)

**Tableau N° 03 : Diamètres critiques des antibiotiques utilisés (SFM, 2013)**

Antibiotiques	Charge de disques	Diamètre critique	
		Sensibles	Résistants
chloramphénicol (C)	$30\mu\text{g}$	$\geq 23$	$< 19$
Vancomycine (VA)	$30\mu\text{g}$	$> 17$	$< 17$
Gentamicine (CN)	$10\mu\text{g}$	$\geq 15$	$< 12$
Amoxicilline (AMX)	$25\mu\text{g}$	$\geq 21$	$< 17$



Une suspension bactérienne du germe à tester est ensemencée dans des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller Hinton. Des disques d'antibiotiques sont ensuite déposés sur la gélose ; puis les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C. Après 24 h d'incubation, on procède à la lecture des résultats par la mesure des diamètres d'inhibition autour des disques (disque inclus). Deux répétitions sont réalisées pour chaque antibiotique.

### III.3.6 Méthode de diffusion en milieu gélosé

Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri, elle nous permet de mettre en évidence l'effet antibactérien de l'extrait sur les inocula, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis de cet extrait. (**Gachkar *et al.*, 2007**).

La technique consiste à déposer à l'aide d'une pince stérile des disques imbibés dans la gamme de concentration d'extrait (4mg, 10mg, 50mg, 100mg, 150mg, 250mg, 450mg) /ml du méthanol à la surface de la gélose ensemencée par les souches sur boîte de Pétri. Les boîtes sont incubées 18 à 24h à 37°C. Durant cette période, les substances diffusent dans la gélose à partir des disques selon un gradient de concentration jusqu'à une limite où sa concentration est la plus faible, déterminant ainsi des zones d'inhibition. L'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition et en fonction de ce diamètre la souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante. (**Hamidi, 2013**)

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm.

Cette technique est réalisée en triplicata

**Partie 03 :**

**Résultats et discussion**

# **Screening phytochimique et activité antioxydante**

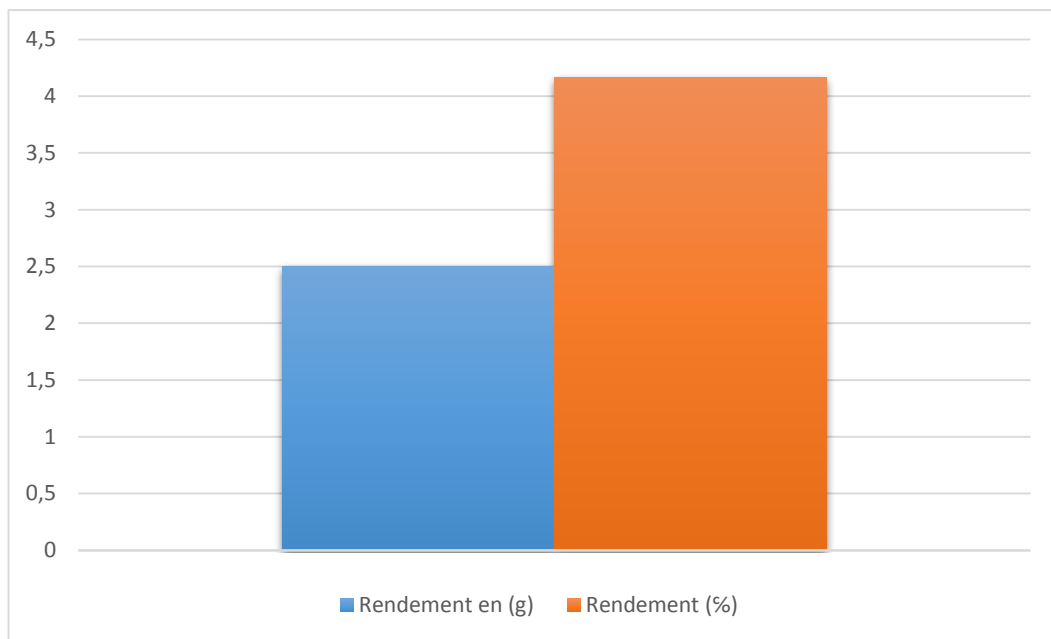
## I. Résultats de l'étude phytochimique

### I.1 Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction à partir de 60 g du matériel végétal de la partie aérienne de *Fumaria officinalis L* est illustré dans le **tableau N°04**.

**Tableau N°04** : rendement d'extraction

<i>Fumaria officinalis L</i>	
Rendement en (g)	Rendement (%)
2,5	4,16



**Figure N° 04** : Rendement de l'extraction.

Le résultat enregistré montre que l'extrait méthanolique (par rapport au poids de la poudre) a donné un meilleur rendement.

### I.2 Analyse phytochimique de la plante

#### I.2.1 Screening phytochimique

La phytochimie qualitative est basée sur des réactions de coloration ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisée sur l'extrait méthanolique de la plante. Les résultats du criblages phytochimique sont résumés dans le **tableau N° 05** et la **figure N°06**. Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolite secondaire. Les huit groupes de composés bioactifs ont été identifiés dans l'extrait tel : les saponosides, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les glycosides, les mucilages, les tanins, et les coumarines et les stérols révèle leurs absences au niveau la plante étudiée.

Tableau N°05 : Screening phytochimique de la plante *Fumaria officinalis L*

Composés	Alcaloïdes	Tanins	Flavonoïdes	Saponosides	Coumarines	Mucilages	Glycosides	stéroïls et triterpènes
Observation	+	+	+	+	-	+	+	-

(-) non détectable, (+) faible quantité, (++) grande quantité.

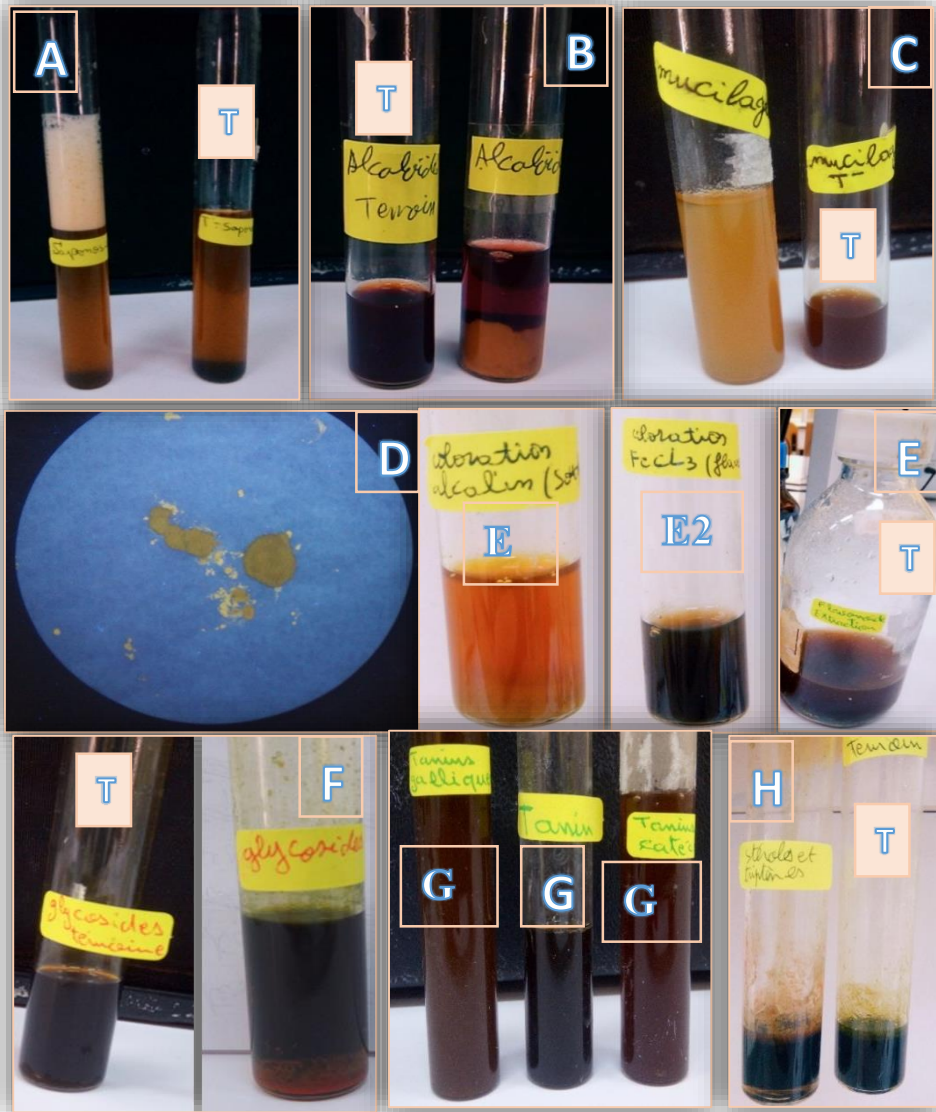
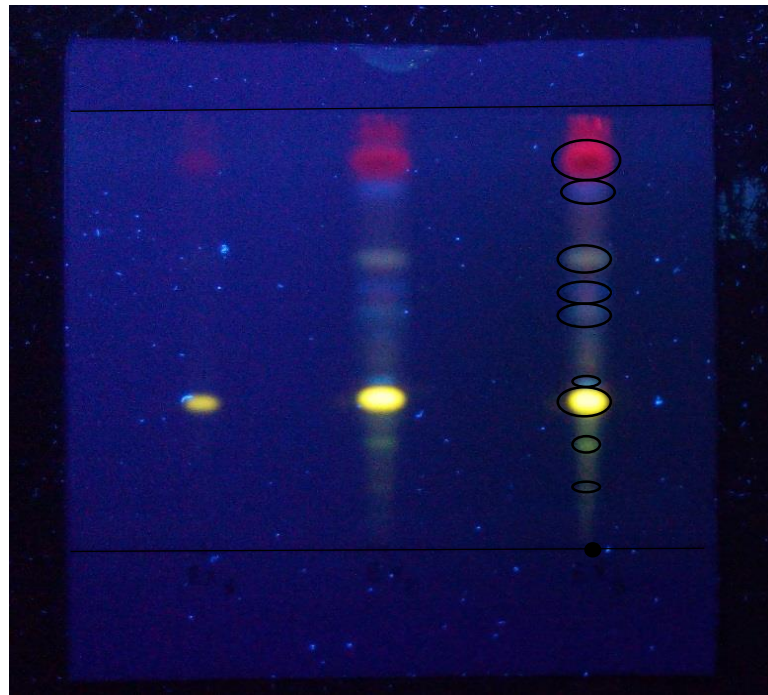


Figure N°05 : Screening phytochimique de la plante *F. officinalis L* (A : saponosides, B : alcaloïdes, C : mucilages, D : coumarines, E : Flavonoides, E1 : coloration alcalin, E2 : coloration FeCl<sub>3</sub>, F : Glycosides, G : tanins, G1 : tanins Galliques, G2 : Tanins catéchiques, H : stéroïls et triterpènes, T : témoin)

Les travaux de **Torck et al., (1971)**, **Goetz et al., (2009)** et **Sayed et al., (2015)** ; ainsi que **Paltinean et al., (2016)**, montrent la présence de groupes phytochimiques localisés au niveau des tissus de *F. officinalis L.*

### I.2.2 Chromatographie sur couche mince (CCM)

Après révélation par la lampe UV neuf spots ont été observées ce qui confirme la présence de divers composants dans l'extrait et elle est représenté dans le **tableau N°06**.



**Figure N°06** : Chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique (**prise personnelle ; 2019**).

- Front du solvant = 7 cm.

**Tableau N°06** : Distances parcourues par les différents spots de l'extrait méthanolique.

Distance (cm)	0,9	1,6	2,3	2,6	3,6	4	4,5	5,5	6
Rf	0,12	0,22	0,32	0,37	0,51	0,57	0,64	0,78	0,85

Ce résultat montre la richesse de l'extrait en polyphénols (riche en molécules soluble dans le mélange (butanol/acide acétique/Eau (40 :10 :70)) du solvant choisira.

La teneur dépend de la polarité, et de la solubilité des molécules présentes dans l'extrait.

### I.2.3 Dosage des polyphénols

Les résultats des dosages des polyphénols sont illustrés dans le **tableau N° 07**.

**Tableau N°07 : Teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique de *F. Officinalis L***

<i>Fumaria officinalis L</i>	
Teneur en polyphénols (mg EAG /g extrait)	86,38±0,013

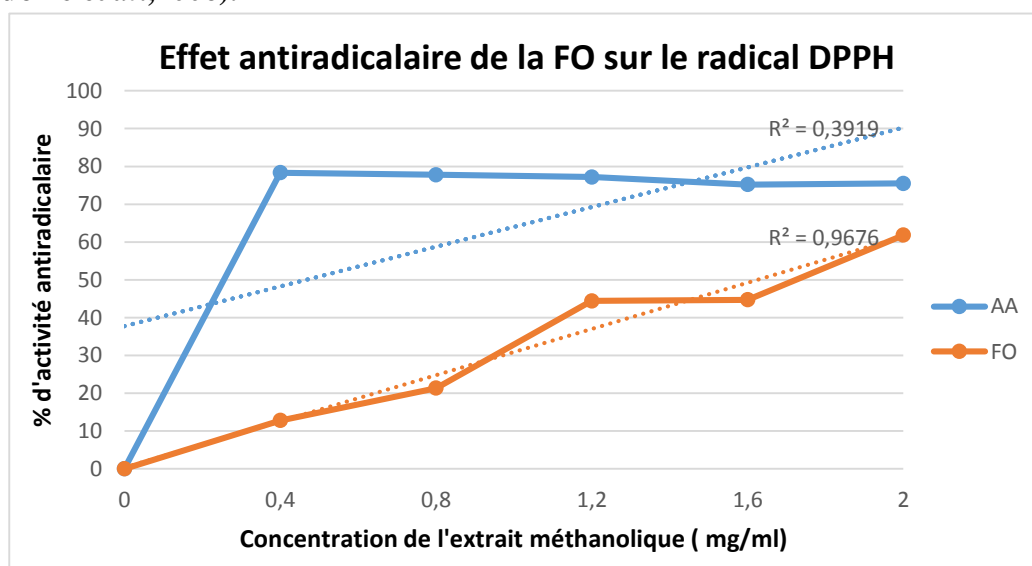
La teneur en polyphénols de l'extrait a été déterminé on se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique voir (**annexe 3**). Les résultats sont exprimés en mg EAG /g extrait.

Les résultats obtenus sont supérieurs ceux déterminées par **Sousek et al (1999)** (29,83 ±0,042) ces différences sont dûes à génotype et aux conditions agro-climatiques. (**Ryan et al.,1999 ; Benlarbi.,2004**). La teneur en polyphénols totaux dans la même espèce dépend de plusieurs facteurs : tel la saison de la récolte : la même espèce récoltée a différents phénols, présente des taux en composés phénoliques variables. (**Shahid et Bhanger,2006**).

### I.3 Evaluation du pouvoir oxydant

#### I.3.1 Evaluation de l'activité antioxydante (DPPH)

Le DPPH est longuement utilisé pour estimer la capacité des substances d'agir en tant que piègeur des radicaux libres on donneur d'hydrogène et d'évaluer l'activité antioxydante (**Milardoxié et al.,2006**).



**Figure N°07 :** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'extrait méthanolique de FO et de l'acide ascorbique à différentes concentrations. (FO : *fumaria officinalis L* ; A.A : Acide ascorbique)

Les graphes illustrent la variation des pourcentages du pouvoir piégeur en fonction de l'extrait, la 2ème courbe correspond à l'acide ascorbique.

Les résultats obtenus, montrent que le pouvoir oxydant de l'extrait méthanolique vis à vis du DPPH qui augmente en fonction de la concentration. (R=0,983)

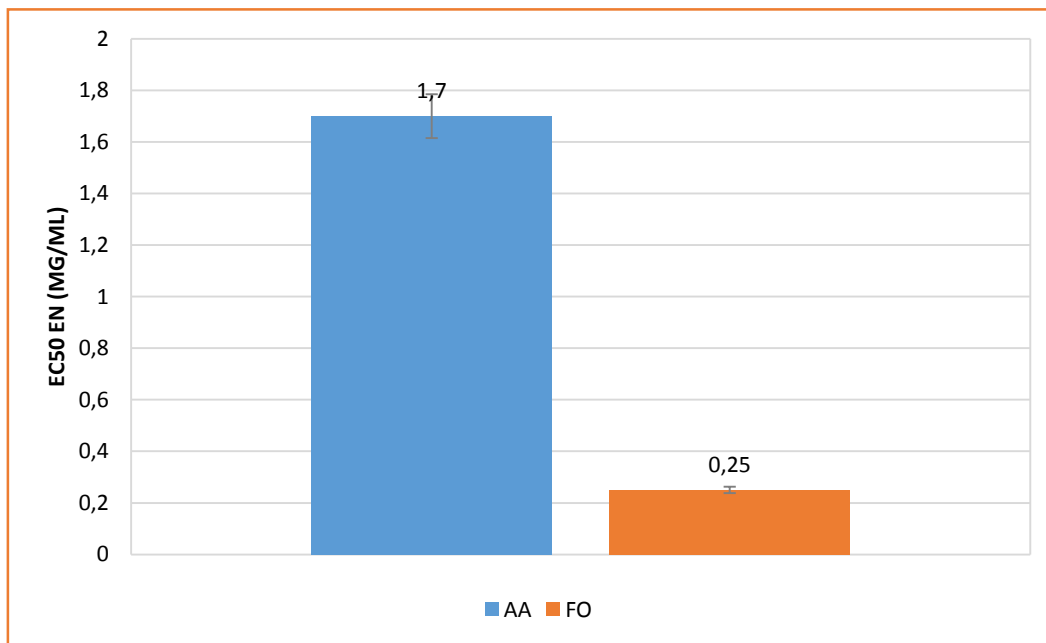
En effet, après l'ajout de la solution du DPPH, le changement de la couleur apparue avec différentes intensité dans l'échantillon à des concentrations variées, à chaque fois que la concentration augmente, le pourcentage d'inhibition augmente ce qui confirme que l'activité anti-radicalaire est dépendante de la quantité de composés antioxydants présente dans l'extrait (**Katalinic et al., 2006**).

Comparé à la molécule de référence l'acide ascorbique, où le pouvoir antiradicalaire est de (75,49%), l'extrait présente un pouvoir de (61,82%).

**\* Détermination des IC50**

L'activité scavenger du DPPH de l'extrait peut être déterminée à partir des valeurs de l'IC50 ; Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

La valeur d'IC50 est représenté dans l'histogramme suivant :



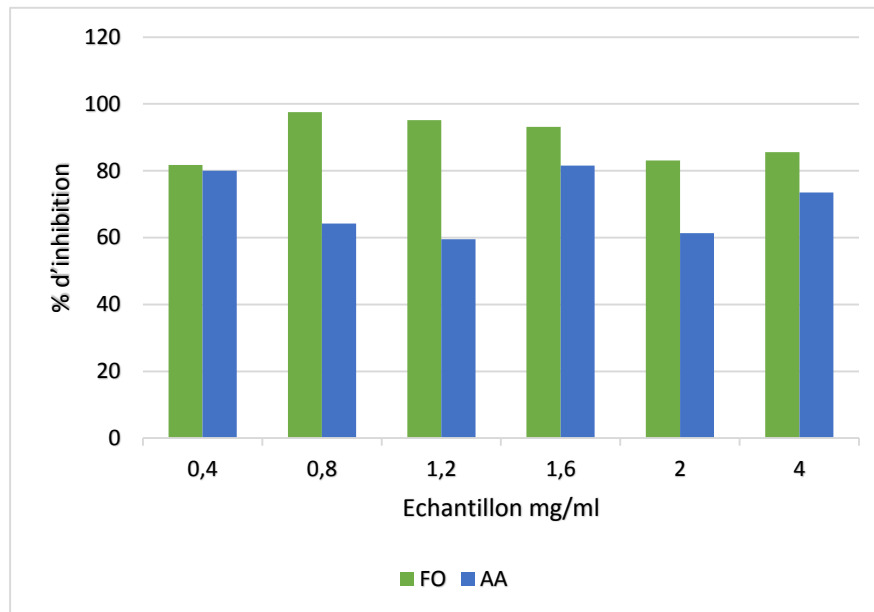
**Figure N°08 :** Valeurs des IC50 en (mg/ml) pour l'extrait méthanolique de FO et l'AA.

**Porter et al., 1986** ont démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique et le tocophérol réduise et décolorent le DPPH a des concentrations faibles, en raison de leur immense capacité à céder l'hydrogène. Les mêmes constatations sont faites par (**Dawidowicz et al., 2006**).



### I.3.2 Test de peroxydation lipidique (TBA-rs)

Le test des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) est réalisé afin de quantifier le malonaldéhyde (MDA), qui est l'un des produits secondaires de la peroxydation lipidique. Les résultats d'activités scavenger du radical MDA de l'extrait méthanolique de *Fumaria* est représentée dans la figure suivante.



**Figure N°09 :** Activité anti peroxydation lipidique de l'extrait méthanolique de FO et l'acide ascorbique

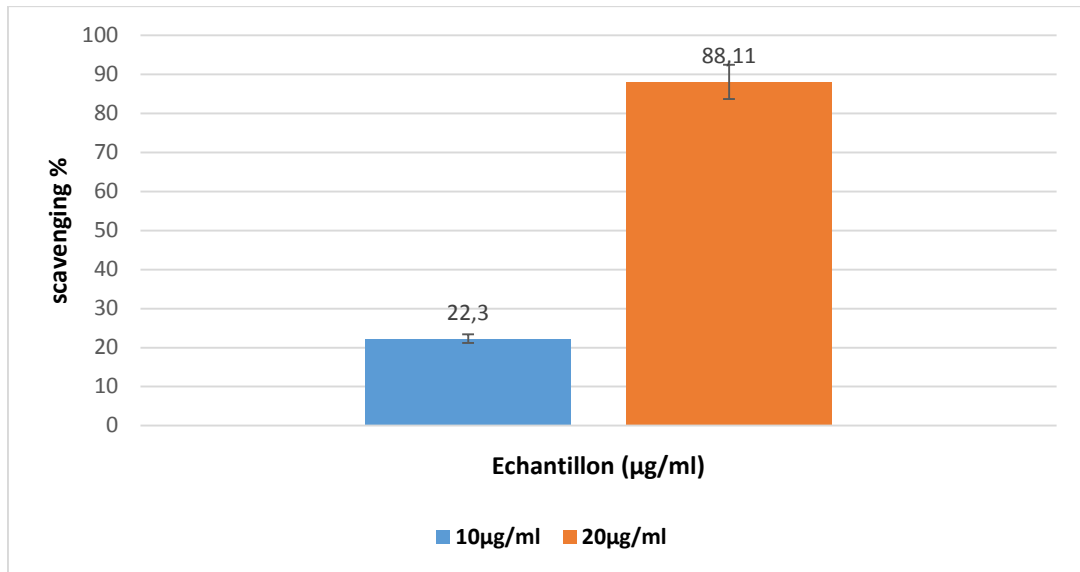
L'activité anti peroxydation lipidique a été enregistrée avec une  $EC_{50}=2,44$  mg/ml

A la concentration 0,8 mg/ml l'extrait méthanolique a donné une très grande valeur du pourcentage d'inhibition qui est de  $(97,55\% \pm 0,0025)$

En effet, *Fumaria* est dotée d'une activité scavenger du radical MDA est ceci est expliqué par sa richesse en composés phénoliques majoritairement les flavonoides qui sont de puissants antioxydants capables d'inhiber ce radical.

### I.3.3 Test de neutralisation de l' $H_2O_2$

Le  $H_2O_2$  est un puissant oxydant qui est formé lors des métabolismes et les réactions de détoxification. Les résultats concernant la neutralisation de ce radical sont présentes dans la **figure N° 10**.



**Figure N°10 :** Pourcentages de l'effet scavenging de l' $\text{H}_2\text{O}_2$  par l'extrait préparé de FO

Il a été constaté qu'à une concentration de  $20\mu\text{g/ml}$  de l'extrait méthanolique de *Fumaria officinalis L.*, l'effet neutralisant était de  $(88,11\pm 0,009)$ . Ce résultat est nettement supérieur à celui obtenu par **Bribi et al., 2013** qui montre que l'extrait d'alcaloïde de *F. capreolata* présente un pouvoir neutralisant de  $(78.89\pm 0.48\%)$  pour une dose de  $100\mu\text{g/ml}$ .

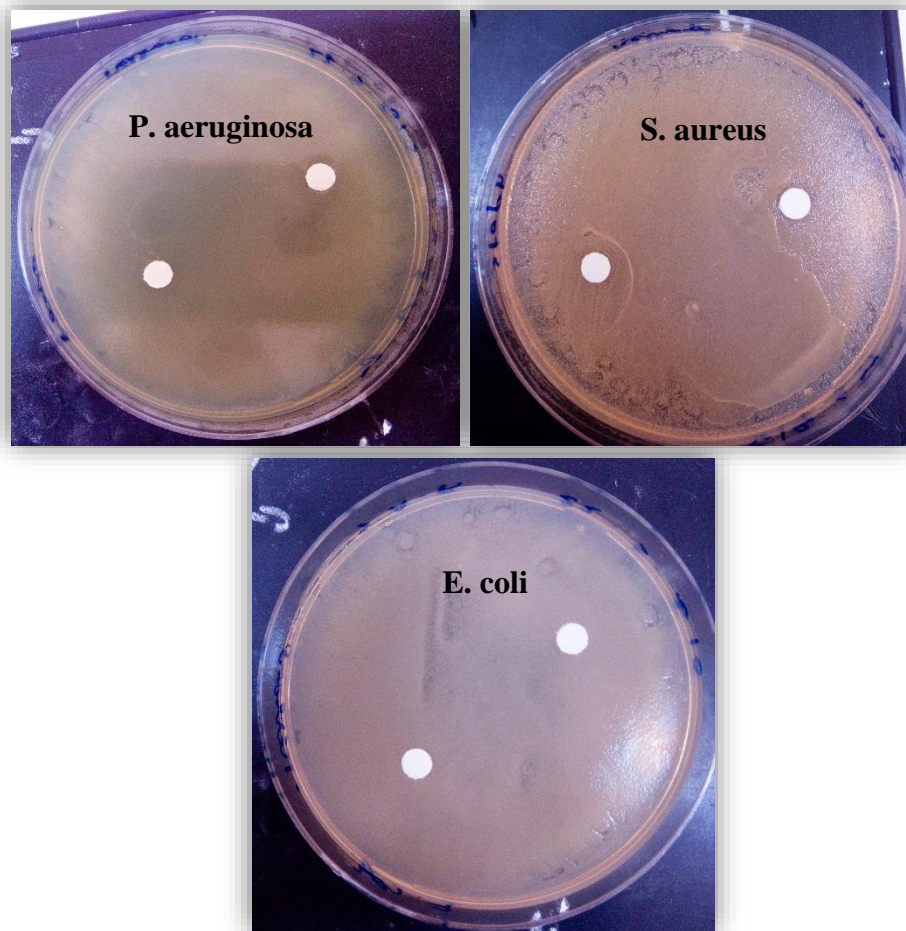
Ceci est expliqué par la richesse de l'extrait en composés et en molécules réductrices qui sont capables d'arrêter la décomposition du radical  $\text{H}_2\text{O}_2$ , car ce dernier se décompose rapidement et produit l'hydroxyle OH : un puissant initiateur de la peroxydation lipidique (**Chanda et Dave, 2009**).

# **Activité antibactérienne**

## II. Résultats de l'activité antibactérienne

### II.1 Control négatif

Le test méthanol a été réalisé sur les souches : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, et ne montre aucun effet sur la croissance de ces micro-organismes (**figure N°11**).



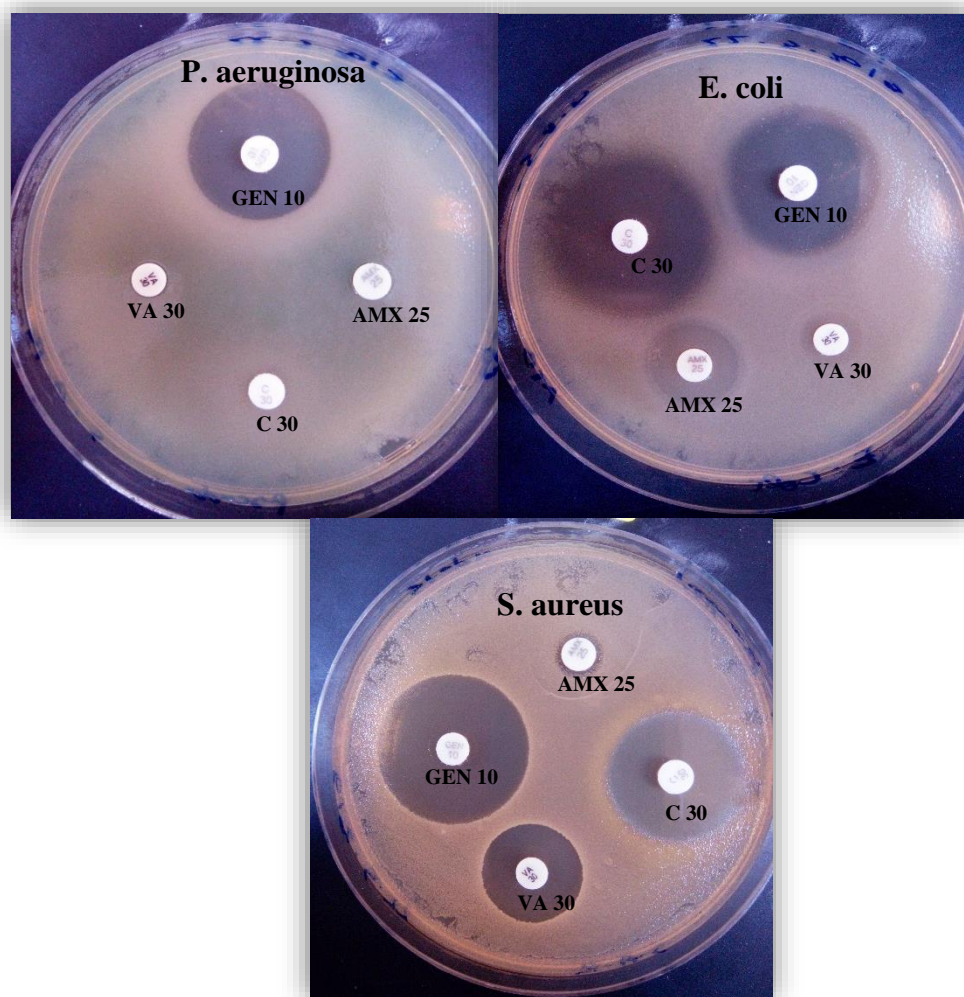
**Figure N° 11** : Résultats de test du méthanol sur : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

### II.2 Control positif

Les résultats de l'évaluation de l'action antibactérienne des antibiotiques testés sur les souches cibles sont présentés par le **tableau N° 8** et la **figure N° 12**.

**Tableau N° 08** : Diamètre d'inhibition du test positif exercé sur les différentes souches en (mm).

ATB Diamètre mm	Gentamicine 10µg	Vancomycine 30 µg	Amoxicilline 25 µg	Chloramphéni col 30 µg
<i>Escherichia coli</i>	27	0	0	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	0	12	29
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	17	9	26



**Figure N° 12** : Antibiogramme des souches : *E.coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 , *S. aureus* ATCC 43300

D'après le **Tableau N° 08**, il a été observé que l'ensemble des espèces bactériennes sont résistantes à l'égard de la vancomycine, à l'exception de la souche *Staphylococcus aureus*

ATCC 43300 qui a présenté un halo de sensibilité de 17mm. La souche *Escherichia coli* ATCC 25922 a s'est révélée résistante à l'Amoxicilline.

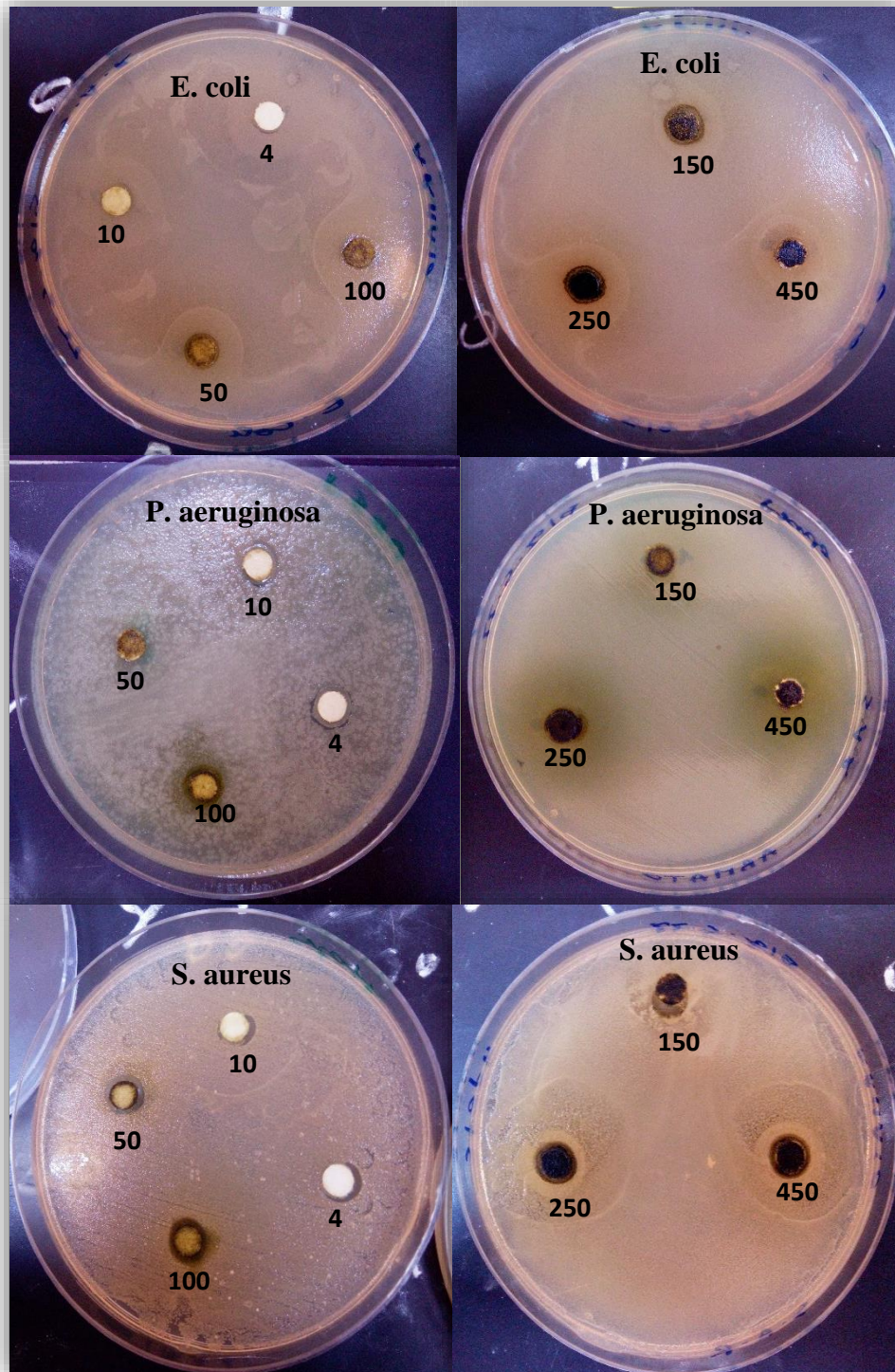
Pour de la gentamycine et le Chloramphénicol aucune résistance bactérienne n'a été démontrée. il est constaté une différence dans le diamètre des zones d'inhibitions entre les bactéries étudiées. Ces mécanismes de réponse différentiels entre les souches cibles vis-à-vis des antibiotiques dépendent principalement de l'état cellulaire de la bactérie.

### II.3 Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Fumaria officinalis* L sur les souches testées par la méthode de diffusion des disques

Les résultats de l'étude antibactérienne de l'extrait méthanolique testé les souches de : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 sont représentés dans le **tableau N° 9** et la **figure N° 13**.

**Tableau N° 09** : Diamètres d'inhibition de test diffusion en milieu gélosé sur les souches testées

Concentration(mg/ml) \ Diamètre (mm)	4	10	50	100	150	250	450
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	0	0	0	0	0	0	0



**Figure N° 13 :Résultats de diffusion en milieu gélosé d'extrait méthanolique de FO sur les souches testées**

Il a été observé que l'extrait méthanolique de la produite FO ne présente aucun effet sur les souches choisies.

Pour la souche *E. coli* : les résultats obtenus sont contradictoires du ceux publiés par **Dulger & Gonuz (2004)** qui montrent que l'extrait méthanolique de *Fumaria officinalis L* exerce un effet antibactérien.

Concernant la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, nos résultats sont un accord avec ceux de **Memnune et al.,2009** qui illustrent que l'extrait méthanolique n'exerce aucun effet antibactérien sur les toutes espèces de *Pseudomonas*.

Les résultats de **Dulger & Gonuz (2001)**, montrent que cette souche s'est manifesté résistante à une dose de 200mg/ml de l'extrait méthanolique de *F. Officinalis L*.

Pour la souche de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 les observations faites vont dans le sens inverse de ceux obtenus par **Memnune et al.,2009**, qui trouvent que le même extrait présente un effet inhibiteur avec un diamètre de 15 mm.

Néanmoins par les autres espèces étudiées de *staphylococcus*, l'extrait n'a présenté aucun effet. Ce qui concorde avec notre résultat.

Ces différences entre les résultats sont probablement dues à la nature de l'extrait préparé (différents types de phénols et présence d'autres molécules bioactif) **Memnune et al.,2009** et la souche bactérienne étudiée (nature structurale), structure de la paroi.

Les études de **Denyer et al.,2002**, montrent que la présence de la couche lipidique dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif et plus résistante par rapport aux germes positive qui sont dépourvues de cette couche. Cette résistance est due au lypopolysaccharide LPS (constituant majeur de la membrane externe des bactéries Gram négatif qui empêchent la pénétration des extraits tel les alcaloïdes, les polyphénols. **Meyer et al., 1999**.

**Nikaido,2003** rapporte que les porines excluent les molécules a haut poids moléculaire.



## Conclusion

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des Saponosides, des Tanins, des flavonoïdes, des Mucilages, des Alcaloïdes, et des glycosides avec une absence des Coumarines et des stérols et triterpènes.

Après extraction méthanolique de la partie aérienne du matériel végétale, un rendement égale à (4,16%) a été déterminé, et à partir des résultats tirés de l'activité antioxydante du *Fumaria officinalis L* évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH et sur la base des résultats du dosage des polyphénols, on peut dire que l'extrait de *F. officinalis L* est riche en composés phénoliques et effectivement, plus actif comme piègeurs du radical DPPH.

La Chromatographie sur Couche Mince réalisés, a montré la richesse de *F. officinalis L* en produits naturels dont les effets thérapeutiques peuvent être nombreux.

L'étude de l'activité anti- bactérienne de l'extraits méthanolique de la plante par la méthode de diffusion en milieu solide montre clairement que ce dernier n'a exercé aucun effet sur les souches choisies.

Le pouvoir antioxydant de l'extrait est probablement dû à la présence d'autres molécules phytochimiques tel : l'acide ascorbique, tocophérols et les pigments, aussi que à la synergie entre ces derniers ce qui contribue à la capacité antioxydante. Différents types de composé phénoliques ont un pouvoir antioxydant qui dépend de leurs structures.

En effet, notre travail reste préliminaire et l'extrait de la plante constitue un réservoir très intéressent pour des recherches ultérieures qui vont nous ouvrir des horizons de recherche ciblés vers cette plante en raison du manque des études concernant cette plante par rapport à leur richesse par plusieurs composés chimiques important dans le domaine de la médecine traditionnelle, notamment en termes de mise en évidence des principes actifs et évaluation de leurs activités biologiques.

## Perspective

En perspective il serait intéressant d'étendre l'éventail d'activité antioxydante in vitro et in vivo ainsi que la caractérisation des composés actifs dans cet extrait une vue de l'identification des différentes activités biologiques de cette plante.

# Résumé

يركز هذا العمل على الدراسة الكيميائية النباتية وتقييم الأنشطة المضادة للبكتيريا ومضادات الأكسدة لنبات عراق النساء. تعتبر الدراسة البيولوجية لهذا الأخير جزءاً من البحث عن طريقة لمحاربة ظهور الكائنات الحية الدقيقة المقاومة للمضادات الحيوية والوقاية من الإجهاد التأكسدي. يعتمد تحديد المستقبلات الثانوية على تفاعلات الترسيب وتغيير اللون. إن تحديد البوليفينول بواسطة طريقة فولان سيوكالتو يدل على أن مستخلص الميثانول غني بالبوليفينول ( $86.38 \pm$  ملغم / EAG من المستخلص) معبراً عن مكافئ حمض الغالي لكل غرام. لتقييم نشاط مضادات الأكسدة في المختبر، تم اختيار اختبار الحد الجذري DPPH، اختبار بيروكسيد الدهون (TBA) واختبار تحييد  $H_2O_2$ . تم إجراء الدراسة المضادة للبكتيريا على الإشريكية القولونية ATCC 25922، الزانفة الزنجارية ATCC 27853، والمكورات العنقودية الذهبية ATCC 43300 بواسطة طريقة الانتشار المتوسطة الصلبة. لقد ثبت أن مستخلص الميثانول من عراق النساء غني بالفلافونويد، السابونوسيدات، التانان، الميسلاج، الالكويدات، الجليكوسيدات والبوليفينول مع عدم وجود الكومارين والستيرولات. يكشف تحليل كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة وجود العديد من المركبات الفينولية. وكشف تقييم نشاط مضادات الأكسدة لمستخلص الميثانول في المختبر من خلال هذه الطرق أن المستخلص يتمتع بدرجة جيدة من قوة مضادات الأكسدة وليس له أي تأثير على السلالات التي تم اختبارها. يكشف المضاد الحيوي الذي تم إجراؤه باستخدام المضادات الحيوية المحددة عن حساسية و / أو مقاومة متغيرة حسب السلالات.

**الكلمات المفتاحية:** عراق النساء، الفحص الكيميائي النباتي، البوليفينول، نشاط مضادات الأكسدة.

---

## Résumé

Ce travail s'intéresse à l'étude phytochimique et à l'évaluation des activités antibactérienne et antioxydante de la plante *Fumaria Officinalis*L. L'étude biologique de cette dernière s'inscrit dans le cadre de la recherche d'une démarche de lutte contre l'émergence de micro-organismes résistants aux antibiotiques et de la prévention contre le stress oxydatif. La détermination de métabolites secondaires est basée sur des réactions de précipitation et de changement de couleur. Le dosage des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu, montre que l'extrait méthanolique est riche en polyphénols ( $86,38 \pm 0,013$  mg EAG / g d'Ext) exprimée en équivalent d'acide gallique par g. Pour l'évaluation de l'activité antioxydante in vitro, il a été choisie le test de la réduction du radical DPPH, le test de peroxydation lipidique (TBA) et le test de Neutralisation de l' $H_2O_2$ . L'étude antibactérienne a été faite sur *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 par la méthode de diffusion en milieu solide. Il a été montré que l'extrait méthanolique de *Fumaria officinalis* L est riche en flavonoïde, Saponosides, Tanins, Mucilages, Alcaloïdes, glycosides et polyphénols avec une absence de Coumarines et des stérols et triterpènes. L'analyse de la chromatographie sur couche mince révèle la présence de plusieurs composés phénoliques. L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique in vitro par ces méthodes a révélé que l'extrait est bien doté d'un pouvoir antioxydant et il exerce aucun effet sur les souches testées. L'antibiogramme effectué avec les antibiotiques choisis révèle une sensibilité et/ou une résistance variable en fonction des souches.

**Mots clés :** *Fumaria Officinalis* L ; screening phytochimique ; polyphénols ; activité antioxydante

**Abstract**

This work focuses on the phytochemical study and evaluation of the antibacterial and antioxidant activities of the plant *fumaria officinalis*L. The biological study of the latter is part of the search for an approach to fight against the emergence of micro-organisms resistant to antibiotics and prevention against oxidative stress. The determination of secondary metabolites is based on precipitation and color change reactions. The determination of polyphenols by the Folin-Ciocalteu method shows that the methanolic extract is rich in polyphenols ( $86.38 \pm 0.013$  mg EAG / g of Ext) expressed in gallic acid equivalent by g. For the evaluation of the antioxidant activity in vitro, the DPPH radical reduction test, the lipid peroxidation test (TBA) and the Neutralization test of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were chosen. The antibacterial study was made on *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, and *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 by the solid medium diffusion method. It has been shown that the extract Methanolic *Fumaria officinalis* L is rich in flavonoid, saponosides, tannins, mucilages, alkaloids, glycosides and polyphenols with an absence of coumarins and sterols and triterpenes. Thin layer chromatography analysis reveals the presence of several phenolic compounds. The evaluation of the antioxidant activity of the methanolic extract in vitro by the methods revealed that the extract is well endowed with an antioxidant power and has no effect on the strains tested. The antibiogram performed with the selected antibiotics reveals a sensitivity and / or variable resistance depending on the strains.

**Key words:** *Fumaria Officinalis* L; phytochemical screening; polyphenols; antioxidant activity.

---

## Références bibliographiques

### A

- **Alkurd. A, Hamed.T. R, Al-Sayyed. H. (2008).** Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 4: 265 – 274.
- **Asada. Y, Oshikawa .T, Welli. (1998).** Antimicrobial flavonoïdes from *Glycyrrhiza glabra* hairy root cultures. *Planta medica*. 64(8). P : 746.

### B

- **Bayer. E, Buttler. K.P, Finkenzeller. X, Gran.J. (2005).** Guide de la flore méditerranéenne. Paris : Delachaux et Niestlé. 34 p.
- **Benayache. F.(2005).** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de Doctorat en chimie organiques. Université Mentouri-Constantine. Algérie. P 199
- **Benzahi. K. (2001).** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodon Dactylon-L* « Chiendent ». Mémoire de magister. Université d'Ouargla- Algérie.
- **Bounatirou. S, Smiti. S, Miguel. G, Faleiro.I, Rejeb.M. N, Neffati .M, Costa .M.M, Figueiredo. A.C, Barroso.J. G, Pedroel.L.G.(2007).** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of the essential oils isolated from tunisian thymus capitatus Hoff .Et Link.*Food Chemistry* 105 :PP :146-155 ;
- **Bousseboua. H. (2001, 2006).** Eléments de microbiologie générale. 32, P : 160-167.
- **Bruneton. J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales.
- **Bruneton. J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème ed. Ed. Tec et Doc, 1120 p.

### C

- **Celiktas. O, Bedir. E, Vardar Sukan.F. (2007).** In vitro antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chem*. 101 : 1457-1464

- **Chabrier.J.Y. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1 France : pp 165.
- **Chambers. H. F. (1997).** Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin. Microbiol. Rev. 10. P : 781.
- **Chanda. S, and Dave. R. (2009).** In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. Afr J Microbiol Res 3 : 981-996.
  
- **Chaouch. N. (2001).** Étude des alcaloïdes dans la coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (Wilaya de Ouargla). Mémoire de magister. Université d'Ouargla- Algérie
- **Couplan. F. (2007).** Reconnaître facilement les plantes par l'odorat, le gout, le touché. Paris: Institut national de la recherche agronomique. 233p.

*D*

- **Dacosta.Y.(2003).** Les phytonutriments bioactifs. Yves DACOSTA (Ed). Paris, P : 317.
- **Dawidowicz. A, wianwoska. D, & Baramiak. B. (2006).** the antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigru. L* (antioxidant properties of extracts). Food Science and Technology, (39): 308-315.
- **Debuigne. G, & Couplan. f. (2009).** Pettit larousse des plantes médicinales. Edition larousse. P 82.
- **Diallo. A. (2005).** Etude de La phytochimie et des activites biologiques de *Syzygium guineense* WILLD. (Myrtaceae), Thèse pour obtenir le grade de Docteur en pharmacie (Diplôme d'état) Université De Bamako,92pp+annexes.
- **Dohou. N, Yamni. K, Tahrouch. S. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, *Thymelaea lythroïdes*. Bull Soc Pharm. Bordeaux ; 142 :61-78
- **Dulger. B, Gonuz.A. (2004).** Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. *Asian J Plant Sci*:3: 7-104.



## E

- **Eberhard. T, Robert. A, Annelise. L. (2005).** Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France.
- **Edeoga1. H.O, Okwu. D.E etM.baebie. B.O. (2005).** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 4 (7) : 685-68.
- **Fadili. K, Amalich. S, N'dedianhoua. S. K, Bouachrine .M, Mahdjoubi .M, Elhilali. F, and Zair. T. (2015).** teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydants des extraits de deux espèces du haut atlas du Maroc : *Rosmarinus officianis et thymus saturiodes* V. 17 N.1. pp : 24

## F

- **Favier. A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales de Biologie Clinique*, **64(6)** : 390-396.
- **Fouché. J.G, Marquet. A, et Hambuckers. A. (2000).** Les plantes médicinales, de la plante au médicament. *Observatoire du monde des plantes* Sart-Tilman.

## G

- **Gachkar. L, Yadegari. D, Rezaei. M.B, Taghizadeh .M, Astaneh. S.A, and Rasooli. I. (2007).** Chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils. *Food Chem.*, 102.P: 898.
- **Garnero. J. (1991).** les huiles essentielles, leur obtention, leurs compositions, leur analyse et leur normalisation. Editions techniques-encyclopedie des médecines naturelles. (Paris, France), Phytothérapie, Aromathérapie, (1991), C-2, pp, 2-20.
- **Goetz. P, Ghedira. K, Le Jeune.R. (2009).** *Fumaria officinalis* L. (Fumariaceae). *Phytothérapie*.7 :221-225
- **Guillaume. (2000)** : [Www. Second euro-bioweb.com/microbiologie/ microbiologie cours.html](http://www.Secondeuro-bioweb.com/microbiologie/microbiologiecours.html).
- **Guignard. J. L. (1994).** Abrégé botanique, 9 eme édition. Édition Masson, Paris.204
- **Guiraud.J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. P : 71-75.

## H

- **Halliwell. B. (1999).** How to characterize a biological antioxydant free radical. *Res.Comm*, 9 :1-32.
- **Hamidi. A. (2013).** Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*. Thèse de magister. Ouargla : université Kasdi Merbah,2013, P :86.
- **Hopkins. W. G. (2003).** Physiologie végétale.2ème édition américaine, de Boeck et Lancier SA, Paris : pp514.

## I

- **Iserin. P. (2001).** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse : pp10-335
- **Iserin. P, Masson. M, et Restellini. J.P. (2007).** Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins. Ed Larousse, pp14
- **Iwasa. K, Moriyasu.M, Nader. B. (2000).** Fyngicidal and herbicidal activities of berberine related alkaloids. *Biosc.Biotechnol.Biochem.* **64(9)**, p : 1998-2000.
- **Iwasa. K, Moriyasu.M, Tachibana. Y, Kim.H. S, Wataya. Y, Wiegrede.W, Bastow.F. K, Cosentino.M, Kozuka. M. and Lee. H.K. (2001).** Simple isoquinoline and benzyloquinoline alkaloids as potential Antimecrobial, Antimalarial, Cytotoxic and Anti-HIV agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* (9), p : 2871-2884.
- **Iwasa. K, Moriyasu. M, Yamori. T, Turuo. T, Lee.D.U.and Wiegrede.W. (2001).** *In vitro* cytotoxicity of the protoberberine-type alkaloids. *J.Nat.Prod.* (**64**), p : 896-898.

## J

- **Judd. Walter. S, Campbell, Christopher. S, Kellogg. Elizabeth. A, Stevens, Peter. (2002).** Botanique Systématique, une perspective phylogénétique. Edition De Boeck Université, 396-399.

## K

- **Karumi. Y, Onyeyili. P.A, Ogugbuaja. V.O. (2004).** Identification of active principles of *M. balsamina* (balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci* ; 4(3). P :179-182.
- **Katalinic. V, Milos. M, Kulisic. T, & Jukic.M. (2006).** Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*. 94: 550–557.
- **Koyama. T, Goto. D, Fujii. S, Tarikuz, Zaman. A.K.M, Sakuma. I, Gao.M, Mitchell. J, Woodcock-Mitchell. J, Sobel.BE, and Kitabatake. A. (1999).** Long-term blockade of nitricoxide synthesis in rats modulates coronary network remodeling. *Angiogenesis* 3:137-46.

### ℒ

- **Leurent. (2012).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêts économique *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister., Univ de Constantine 1, 2- 5-41.
- **Lesueur. D, Serra. D, de Rocca, Bighelli. A, Hoi. T.M, Ban .N.K, Thai .T.H, Casanov . J. (2007).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Meryll ex Dandy from Vietnam *Flavour and Fragrance Journal*, 22, P: 317-321.
- **Lieutaghi. P. (2019).** « FUMETERRE », *Encyclopædia Universalis*, France, <http://www.universalis.fr/encyclopedie/fumeterre/> consulté le 14 mai 2019.

### M

- **Maceij, Stobiecki. (2000).** Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides, *Phytochemistry*. 237-256.
- **Marfak. A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leurs réactivités avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de Limoges. P : 24-42.
- **Mbodj.N.(2003).** Etude de l'Activité antidiabétique des extraits acetoniques, méthanolique et hescniques de *vernonia colorata* (willd/drake) composées chez des rats wistar, Thèse de docteur en pharmacie, Université Cheikh AntaDiop de Dakar : pp 53.

- **Memnune.S, Hilal. Y, Neva. G, Bulent. C, Zeynep. E, Sezai. E. (2009).** Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants Pak. J. Pharm. Sci., 22, 1:102-106
- **Meyer. S, Weiss. G, von Haeseler. A. (1999).** Pattern of nucleotide substitution and rate heterogeneity in the hypervariable regions I and II of human mtDNA Genetics. 152, pp. 1103-1110

## N

- **Nataro. J. P, Kaper J. B. (1998).** Diarrheagenic E. coli. Clin Microbiol Rev. 11. P :142.

## P

- **Paltinean. R, Toiu. A, Wauters. N.J, Frederich. M, Titsluc. M, Angenot. L, Tamas.M, Crisan.G. (2016).**Phytochemical analysis of *Fumariaofficinalis* L (*Fumariaceae*).*Farmacologia*.64(3) :409-413.
- **Perry. J, Staley. J, Lory. S, et al. (2002).** Microbiologie. Cours et question de révision. Dunod. P : 159.
- **Philippon. A. (1995).** Quelques bacilles à Gram négatif aérobies stricts non fermentaires et sensibilité aux antibiotiques. Lett. Infectiol. 10. P : 619.
- **Porter.N. (2001).** Essential oils and their production. Grop & Food Research; 39p. Smallfield B., (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research; 45-49.

## R

- **Recommandation d'SFM. (2005).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.
- **Riov. J, Gottlieb. H.E. (2006).** Metabolism of auxin in pine tissues: Indole-3-acetic acid conjugation. *Physiologia Plantarum*.50 :347-352.
- **Rizk. A.M. (1982).** Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia*. 52 (2) : 35- 42.
- **Ruch. R, Cheng. S.J, klaunig. J.E. (1989).** prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from chinese green tea, *carcinogenesis* 10 :1003-08.

- **Ryan. D, Robards. K, Lavee. S. (1999).** Changes in phenolic content of olive during maturation. *International Journal of Food Science and Technology*. Vol 34, No 3: 265–274.

## S

- **Sine.J.P. (2003).** Séparation et analyse des biomolécules: méthodes physicochimiques cours et exercices. *Ellipses Edition marketing S A* : 99-101.
- **SFM.(2013).**Comite de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommandations : pp60.
- **Sofowora. A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique., Edition Karthala., p.22.
- **Sousek. KJ, Guedon. D, Adam. T, Bochorakova .H, Taborska. E, Valka. I et Simanek.A. (1999).** Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* species. *Phytochemical Analysis*. 10 : 6-11
- Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS., (1999).
- **Sturm, Strasser.E.M, Stuppner. H. (2005).** Quantification of *Fumaria officinalis* isoquinoleiques alkaloids by nonaqueous capillary electrophoresis-electrospray ion trap mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, (1112). P:331-338.
- **Sweeney. S, Palmer. B, Neill. D, Krause. D. (2001).** Microbial interaction with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91 : 83-93

## T

- **Tepe. B, Daferera. D, Sokmen. A, Sokme. M, Polissiou.M. (2005).** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*. 90: 333-340.
- **Torck .M, et al. (1971).** Flavonoids of *Fumariaofficinalis* L. *Ann Pharm Fr.* 29:591-596
- **Torres. R. (2006).** Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappusmultifolius*; *Phytochemistry* 67. Ed : ELSEVIER. P : 984-987.

- **Tuğçe.F.E. (2009).** Brine Shrimp Lethality Bioassay of *Fumaria Densiflora* Dc. and *Fumaria Officinalis* L. Extracts. *Journal of the Faculty of Pharmacy*, 28 (2): 125-132.

W

- **Wolfgang. H. (2008).** 350 plantes médicinales. Delachaux et Niestlé SA, Paris : pp256.
- **Wong. C, Li H.B, Cheng. K.W, Chen F. (2006).** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* 97: 705-711.

Z

- **Zenk. M.H, JUENGER. M.(2007).** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds, *Phytochemistry Review* 68, 2757 – 2772.

**Site internet :**

(1) <https://www.aujardin.info/plantes/fumaria-officinalis.php> Consulté le (10.05.2019)

## Glossaire botanique

**Alternes** : disposition isolée des organes spécialement des feuilles sur la tige.

**Bisannuelle** : une plante qui vive deux années.

**Espèce** : Niveau de base du système de classification biologique

**Feuille** : Expansion latérale de la tige d'une plante caractérisée par sa forme aplatie, sa symétrie bilatérale et ses dimensions définies.

**Fleur** : Organe de reproduction des plantes en faisant abstraction des pièces du périanthe

**Fruit** : Structure se développant à partir de l'ovaire, après la fécondation, chez les plantes à fleurs. Il contient les graines.

**Glaucous** : du grec [glaukos] (« vert pâle ») désigne une couleur claire qui fait partie du champ chromatique des verts grisés.

**Grimpante** : Plante dont la tige s'élève en s'accrochant aux corps voisins (arbre, mur, échelas...).

**Herbacée** : toute plante vivace, qui n'a pas de tige ligneuse persistante au dessus du sol, ou dont l'aspect est de la nature de l'herbe verte par opposition à ce qui est ligneux

**Mucilage** : Substance visqueuse extraite des végétaux (Algues) à base des glucides, les mucilages donnent de l'arabinose et du galactose

**Plantes annuelles** : sont des plantes dont le cycle de vie, de la germination jusqu'à la production de graines, ne dure qu'une année.

**Pesticides** : une substance chimique utilisée pour lutter contre des organismes considérés comme nuisibles.



## Glossaire médicale

**Analgésique =antalgique** : Les antalgiques ou analgésiques sont des médicaments utilisés en médecine dans le traitement de la douleur (antalgie ou analgésie) d'un patient.

**Antagoniste** : En pharmacologie et en électrophysiologie, un antagoniste est une molécule interagissant avec un récepteur membranaire et bloquant ou diminuant l'effet physiologique d'une autre molécule. L'antagoniste ne possédant pas de propriétés sur ce site de fixation (récepteur) il empêche la fixation d'un ligand endogène.

**Anti-inflammatoire** : Il s'agit d'un groupe de médicaments destinés à traiter une réaction inflammatoire et les maladies qui en résultent telles que les manifestations rhumatismales.

**Antioxydant** : Substance réagissant rapidement avec les hydro-péroxydes et les radicaux libres, et empêchant l'initiation ou la propagation d'une chaîne d'auto-oxydation.

**Bactériostatique** : arrête la multiplication des bactéries sans les détruire

**Bactéricide** : Détruit et tue les bactéries.

**Cholagogue** : Une substance cholagogue (aussi appelée cholécystokinétique) a pour effet de faciliter l'évacuation de la bile vers l'intestin en provoquant une chasse biliaire à partir de la vésicule qui se vide en se contractant. (**Applications thérapeutiques**)

**Eczéma** : est une affection cutanée dont les symptômes sont : une inflammation, une desquamation de la peau, des rougeurs et l'apparition de phlyctènes

**Hypertensive** : Augmentation de la tension.

---

## Annexe 1

### 1. Matériel screening phytochimique

#### ✚ Les produits chimiques et les réactifs :

L'alcool, soude, l'eau distillée, HCl, Perchlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ), réactif de Stiasny, acétate de sodium, éthanol, réactif de Mayer, acide tartrique, la liqueur de Fehling, chloroforme, anhydride d'acétate ( $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$ , méthanol  $\text{MeOH}$ , butanol, acide acétique, le réactif Folin-Ciocalteu, carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , l'acide gallique.

#### ✚ Les équipements :

- Balance de précision (Explorer Pro)
- Balance (BB310) et (Sartorius).
- Verrerie.
- Agitateur vortex (Snijders 34524).
- Eppendorf.
- Rotavapor R-215 (Bûchni).
- Spectrophotomètre (JENWAY 6305).
- Bain-marie, cuve de la chromatographie.
- Lampe UV, chambre noir
- Les plaques en gel de silice de type Silice gel 60F 254 de 0,25 mm d'épaisseur, sur feuille d'aluminium ou de verre.
- L'hôte

### 2. Matériel de l'activité antioxydant

#### ✚ Produit utilisés

DPPH. (2,2 diphenyl 1 picryl hydrazyl), acide ascorbique, méthanol, L'acide thiobarbiturique (TBA-rs essai), jaune d'œuf, KCl, méthanol  $\text{MeOH}$  l, acide acétique, dodécylsulfate de sodium (SDS), butanol, peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$ , tampon phosphate (0,1 ;  $\text{Ph} = 7,4$ ).

#### ✚ Les équipements :

- Spectrophotomètre (JENWAY 6305).
- Chambre noir, ultrasons, vortex, Verrerie.
- Bain-marie.
- Centrifugeuse (sigma).
- Tube.

### 3. Matériel bactériologique

#### + Produit utilisés

L'eau physiologique, méthanol MeOH, les antibiotiques, BaCl<sub>2</sub>, La gélose de Mueller Hinton (MH), Gélose nutritive (GN).

#### + Les équipements :

- Autoclave
- Four pasteur
- Etuve
- Verrerie, écouvillon, boites de pétri, anse
- Réfrigérateur
- Papier Whatman

## Annexe 2

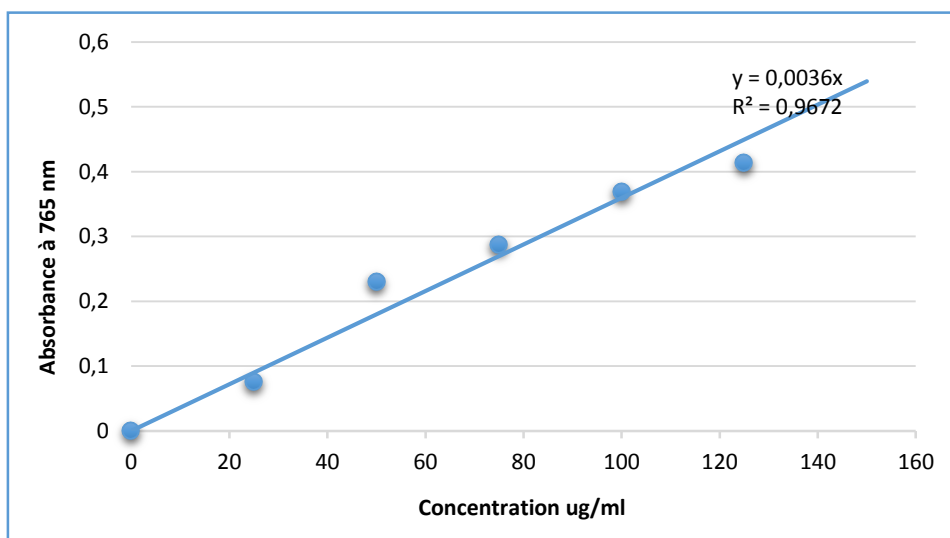
### 1. Solution préparées

- **Réactif de Stiasny** (10ml de formol à 40% et 5ml d'HCl concentré),
- **Réactif de Mayer** (5g de KI + 1,358g de HgCl<sub>2</sub> solubilisés dans 100 ml d'eau distillée).
- **Préparation de la solution 0.5 Mac Farland** : Cette solution représente le mélange d'une solution de BaCl<sub>2</sub> à 1% et de l'acide sulfurique à 1%
- **Solution de BaCl<sub>2</sub> à 1%** : 1g de BaCl<sub>2</sub> dans 100 ml d'eau distillée
- **L'eau physiologique** : 9g de NaCl pour litre d'eau distillée. Après préparation, stériliser cette solution et la conserver à 4°C jusqu'à son utilisation.

### 2. Préparation des milieux de cultures

- **Gélose nutritive (GN)** : un milieu d'isolement non sélectif, utilisé dans le but de repiquer la bactérie ou de la purifier si elle est contaminée.
- **La gélose de Mueller Hinton (MH)** : c'est un milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et toutes autres substances qui possèdent une activité antimicrobienne.

## Annexe 3



Droite d'étalonnage de l'acide gallique