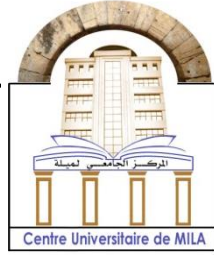


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

**Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila**

**Institut des Sciences et de la Technologie**

**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de**

**Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences biologiques**

**Spécialité : Biochimie appliquée**

**Thème :**

**Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et  
anticoagulante de *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L.**

**Présenté par :**

- **LATMANE Rania**
- **YAHIA Hanaa**
- **GOUTAL Maroua**

**Devant le jury :**

❖ <b>HADEF. S</b>	<b>(MCB)</b>	Centre universitaire de Mila.	<b>Présidente</b>
❖ <b>KELLAB. R</b>	<b>(MAA)</b>	Centre universitaire de Mila	<b>Examineur</b>
❖ <b>BOUKERIA. S</b>	<b>(MCA)</b>	Centre universitaire de Mila	<b>Promotrice</b>

**Année Universitaire : 2021/2022**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قال تعالى { وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مَاتَرَ اكْبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَُمْ لآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ } (الأنعام، 99)

{ وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ } (الأنعام، 141)

{ فِيهِمَا فَاكِهَةٌ وَنَخْلٌ وَرُمَّانٌ } (الرحمن، 68)

# Remerciement

Louange à Dieu le tout puissant qui nous 'a donné du courage, de la volonté, l'espérance et la patience pour finaliser ce travail.


Nous exprimons nos profonde reconnaissance et nos sincères remerciements à notre promotrice *Dr .BOUKERIA Sabah* de ce mémoire pour son aide inestimable ses encouragements continuels et les discussions scientifiques enrichissantes, il a été toujours présent avec ses conseils judicieux et pleins de sagesse.

Nous remercions vont à les membres du jury qui vont juger ce travail :

Mlle **Hadef sawsen** , enseignante au Centre Universitaire de Mila, d'avoir accepté de présider le jury de soutenance. Nous tenons à signaler que sa présence en tant que présidente nous honore.

*Mr Kellab Rabah* , enseignant au Centre Universitaire de Mila, d'avoir accepté de juger ce travail et de nous avoir honorés par sa présence. Qu'il trouve ici toute notre gratitude .

Nous remercions particulièrement Docteur MIROUH propriétaire du laboratoire d'analyse médicale pour l'aide qu'il nous a présenté .



On remercie tous les membres de l'équipe du laboratoire de  
l'université Abdelhafid BOUSSOUF-Mila pour leur aide précieuse.

Enfin nous voudrions dire merci A toutes les personnes qui nous ont  
aidé de proche ou de loin.

*Merci*

# *Dédicace*

*C'est avec une immense joie et un grand honneur que je dédie  
ce modeste travail:*

- ♥ *A la lumière de mes yeux, au bonheur de ma vie, ma mère « **Nadjet** »  
Qui m'a soutenu son appui durant toutes mes années d'étude, pour ses  
sacrifices et soutien qui m'ont donné la confiance, le courage et  
la sécurité .*
- ♥ *A l'exemple de ma vie, mon très chère père « **Ahmed** »  
Qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études,  
pour son sacrifice, ses conseils et ses encouragements.*
- ♥ *A ma seul chère petite soeur: **Ghada** pour leur encouragement dans les  
moments difficile Merci pour votre amour.*
- ♥ *A mes chers frères: **Abd Eraouf** et **Yasser Diaaeddine** je vous souhaite  
beaucoup de réussite et de bonheur Je vous aime.*
- ♥ *A mes fidèles amies: **Selma, Ibtihal ,Amira** et ceux qui m'ont tout donné  
sans rien en retour*
- ♥ *A tous mes grandes familles : **Latmane et Natouri***
- ♥ *A mes binomes : **Hanna et Maroua***
- ♥ *A mon fiancé **Hassane** : tout est beau dans ma vie , merci pour ton  
soutien*
- ♥ *A ma chère enseignante Docteur **BOUERIA Sabah** , qui n'a jamais hésité  
de m'encourager , son dynamisme , son aide , ses conseils , ses  
connaissances scientifiques , je la remercie pour ses soutient permanent  
. Merci beaucoup*

*Rania*

# *Dédicace*

*Grace a la volonté divine d'Allah notre dieu tout puissant et bien veillant qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste travail, que je dédié*

♥*À la chose la plus précieuse que j'ai, à celles qui représentent les femmes du monde ensemble, source d'amour et de tendresse, à celle qui n'a jamais dit non à mes exigences qui peut me supporter dans mes moments les plus difficiles de l'étude, mon très cher mère Menzel Nadia*

♥*A la prunelle de mes yeux, l'homme de ma vie, mon modèle, la lumière de mon chemin, le symbole du sacrifice pour notre réussite, mon très cher père Saïd. Je souhaite que j'aie réalisé l'un de vos rêves par ce modeste travail. Puisse Dieu vous accorder longue vie pleine de santé et de bonheur.*

♥*A mes chers frère et sœur : Anfel et Mohammed*

♥*A Ma très chère grand-mère.*

♥*A tous mes grandes familles : Yahia et Menzel*

♥*A mes amis pour chaque moment joli, j'ai vécu avec vous .*

♥*A mes binômes : rania et maroua.*

♥*A ma chère enseignante Docteur Boukria sabah , qui n'a jamais hésité de m'encourager ,son aide ,ses conseils, ses connaissances scientifiques , je le remercie pour ses soutient permanent.*

♥*A tous mes enseignants depuis le primaire jusqu'à l'université*

♥*A tous mes collègues de la promotion de Master II Biochimie appliquée (2021-2022) .Merci beaucoup*

*Hanaa*

# Dédicace

♥ A L'aide d'Allah ; Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude  
Mes très chers parents :

♥A toi Maman **Khadija** qui m'a donné la vie, qui m'a donné tout ton amour  
et fait de moi ce que je suis.

♥Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvré de tendresse, ta prière et la  
bénédictioin m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes étude .

♥ A toi mon cher papa **Slimane** qui m'a élevé, qui m'a appris tout de chose  
et qui a tout fait pour que je ne manque de rien. ; vous avez toujours été mon  
école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour

♥Vous êtes et vous restez por moi ma référence , la lumière qui illumine  
mon chemin .

♥ A Mon mari **S.Bilal** pour l'amour et l'affection qui nous unissent ; je ne  
soutien exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as  
toujours fait preuve tu m'as toujours encouragé ,incité à faire de mon mieux ,  
ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu . Ainsi qu'à vous mon  
frères **Hicham** et sa femme **Meriem** et mes sœurs **Nadjat, Dounia, Kaltoum** et  
Surtout ma sœur **Amina**

♥A toutes mes nièce et mes neveux , grand et petit

♥A toutes les personnes qui m'ont soutenu pendant ce travail et qui m'ont  
apporté leur aide et surtout mes amis : **Rania, Hanna**

♥ Et enfin à toutes les personnes chères à mon cœur qui se reconnaîtront  
surement.

♥ A ma chère enseignante Docteur **BOUKERIA Sabah** , qui n'a jamais  
hésité de m'encourager , son dynamisme , son aide , ses conseils , ses  
connaissances scientifiques , je la remercie pour ses soutient permanent . Merci  
beaucoup

*Maroua*

## Résumé

De nos jours, le retour à la nature est l'option choisie pour tout le monde à cause des effets indésirables des produits chimiques, pour cela nous avons choisi deux sortes de plantes à grand usages dans la médecine traditionnelle : Grenade (*Punica granatum* L.) et Germendrie tomenteuse (*Teucrium polium* L.) qui appartiennent respectivement aux familles de Lytraceae et Lamiaceae .

L'objectif de ce travail est de réaliser une étude comparative entre ces deux plantes à travers un criblage biochimique de l'extrait éthanolique des deux plantes, et le dosage des polyphénols totaux des deux extraits (méthanolique et aqueux) selon la méthode de Folin ciocalteau. Cette étude concerne également l'évaluation de deux activités biologiques (anticoagulante et antibactérienne).

Les résultats obtenus ont montré l'existence de différentes familles de composés chimiques du métabolisme secondaire chez les deux espèces étudiées.

Après macération méthanolique et aqueux, et évaporation des extraits de *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L. Nous avons obtenu un rendement en extraits méthanoliques sec estimé par 21,3 % et de 5,80 % respectivement, quant à l'extrait aqueux, il a donné un rendement estimé par 15,5% et de 4,90 % respectivement.

L'évaluation de l'activité anticoagulante des deux extraits (méthanoliques et aqueux) *in vitro* a été effectuée en utilisant le test de Quik (TQ) et test de TCK. Le temps de coagulation obtenu du plasma naturel nous a montré que la grenade (*Punica granatum* L.) n'a aucun effet anticoagulant, par contre les résultats des extraits de la germendrie tomenteuse (*Teucrium polium* L.) ont été positifs.

L'étude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et aqueux à différentes concentrations à travers le processus de diffusion par le disque, montre que les résultats obtenus donnent un effet négatif chez *Teucrium polium* L. sur tous les types de bactéries étudiés (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus Cereus*), tandis que les extraits des écorces de grenade (*Punica granatum* L.) ont montré un effet négatif avec les deux sortes de bactéries (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) et un effet positif avec (*Bacillus Cereus*), où les écorces de grenade donnaient une zone d'inhibition avec un diamètre de 11,5 mm avec l'extrait méthanolique et de 11mm avec l'extrait aqueux, ces résultats sont faibles par rapport aux résultats obtenus par les antibiotiques utilisés (Triméthoprim-sulfaméthoxazole SX et GentamicineCN 10), (23mm, 30mm) respectivement

**Mots clé :** *Punica granatum* L., *Teucrium polium* L., Polyphénols totaux, Activité anticoagulante, Activité antibactérienne, Screening phytochimique.



## Abstract

Today, returning to nature is an option for everyone due to the undesirable effects of chemicals. That is why we have chosen two well-known types of medicinal plants commonly used in traditional medicine . Pomegranate (*Punica granatum* L.) and mountain germander (*Teucrium polium* L.) belong to the family of ( Lythraceae , Lamiaceae) respectively .

This study aims to make a comparison between these two types of plants by biochemical assay to identify different chemical groups exists in the ethanolic extract of the two plants which showed the presence of different species ( types ) of chemical compounds for secondary metabolism that exist at different levels in each plant followed by extraction of total polyphenols for the methanolic and aqueous extracts depending on Folin cioclteau method .

After the process of soaking in both methanol and water and the evaporation process for each of *Punica granatum* L. and *Teucrium polium* L., we obtained 21,30% and 5,80 % yielded from methanol respectively whereas aqueous extracts have an estimated yield of 15,5% and 4,90% respectively.

evaluate the anticoagulant activity of both methanolic and aqueous extracts in the laboratory using TQ and TCK tests. It has shown the clotting time obtained from normal plasma, that pomegranate has no clotting activity while mountain germander its results were positive.

studied the antibacterial activity for both methanol and aqueous extracts at different concentrations by the disc diffusion process where the results indicated the presence of negative activity in mountain germander on all types of bacteria studied ( Bc, Ps , E coli ) ; as for the pomegranate peels , there was a negative activity with (Ps , E coli ) and positive activity with (Bc) . where pomegranate peels has given an inhibition area with a diameter of 11,5mm in the methanolic extract and 11mm in aqueous extracts. These results are very weak comparing with results obtained according to the antibiotics (**Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25 , Gentamicine CN 10**) (23mm ,30mm) respectively.

**Keywords :** Pomegranate , Mountain germander , Total polyphenols , Anticoagulant activity , Antibacterial activity , Biochemicals assay.

## ملخص

اليوم تعد العودة الى الطبيعة خيارا للجميع نظرا للأثار الغير مرغوب فيها للمواد الكيميائية لهذا اخترنا نوعين من النباتات الطبية الشائعة الاستعمال في الطب التقليدي. الرمان . *Punica granatum L* و *Teucrium polium L* ينتميان الى عائتي *Lamiaceae* و *Lythraceae* على الترتيب.

تهدف هذه الدراسة الى اجراء مقارنة بين هذين النوعين من النباتات عن طريق معاينة بيوكيميائية للمستخلص الايثانولي للنبتين ، و استخراج البوليفينول الكلي للمستخلصين (الميثانولي والمائي) وذلك بالاعتماد على طريقة Folin ciocalteau. تتعلق هذه الدراسة أيضا بتقييم نشاطين بيولوجيين (مضاد التخثر و مضاد البكتيريا).

أظهرت النتائج المتحصل عليها وجود عائلات مختلفة من المركبات الكيميائية للايض الثانوي في النوعين المدروسين .

بعد عملية النقع في كل من الميثانول والماء وعملية التبخير لكل من *Teucrium polium L* تحصلنا على المردود المستخلص من الميثانول يقدر ب 21.30% و 5.80% على الترتيب اما المستخلص المائي اعطى مردودا يقدر ب 15.5% و 4.90% على الترتيب.

دراسة تقييم النشاط المضاد للتخثر لكل من المستخلصين الميثانولي والمائي في المخبر باستخدام اختبار زمن كويك TQ واختبار TCK وقد اظهر زمن التخثر المتحصل عليه من البلازما الطبيعية ان الرمان ليس لديه أي نشاط مضاد للتخثر اما عن خياطة الجراح فالنتائج كانت إيجابية.

دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصين الميثانولي والمائي وبتراكيز مختلفة عن طريق عملية الانتشار بواسطة القرص حيث ادلت النتائج بوجود نشاطا سلبيا عند خياطة الجراح على كامل أنواع البكتيريا المدروسة ( *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Bacillus Cereus* ) ، اما قشور الرمان أظهرت نشاطا سلبيا مع النوعين *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* . ونشاطا إيجابيا مع *Bacillus Cereus* ، حيث أعطت قشور الرمان منطقة تثبيط بقطرا يقدر ب 11.5 مم في المستخلص الميثانولي و 11 مم في المستخلص المائي ، هاته النتائج ضعيفة جدا مقارنة بالنتائج المتحصل عليها بالنسبة للمضادات الحيوية المستعملة ( Trimethoprim- sulfamethoxazole SXT25 و Gentamicine CN 10 ) (23 مم، 30مم) على الترتيب.

**الكلمات المفتاحية :** الرمان، خياطة الجراح ، البوليفينول الكلي، نشاط المضاد للتخثر، نشاط مضاد للبكتيريا ، المعاينة البيوكيميائية .

**Table des matières**

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

***Partie 01 Synthèse bibliographique***

***Chapitre I : Généralités sur les plantes «Punica granatum L.» et «Teucrium polium L.»***

I.1. *Punica granatum* L ..... 3

    I.1.1. Introduction..... 3

    I.1.2. Historique..... 3

    I.1.3. Classification botanique..... 3

    I.1.4. Nomenclature ..... 4

    I.1.5. Variétés de grenade..... 5

    I.1.6. Description morphologique : ..... 8

        I.1.6.1. Feuilles ..... 9

        I.1.6.2. Fleurs ..... 9

        I.1.6.3. Fruits..... 10

        I.1.6.4. Ecorces des fruits..... 11

    I.1.7. Composition biochimique : ..... 11

        I.1.7.1. Feuilles ..... 11

        I.1.7.2. Fleurs ..... 11

        I.1.7.3. Fruits..... 11

I.1.7.4. Ecorces des fruits.....	12
I.1.7.5. Racines et écorce de l'arbre.....	12
I.1.8. Culture.....	12
I.1.9. Récolte .....	12
I.1.10. Valeur nutritionnelle de grenade.....	13
I.1.11. Utilisation de grenade : .....	13
I.1.11.1. Utilisation alimentaire .....	14
I.1.11.2. Utilisation industrielle : .....	15
I.1.11.3. Utilisation médicinale.....	15
I.1.12. Evolution thérapeutique récente du <i>Punica granatum L.</i> ....	16
I.1.13. Toxicité de la grenade .....	21
I.2. <i>Teucrium polium L.</i> .....	21
I.2.1. Introduction.....	21
I.2.2. Historique.....	21
I.2.3. Classification botanique.....	22
I.2.4. Nomenclature (Bonnier, 1990) .....	22
I.2.5. Description morphologique .....	22
I.2.6. Habitat et répartition géographique .....	23
I.2.7. Composition chimique de la plante.....	24
I.2.8. Culture : .....	24
I.2.8.1. Plantation.....	24
I.2.9. Propriétés d'utilisation traditionnelles et médicales .....	24
I.2.10. Données pharmacologiques .....	25
I.2.11. Toxicité de la plante.....	26
 <b><i>Chapitre II : Les plantes médicinales et les métabolites secondaires</i></b> 	
II.1. Les plantes médicinales :.....	27

II.1.1. Historique des plantes médicinales.....	27
II.1.2. Définition d'une plante médicinale .....	28
II.2. Métabolites secondaires : .....	28
II.2.1. Classification des métabolites secondaires :.....	29
II.2.1.1. Terpénoïdes .....	29
II.2.1.2. Alcaloïdes.....	29
II.2.1.3. Polyphénols .....	31
II.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques .....	36
II.2.3. Rôles des polyphénols : .....	37
II.2.3.1. Rôle biologique .....	38
<b><i>Chapitre III : Les activités biologiques des deux espèces « Punica granataum L. » et « Teucrium polium L. »</i></b>	
III.1. Activité anti bactérienne : .....	39
III.1.1. Définition d'un antibactérien .....	39
III.1.2. Infections bactériennes .....	39
III.1.3. Généralités sur les souches bactériennes testées : .....	39
III.1.4. Les antibiotiques : .....	41
III.1.4.1. Définition .....	41
III.1.4.2. Classification des antibiotiques : .....	41
III.1.5. Mode d'action des antibiotiques : .....	42
III.1.5.1. Méthode de l'aromatogramme.....	43
III.1.5.2. Méthode du puits ou cylindre .....	44
III.1.5.3. Méthode de dilution .....	44
III.2. Activité anticoagulante : .....	45
III.2.1. Notion de l'hémostase .....	45

III.2.2. Plaquettes sanguines.....	45
III.2.3. Coagulation du sang : .....	46
III.2.3.1. Définition .....	46
III.2.3.2. Facteurs de coagulation .....	46
III.2.4. Déroulement de la coagulation : .....	48
III.2.4.1. Voie endogène ou intrinsèque .....	48
III.2.4.2. Voie exogène ou extrinsèque.....	48
III.2.5. Anticoagulants.....	49
III.2.5.1. Héparines .....	49
III.2.5.2. Les anti vitamines K .....	50
III.2.5.3. Les nouveaux anticoagulants .....	50

## ***Partie 02 : Etude expérimentale***

### ***Chapitre I : Matériel et méthodes***

I.1. Matériel et Méthodes : .....	52
I.1.1. Matériel végétal .....	52
I.1.2. Matériel de laboratoire .....	52
I.1.3. Méthodes.....	52
I.1.3.1. Préparation du matériel végétal .....	52
I.1.3.2. Analyse qualitative (Screening phytochimique) : .....	53
I.1.3.3. Extraction des polyphénols totaux .....	55
I.1.1.1.1. Préparations des extraits végétaux.....	55
I.1.4. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de Folin Ciocalteu) : ...	58
I.1.4.1. Principe.....	58
I.1.4.2. Mode opératoire .....	58
I.1.5. Etude de l'activité anti – bactérienne : .....	59
I.1.5.1. Préparation du milieu de culture .....	60

I.1.5.2. Préparation des dilutions des extraits .....	60
I.1.5.3. Préparation de l' inoculum .....	60
I.1.5.4. Ensemencement et dépôt des disques.....	60
I.1.6. Etude de l'activité anti – coagulante :.....	61
I.1.6.1. Coagulation du sang .....	61
I.1.6.2. Evaluation de l'activité anticoagulante des extraits .....	61
I.1.1.1.2. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène :.....	62
I.1.1.1.3. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène :.....	65

## ***Chapitre II : Résultats et Discussion***

II.1. Résultats et discussion : .....	67
II.1.1. Screening phytochimiques.....	67
II.1.2. Extraction et dosage des polyphénols totaux : .....	75
II.1.2.1. Rendement en extrait brut .....	75
II.1.2.2. Dosage des polyphénols totaux.....	77
II.1.3. Activité anti bactérienne .....	81
II.1.3.1. Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques et de DMSO .....	81
II.1.3.2. Résultats de l'activité antibactérienne des deux espèces étudiées .....	83
II.1.4. Activité anti coagulante :.....	86
II.1.4.1. La voie exogène (TQ) .....	86
II.1.4.2. La voie endogène (TCK).....	88
Conclusion et perspectives .....	90

Références bibliographiques

Annexes

## Liste des abréviations

- **%** : Pourcentage .
- **ABS** : Absorbance.
- **ACE** : L'enzyme de conversion de l'angiotensine.
- **C** : Carbone.
- **°C** : Degré Celsius.
- **Ca** : calcium .
- **Cu** : Cuivre .
- **DX 9065a** : Dérivé synthétique de l'acide propanoïque qui inhibe directement le facteur.
- **EAG/g** : Equivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche.
- **EXA** : extrait aqueux.
- **EXM** : extrait méthanolique.
- **FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique.
- **F I** : Thrombine formé par les deux voies catalyse la conversion de fibrinogène.
- **F IX** : Facteur anti hémophilique.
- **F X I II a** : Facteur stabilisateur de fibrine.
- **FII a** : Facteur xa et la thrombine.
- **g** : Gramme.
- **g/l** : Rapport gramme par litre .
- **GP** : Glycoprotéine.
- **H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique.
- **H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phospho – molybdique.
- **H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phospho- tungstique.
- **HBMP** : Héparine de Bas Poids Moléculaire.
- **HCl** : Acide chlorhydrique.



- **HNF** : Héparine non fractionnée.
- **h** : Heur.
- **K** : Potasium.
- **K cal** : Kilocalorie.
- **KOH** : Hydroxyde de potassium.
- **Mg** : Magnésium.
- **mg** : milligramme.
- **Mg<sup>2+</sup>** : Magnésium.
- **MH** : Muller – Hinton.
- **min** : Minute.
- **mm** : millimètre.
- **N°** : Numéro.
- **Na** : Sodium .
- **Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium .
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium .
- **NH<sub>4</sub>OH**: Ammoniaque .
- **nm** : Nanomètre.
- **Pg** : *Punica granatum L.*
- **PL** : phospholipides.
- **PPP** : Plasma Pauvre en Plaquette .
- **R<sub>2</sub>** : Coefficient de corrélation.
- **REM** : Résidu méthanolique dilué dans l'eau
- **S** : Second.
- **T** : Température.

- **TCK** : Test de céphaline Kaolin.
- **TFPI**: Tissue Factor Pathway inhibitor).
- **TP** : Taux de Prothrombine.
- **Tpo** :*Teucrium polium L.*
- **TQ** : Temps de Quick.
- **ug** : Microgramme .
- **ul** : Microlitre.
- **V/V** : Rapport volume par volume.
- **Uv** : Ultra violet.

## Listes des figures

<b>Figure 01</b> : Arbre du grenadier .....	4
<b>Figure 02</b> : Grenadier ( <i>Punica granatum</i> L.) .....	8
<b>Figure 03</b> : les feuilles du grenadier .....	9
<b>Figure 04</b> : Les fleurs du grenadier .....	10
<b>Figure 05</b> : La grenade : (A) la baie, (B) les graines .....	10
<b>Figure 06</b> : les écorces de la grenade.....	11
<b>Figure 07</b> : Usages traditionnels du grenadier.....	14
<b>Figure 08</b> : Différentes types de consommation de la grenade .....	14
<b>Figure 09</b> : Aspect morphologique de <i>Teucrium polium</i> L. ....	23
<b>Figure 10</b> : Structure générale des composés polyphénoliques.....	24
<b>Figure 11</b> : Structure de la molécule d'isoprène.....	29
<b>Figure 12</b> : Structure de quelques alcaloïdes .....	31
<b>Figure 13</b> : Quelques acides phénoliques .....	32
<b>Figure 14</b> : Structure de base des flavonoïdes .....	33
<b>Figure 15</b> : Structure d'une molécule coumarine .....	33
<b>Figure 16</b> : Structure des deux types de tanins .....	34
<b>Figure 17</b> : Structure de saponoside .....	35
<b>Figure 18</b> : Structure d' anthocyane.....	36
<b>Figure 19</b> : Les voies du métabolisme cellulaire : Interrelation entre les métabolites primaires et les métabolites secondaires.....	37
<b>Figure 20</b> : <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique à différents grossissements. ....	40
<b>Figure 21</b> : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sous microscope électronique à différents grossissements. ....	40
<b>Figure 22</b> : <i>Bacillus Cereus</i> sous microscope électronique à différents grossissements.....	41
<b>Figure 23</b> : Modes d'actions des antibiotiques.....	43
<b>Figure 24</b> : Etapes de l'hémostase primaire .....	45

<b>Figure 25</b> : Cibles principale de la cascade de coagulation.....	49
<b>Figure 26</b> : sèche de <i>Teucrium polium</i> L.....	52
<b>Figure 27</b> : écorces sèches de <i>Punica granatum</i> L.....	52
<b>Figure 28</b> : Broyage et tamisage du <i>Teucrium polium</i> L. ....	53
<b>Figure 29</b> : Broyage et tamisage du <i>Punica granatum</i> L.....	53
<b>Figure 30</b> : Etapes de la macération méthanolique.....	56
<b>Figure 31</b> : Etapes de la macération aqueux.....	57
<b>Figure 32</b> : Etapes de dosage des polyphénols totaux.....	58
<b>Figure 33</b> : Protocole de dosage des polyphénols totaux.....	59
<b>Figure 34</b> : Etapes de préparation d'un pool plasmique.....	62
<b>Figure 35</b> : Réactif de thromboplastine (Tp).....	63
<b>Figure 36</b> : Représentation schématique des étapes d'étude de l'activité anticoagulante (TQ) .....	64
<b>Figure 37</b> : Réactif de céphaline kaoline (BIO-CK).....	65
<b>Figure 38</b> : Lécure des résultats de TCK.....	65
<b>Figure 39</b> : Représentation schématique des étapes d'étude de l'activité anticoagulante(TCK .....	66
<b>Figure 40</b> : Rendement d'extrait brut de <i>Punica granatum</i> L. ....	76
<b>Figure 41</b> : Rendement d'extrait brut de <i>Teucrium polium</i> L.....	76
<b>Figure 42</b> : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	78
<b>Figure 43</b> : Teneur en polyphénols totaux de <i>Punica granatum</i> L.....	79
<b>Figure 44</b> : Teneur en polyphénols totaux de <i>Teucrium polium</i> L. ....	80
<b>Figure 45</b> : Effet des antibiotiques et de DMSO sur les bactéries testées.....	83
<b>Figure 46</b> : Capacité anticoagulante des extraits méthanoliques , aqueux et RME de <i>Teucrium polium</i> L. vis-à-vis de la voie exogène.....	87
<b>Figure 47</b> : Capacité anticoagulante des extraits méthanoliques, aqueux et RME de <i>Teucrium polium</i> L. vis-à-vis de la voie endogène.....	89

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Classification botanique du grenadier .....	4
<b>Tableau 02</b> : Principales variétés de grenade dans le monde et en Algérie .....	6
<b>Tableau 03</b> : valeur nutritive de la grenade .....	13
<b>Tableau 04</b> : Classification botanique du <i>Teucrium polium</i> L. ....	22
<b>Tableau 05</b> : activités biologiques des composés phénoliques .....	38
<b>Tableau 06</b> : Facteurs de la coagulation plasmatique.....	47
<b>Tableau 07</b> : évaluation de l'effet antibactérienne selon diamètre d'inhibition.....	61
<b>Tableau 08</b> : Résultats d'analyse phytochimique des métabolites secondaire .....	67
<b>Tableau 09</b> : Résultats d'analyse phytochimique des métabolites secondaire .....	71
<b>Tableau 10</b> : Diamètres des zones d'inhibition des deux antibiotiques (témoin positif) testés et de DMSO (témoin négative).....	82
<b>Tableau 11</b> : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne testés par Les deux extraits de <i>Punica granatum</i> L . (en mm).....	84
<b>Tableau 12</b> : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne testés par .....	84



# *Introduction générale*

### Introduction générale

Depuis plusieurs années, l'utilisation des plantes médicinales ou des préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Ainsi, d'après les estimations, 80% de la Population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle (**Ghimiw, 2015**). Et près de 25% des prescriptions sont à base de plantes (**Kada, 2018**), tandis qu'environ 60% de prescriptions en Europe proviennent directement ou indirectement des plantes (**Ghimiw, 2015**). Plus de 80% de la population mondiale utilisent les plantes médicinales pour traiter plusieurs maladies. En effet, les substances naturelles d'origine végétale sont douées de plusieurs activités biologiques comme l'activité antioxydant, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antimicrobienne... etc. (**Kada, 2018**).

Le recours aux pratiques traditionnelles à base de plantes médicinales est expliqué par plusieurs raisons tels que le coût élevé des produits pharmaceutiques, les habitudes socioculturelles des populations, la nécessité de disposer d'options thérapeutiques pour les agents pathogènes résistants et l'existence des maladies pour lesquelles il n'y a pas de traitement efficace (**Ghimiw, 2015**).

Dans le contexte de recherche des remèdes naturels dotés de certains pouvoirs préventifs et/ou curatifs présentant le moins d'effets indésirables possibles et dans le but de la valorisation de la flore Algérienne, nous nous sommes intéressées à l'étude de deux plantes médicinales connues, mais méconnues pour ses vertus thérapeutiques. (**Alhijna et Bourich, 2017**).

L'objectif principal de ce travail est de présenter la description botanique, l'utilisation traditionnelle et les propriétés thérapeutiques de ces plantes et également s'insère dans le cadre de recherche d'une synthèse théorique portant sur l'évaluation de l'activité biologique des cultivars sucrés de *P. granatum* L. et *Teucrium polium* L. Dans le monde et en Algérie. Ce document détaillera :

La première partie consiste en une revue bibliographique, qui est constitué de trois chapitres :

- Le premier chapitre consiste en une présentation générale sur les deux plantes (*Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L)
- Le deuxième chapitre, donne un aperçu sur les plantes médicinales et ses métabolites secondaires

- Ensuite, le troisième chapitre qui englobe l'intérêt considérable qui existe actuellement sur les vertus médicinales et nutritionnelles de la grenade et de la Germandrée tomenteuse

Dans la deuxième partie, nous avons envisagé la partie expérimentale qui comporte deux chapitres :

- Le premier chapitre traite le matériel et les différentes méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail
- Le deuxième chapitre a regroupé l'ensemble des résultats obtenus avec leur discussion

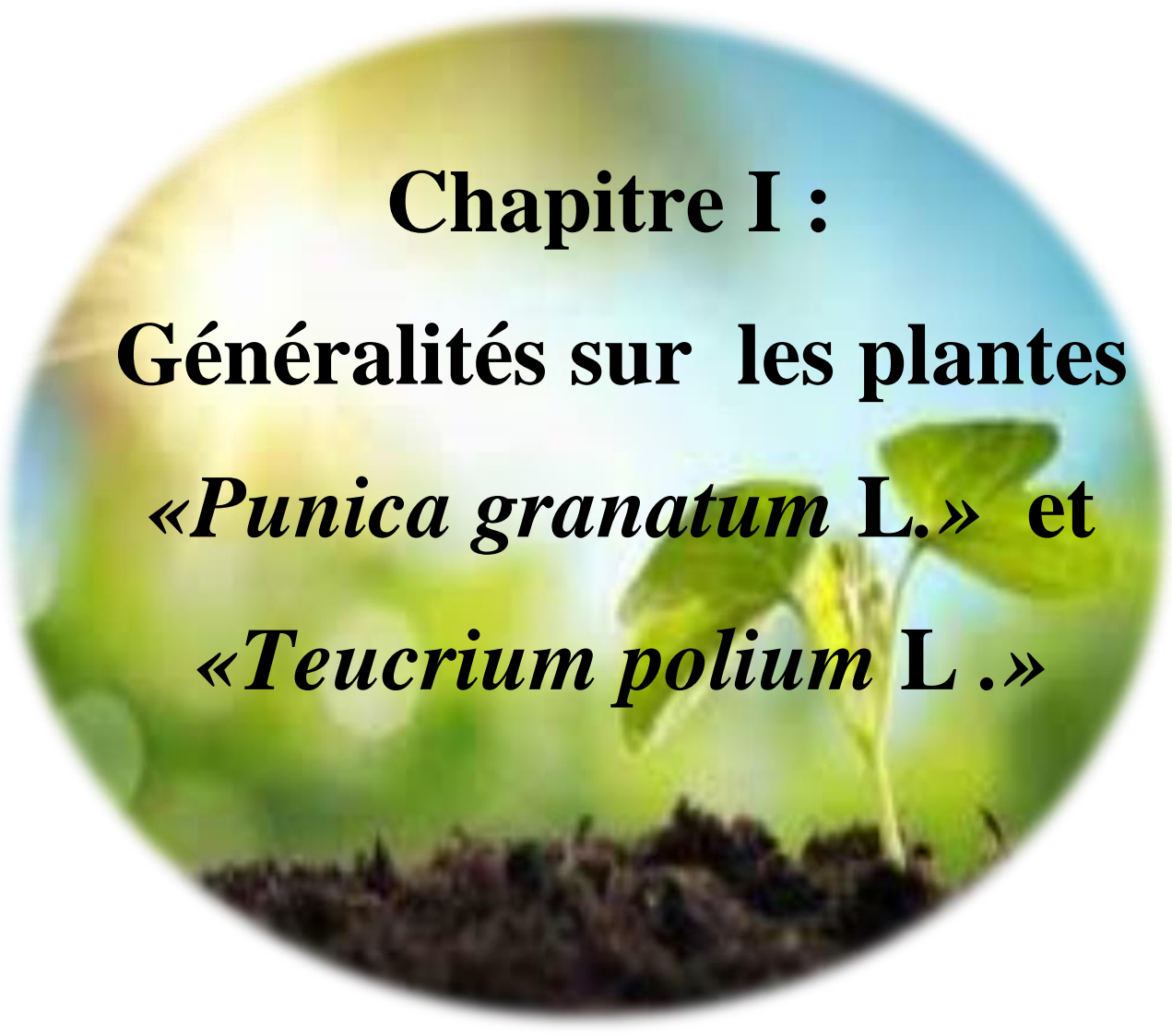
Enfin, on terminera notre travail par une conclusion générale sur les études réalisées et perspectives



# *Partie 01*

## *Synthèse bibliographique*





**Chapitre I :**  
**Généralités sur les plantes**  
**«*Punica granatum* L.» et**  
**«*Teucrium polium* L .»**

## I.1. *Punica granatum* L .

### I.1.1. Introduction

Depuis ces dernières années, une grande attention est accordée aux bienfaits de la consommation régulière des fruits et légumes sur la santé humaine. Cette valeur nutritive réside dans la grande variété de molécules biologiquement actives (fibres, composés phénoliques, vitamines etc. ...) (Tomas –Barberan and Gill, Spain 2008).

Le grenadier (*Punica granatum* L.) est l'un des fruits comestibles les plus anciens qui a été utilisé intensivement dans la médecine populaire de nombreuses cultures (Li et al ., 2006). Ainsi que ses graines, son écorce et ses fleurs sont utilisés depuis des milliers d'années pour leurs propriétés médicinales et thérapeutiques dans plusieurs régions où cet arbuste est originaire (bassin méditerranéen, moyen orient, sud de l'Asie) (Afaq .F et al ., 2005) .

C'est pour ces raisons que la culture de grenadier connaît un regain d'intérêt dans plusieurs pays en raison d'une demande assez forte de ces fruits sur le marché (Lansky and Newman, 2007) .

### I.1.2. Historique

La grenade est l'un des plus anciens fruits comestibles, qui n'a pas trop évolué, depuis la découverte de l'agriculture il y a plus de 1000 ans (Seeram et al., 2006 ; Çam et al., 2009). L'histoire de la grenade est liée au développement de l'humanité d'une manière impressionnante. Elle a une place importante dans le Judaïsme, le Christianisme, l'islam, le Bouddhisme et le Zoroastriens (Lansky et Newman, 2007). Il est dit qu'elle avait 613 graines qui représentent les 613 commandements de la Torah, même si cela n'a pas été confirmé dans les temps modernes (Hebert, 2006).

Aimée des caravaniers et navigateurs, sa pulpe gorgée d'eau et légèrement acidulée permet d'étancher la soif durant les longues traversées, elle est le symbole de la vie, fertilité, longévité, immortalité et divinité (Amjad, 2005 ; Lansky et Newman, 2007).

### I.1.3. Classification botanique

Le grenadier « *Punica granatum* L. » vient du latin « *Malum granatum* » qui signifie « Fruit à petits grains » (Cyr, 2017). Il a été décrit par Linné et introduit pour la première fois dans sa classification en 1753, qui a été révisée en 2003, par un groupe de botanistes, « Angiosperme Phylogénie Group » ou APG, donnant naissance à une nouvelle classification phylogénétique (Wald, 2009) (tableau 01) (figure 01).

Tableau 01 : Classification botanique du grenadier (WALD, 2009).

Ebranchements	Angiospermes
Sous ébranchements	Dicotylédones vraies
Classe	Rosidées
Ordre	Myrtales
Famille	Lythraceae
Genre	Punica
Espèce	<i>Punica granatum</i> L.



Figure 01 : Arbre du grenadier (Ilbert et al., 2016).

#### I.1.4. Nomenclature

Sur le marché, le *Punica granatum* L. est distribué et commercialisé sous différentes appellations :

- **Arabe** : الرمان (Al-romane)
- **Français** : grenadier
- **Nom scientifique** : *Punica granatum* L.
- **Nom commun** : grenade
- **Anglais** : pomegranate

- **Allemand** : Grenadierbaum, Granatapfelbaum, Granatbaum, Gemeine Granat, Balluster
- **Espagnol** : Granado cultivado, Mangrano
- **Italien** : Granato
- **Chinois** : Ngan Che Lieou, Shi Liu

#### I.1.5. Variétés de grenade




Il existe plus de 1000 variétés de *Punica granatum* L. En effet, la taille du fruit, la couleur de l'écorce et des graines, la dureté des pépins, la teneur en jus, l'acidité et l'astringence ainsi que la période de maturation sont les critères les plus utilisés pour les distinguer (Stover et, Mercure , 2007) .




- Couleur de la peau : du rouge foncé au jaune pâle rosé
- Couleur des arilles : du rouge très foncé au rose transparent (peu commercialisé)
- Goût des arilles : acide ou doux

A l'heure actuelle, aucune différence entre les variétés au niveau de la taille du fruit ou de caractéristiques agronomiques n'a été mise en évidence. Selon leurs caractéristiques sensorielles et leur teneur en sucre et acide, les grenades sont aussi classées en trois groupes variétaux : sucrées, aigres-sucrées et aigres (Martinez et al., 2006) (tableau02) .

Les principales variétés dans le marché mondial sont : Wonderful, Mollarde Elche, Acco, Hicaz et Shani. Les deux principales variétés produites en Algérie sont : Sefri et Kabylie (Betioui, 2017).

**Tableau 02** : Principales variétés de grenade dans le monde et en Algérie (Betoui, 2017) .

Variétés de grenade	Photos	Caractéristiques
Sefri		<p><b>Couleur</b> : jaune à rose  <b>Arilles</b> : rose clair – doux</p>
Kabylie		<p><b>Couleur</b> : rose  <b>Arilles</b> : violacé-doux</p>
Shani		<p><b>Couleur</b> : rouge  <b>Arilles</b> : rouge foncé – doux</p>

<p><b>Hicas</b></p>		<p><b>Couleur : rouge</b> <b>Arilles : rouge clair –</b> <b>Doux /acide</b></p>
<p><b>Acco</b></p>		<p><b>Couleur : rouge</b> <b>Arilles : rouge fonce –</b> <b>doux</b></p>
<p><b>Mollarde elche</b></p>		<p><b>Couleur : Rose /jaune</b> <b>Arilles : rouge clair –</b> <b>doux</b></p>

<p><b>Wonderful</b></p>		<p><b>Couleur : rouge foncé</b></p> <p><b>Arilles : rouge – doux/acide</b></p>
-------------------------	--	--

### I.1.6. Description morphologique :

Le grenadier est un arbre ou arbuste buissonnant ; La grenade (en allemand ‘pomme avec des grains’) ; provient d’un arbre adulte à feuilles caduques ou d’un arbuste à feuilles lancéolées. Ce dernier peut atteindre entre 5 et 10 mètres de hauteur à rameaux nombreux et vivre jusqu’à 200 ans. (Wald, 2009). Il est touffu, très ramifié depuis la base du tronc et plus ou moins épineux. Le tronc est tortueux, à écorce grisâtre qui se ramifie en branches irrégulières, légèrement épineuses au sommet (BenYahkem et al., 2018). Il est cultivé, depuis longtemps pour un but ornemental ainsi que pour ses fruits comestibles.

Il fleurit au printemps, et en été en rouge corail. Les fruits savoureux bruns-rouges ont la forme d’une pomme qui serait dotée d’une couronne formée de sépales. Les grenades font partie des baies dans la mesure où leur chair n’est ni charnue, ni ligneuse. Leur peau durcie renferme des compartiments remplis de graines anguleuses. Les fruits ont leur place en cuisine. On peut les manger frais ou les boire sous forme de cidre. (figure02).



**Figure 02 :** Grenadier (*Punica granatum* L.)



### I.1.6.1. Feuilles

Les feuilles du grenadier sont opposées. Elles peuvent avoir une disposition alterne sur les rejets en touffes sur les pousses courtes. Elles sont glabres sur les deux faces (figure 03)

Ces feuilles entières, lancéolées, assez coriaces, et brillantes, présentent un limbe elliptique allongé, de 3 à 8 cm de long. Leur sommet peut être obtus ou allongé. Elles sont munies d'un court pétiole, de 1 à 5 mm de long, qui est généralement rougeâtre dessus (Gil M, Tomas – Barberan F, et al. 2000)



**Figure 03** : les feuilles du grenadier ( Gil M, Tomas – Barberan F, et *al.*, 2000).

### I.1.6.2. Fleurs

Aspect froissé et portées par un court pédoncule. Se trouvent soit, solitaire à l'aisselle des feuilles ou réunies par groupe de deux ou trois au sommet des branches (Hollande et al, .2009 et Ashton, 2006) (figure 04).

Sur le plan de la biologie florale , le grenadier est une espèce monoïque qui développe, sur le même arbre , des fleurs hermaphrodites ,fertiles en forme de vase , et des fleurs males stériles avec un style très court et des ovaires atrophié , en forme de cloche ( Melgarjo et Salazar , 2003)

A maturité, les fleurs sont d'un rouge éclatant, pourpre ou grenade selon les variétés, mesurant 3 cm de diamètre et ayant 5 à 8 pétales, souvent davantage sur les plantes cultivées

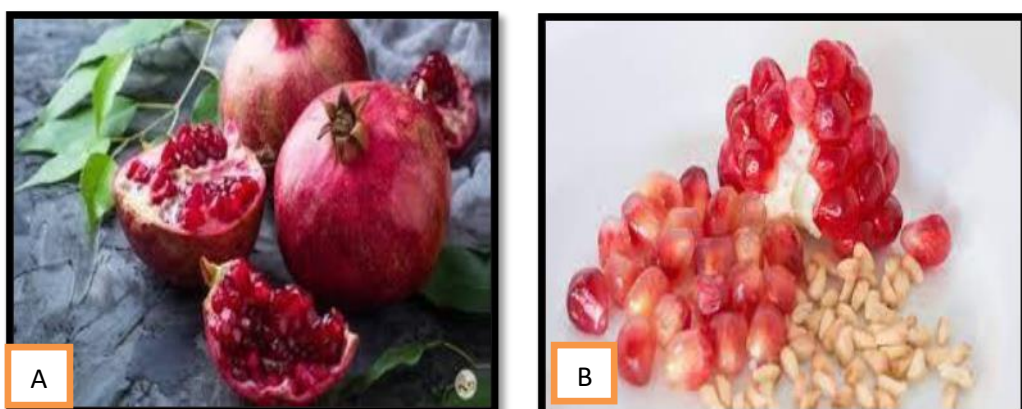
Leur nombre est généralement l'équivalent du nombre de sépale d'après les auteurs (Pande et al.,2006 ; Hmid , 2013 ; Teixeira da silva , 2013 . Hollande et al ,.2009).



**Figure 04 :** Les fleurs du grenadier (Hollande et al, 2009 et Ashton, 2006).

### I.1.6.3. Fruits

La grenade, fruit du grenadier, en forme de pomme, passant avec le temps du vert au rouge-orange, doit être considérée comme un cas limite de baie délimitée par la peau, un péricarpe épais, à l'intérieur duquel sont contenus de nombreux arilles. Chacun est constitué d'une graine (ou pépin) entourée de jus translucide contenu par une très fine membrane. Les arilles sont rencontrés dans des loges séparées par de minces membranes qui s'étendent à l'intérieur du fruit, donnant au niveau du péricarpe et constituant ainsi une base pour l'attachement des arilles (Dallas, 2010) (figure 05 ). Le fruit donne donc naissance à trois parties bien distinctes : les graines (environ 3% du poids du fruit) qui contiennent eux-mêmes 20% d'huile, le jus (environ 30% du poids du fruit) et la peau qui comprend également les membranes intérieures, dont la composition phytochimiques est détaillée dans les paragraphes suivants (Lansky et Newman., 2007).



**Figure 05 :** La grenade : (A) la baie, (B) les graines (Dallas, 2010).

#### I.1.6.4. Ecorces des fruits

L'écorce de la grenade (*Oumallicorium*) est la partie dure du fruit. Elle est généralement utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtres à l'extérieur, un peu verruqueux, brillants, jaunâtres sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient appliquées. La saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente (**Planchon, 1875**) (figure 06).



**Figure 06** : les écorces de la grenade (photo personnelle 2022) .

#### I.1.7. Composition biochimique :

##### I.1.7.1. Feuilles

Les Feuilles contiennent les mêmes polyphénols que l'écorce. Elles contiennent aussi des glycosides de l'apigénine, une flavone avec des propriétés progestiniques et anxiolytiques

##### I.1.7.2. Fleurs

La composition chimique des fleurs est identique à celle de l'écorce, mais elle n'est pas complètement élucidée. Des études sont en cours afin de déterminer leur effet thérapeutique (**Lansky et Newman, 2007**).

##### I.1.7.3. Fruits

La partie comestible des fruits de grenade se compose 40% des arilles (jus) et 10% des graines. Les arilles et les graines contiennent des sucres totaux. Principalement fructose et glucose, et pectine, acides organiques tels que l'acide ascorbique, l'acide étriqique, et les composés bioactifs tels que les composés phénoliques et les anthocyanines, du potassium, du phosphore et des minéraux, ainsi que divers vitamines dont une forte teneur en vitamine

C :20mg pour 100 g ( Joannet, 2009 ; Viuda Martos , Fernandez- lopez et Pérez – Alvarez .2010) .

#### **I.1.7.4. Ecorces des fruits**

L'écorce du fruit contient environ 25 % d'ellagitanins (Fabre et Ermosilla, 2008) et des flavonoïdes tels que Lutéoline, quercétine, et kaempferol Punicalagin et punicalin sont des ellagitanins spécifiques à la grenade (Seeram *et al.*,2006). L'écorce contient aussi des polysaccharides Complexes partiellement caractérisés (Jahfar *et al.*, 2003).

#### **I.1.7.5. Racines et écorce de l'arbre**

Les extraits préparés à partir des racines et écorce de l'arbre ont de puissants effets physiologiques. Leur composition chimique se distingue des autres parties de l'arbre par de forte concentration en alcaloïdes (Lansky et Newman, 2007).

#### **I.1.8. Culture**

Le grenadier peut pousser sur n'importe quel type de sol du moment que celui-ci est bien drainé. Il supporte même les sols calcaires et salins. Sa rusticité lui permet de tolérer des températures basses jusqu'à -12 °C, et sa robustesse, de supporter les hautes températures et la sécheresse de l'été. Ses fruits n'apparaîtront cependant que durant la période ensoleillée.

Durant les deux premières années suivant sa plantation, le grenadier devra être bien arrosé.

Après ces deux ans, l'arbuste sera suffisamment fort pour survivre avec des arrosages abondants tous les quinze jours. Pour éviter le phénomène connu sous le nom d'éclatement des fruits, il faut à tout prix éviter les arrosages durant la dernière semaine du mois d'août. L'eau de pluie suffira amplement au grenadier pendant ce laps de temps. En période hivernale ou dans une région froide, il vaut mieux opter pour une culture en bac pour préserver la plante des vents glacés de l'hiver.

#### **I.1.9. Récolte**

Les fruits du grenadier sont appelés grenades et se récoltent environ entre 135 et 160 jours après la floraison. Ces dates varient en fonction des variétés du climat. Il est facile de reconnaître quelles grenades sont à récolter, car les fruits mûrs ont une peau bien rouge qui commence à se fendre. Ses fruits sont très appréciés pour la préparation de jus et de sirop qui se conservent facilement pendant plusieurs mois dans une bouteille opaque et hermétique.

### I.1.10. Valeur nutritionnelle de grenade

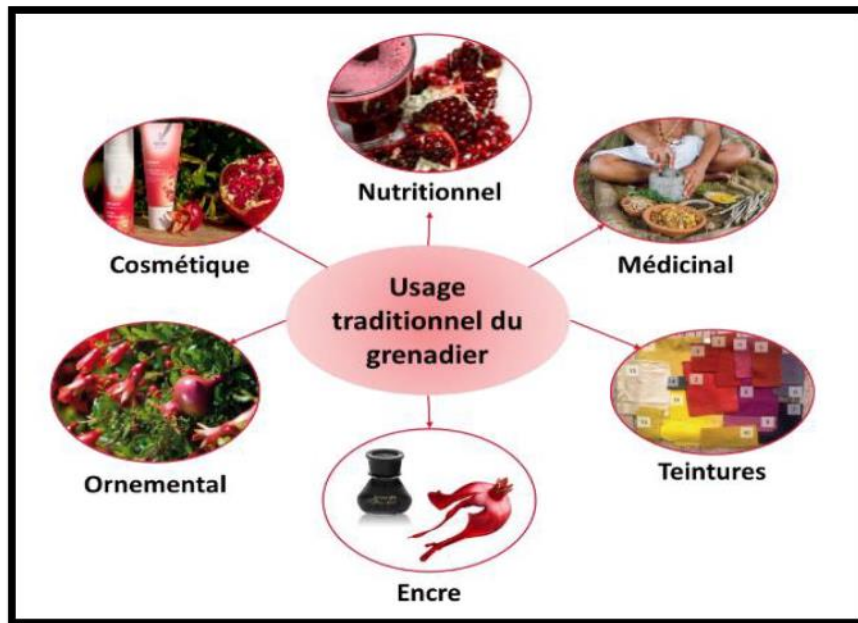
La grenade fournit en moyenne 68 k calories (285 k joules) pour 100 g de partie comestible. cette énergie est fournie surtout par les glucides constitués en proportions sensiblement égales du fructose et du glucose ( le saccharose n'est présent qu' en très faible quantités ) , protéines , lipides , acides gras , essentiellement les triglycérides (88%) , diacylglycérols (7%) et les phospholipides (3 %) , acide punique (65%) , acide linoléique(7%) par contre les fibres sont constituées presque en totalité par les fibres insolubles formant le tégument des grains alors que dans la pulpe débarrassée des grains et caractéristique juteuse vient de son importante teneur en eau ( tableau 03 ).

**Tableau 03** : valeur nutritive de la grenade (Usda, 2006 ; l'officiel, 2011).

<b>Grenade (Valeur nutritive pour 100g)</b>		
<b>Eau : 80,97 g</b>	<b>fibre : 0,6g</b>	<b>Calories : 68Kcal (285KJ)</b>
<b>Protéines : 0,95g</b>	<b>lipides : 0,30g</b>	<b>glucides : 17 ,1g</b>
<b>Sels minéraux et oligo – éléments</b>		
<b>Potassium : 0,250g</b>	<b>Sodium : 0,005g</b>	<b>Phosphore : 0,022g</b>
<b>Calcium : 0,011g</b>	<b>Magnésium : 0,005g</b>	<b>Fer : 0,001g</b>
<b>Vitamines</b>		
<b>Vitamine C : 0,02g</b>	<b>Vitamine B1 : 30ug</b>	<b>Vitamine B2 :20ug</b>
<b>Vitamine B5 : 50ug</b>	<b>Vitamine B6 :10ug</b>	<b>Vitamine A : 30ug</b>

### I.1.11. Utilisation de grenade :

A de soit traditionnellement utilisée dans l'alimentation courante, les différentes parties de grenadier sont utilisées en médecine traditionnelle dans plusieurs pays dans le monde depuis des centaines d'années. Grace aux recettes de grand-mères, cet arbre représente un candidat potentiel dans le cadre du développement de nouvelles stratégies préventives de l'apparition des diverses pathologies. D'autres utilisations sont également présentes comme les teintures naturelles, la décoration et en cosmétique (Sitzia, 2009) (figure 07).



**Figure 07 :** Usages traditionnels du grenadier (Sitzia,2009)

#### I.1.11.1. Utilisation alimentaire

La partie comestible de la grenade constitue environ 52% du poids du fruit (Abbasi *et al.*, 2008). Les grenades sont consommées de préférence fraîches ou en jus de grenadine rafraîchissant (Oukabli ,2004). La teneur en jus se situe autour de 35 à 50 ml/100 g de graines. C'est un fruit riche en vitamine C et en éléments minéraux (Oukabli ,2004). Dans certains pays, comme l'Iran, le jus de grenade est une boisson très populaire (Morton, 1987) (figure 08).



**Figure 08 :** Différentes types de consommation de la grenade (Oukabli, 2004)

**I.1.11.2. Utilisation industrielle :**✓ **Tannage du cuir**

Toutes les parties de l'arbre ont été utilisées comme sources de tannins lors du tannage des peaux. L'écorce du tronc contient 10 à 25% de tanins et était autrefois très utilisée dans la production du cuir au Maroc. L'écorce des racines contient 28% de tanins, les feuilles 11%, et l'écorce du fruit 26%. (Lloyd, 1897 ; Morton, 1987).

✓ **Teinture et colorant**

L'écorce du fruit et les fleurs sont utilisées pour teindre le textile. L'écorce de la grenade, a été utilisée en Inde comme une teinture depuis les temps les plus anciens (Lloyd, 1897 ; Morton, 1987). De l'encre a été produit à partir des feuilles en les macérant dans du vinaigre (Morton, 1987).

**I.1.11.3. Utilisation médicinale**

Le grenadier, qui dit-on a fleuri dans le Jardin d'Eden, a été largement utilisé en médecine traditionnelle dans de nombreuses cultures (Lansky *et al.*, 2000). La grenade est considérée comme un fruit complet dans le Coran. L'ancienne science médicinale indienne Ayurveda identifiée comme une plante médicinale. (Kulkarni *et al.*, 2004) .Dans le monde, la plus célèbre utilisation a été celle d'un vermifuge ou agent ténicide, tueur et expulseur des vers intestinaux.

L'écorce de grenade, les racines et les feuilles ont été utilisées en décoction pour traiter les diarrhées, les troubles digestifs et stopper les hémorragies. Les fleurs séchées sont utilisées pour guérir les bronchites et les inflammations buccales (Stover et Mercure, 2007). D'autres utilisations ont été mentionnées dans la littérature : empêcher la fécondation et avorter, traitement des morsures de serpent, du diabète, de la lèpre et des brûlures (Lansky *et al.*, 2000).

**I. 11.4. Autres utilisations**

Avec un extrait de la racine du grenadier, des tons bleu foncé peuvent être produits à l'aide d'une teinture de fer. Depuis des siècles, la peau et le jus de la grenade servent à teindre les tapis d'Orient. De plus, une encre noire peut être obtenue en cuisant les fruits, comme jais. En Inde, la peau de la grenade était utilisée pour teindre la laine dans des tons jaunes et noirs.

Les substances colorantes issues du grenadier sont utilisées de façon traditionnelle, au Maroc et aux cités-oasis de l'Asie centrale. Diverses méthodes de teinture permettent

d'obtenir cette large palette de couleurs. En effet, à partir du grenadier ces teintures sont obtenues (**Cardon, 2014**) :

- ✓ Les noirs des tentes des nomades du M'zab, en Algérie,
- ✓ Le jaune d'or des tapis de laine des Aït Ighezrane du Moyen Atlas,
- ✓ Les gris des soies des teinturiers de Yazd,
- ✓ Les brun-noir d'un tapis « Kagizman » du Nord-est de l'Anatolie,
- ✓ En Iran, et les noirs des soies des teinturiers de Boukkaraet de Samarkand, en Ouzbékistan

La plupart des techniques emploient des quantités comprises entre moitié et poids égal d'écorce par rapport au poids de fibres ou de tissus à teindre (**Sitzia, 2009**).

En Europe, l'industrie de l'impression des tissus intègre, au XIX<sup>ème</sup> siècle, l'écorce de grenade et la racine de grenadier dans la vaste gamme des teintures naturelles avec la mode du « gris de grenade » ou « gris argentin » à l'écorce de grenade et au sulfate ferreux, mais aussi des teintes « bois » à la garance et à la racine de grenadier mordancées à l'alun et/ou au fer en 1846.

Par ailleurs, dans la préparation de l'encre, l'écorce de la grenade est quelquefois utilisée, pour remplacer la noix de galle (**Cardon, 2014**).

Une autre utilisation est constatée ; les extraits du grenadier sont utilisés en cosmétique essentiellement pour leurs propriétés antioxydants. Les graines du fruit favorisent la croissance des cheveux. On trouve donc dans le marché plusieurs produits cosmétiques à base de ces extraits (crèmes, soins capillaires, huiles corporelles...) (**Roye, 2013**) .

#### **I.1.12. Evolution thérapeutique récente du *Punica granatum* L.**

Toutes les parties du grenadier (feuilles, fleurs, fruit, tiges, racines et tronc) semblent avoir des propriétés thérapeutiques. Cet arbre a été utilisé depuis des siècles pour ses vertus thérapeutiques. En effet, des recherches actuelles indiquent que les principaux constituants thérapeutiques du grenadier sont les ellagitannins (incluant les punicalagins), l'acide punique, les flavonoïdes, les anthocyanidines, les anthocyanines, les flavonols ostrogéniques et les flavones (**Sitzia, 2009**).



Le grenadier a servi, depuis des siècles, de remède et/ou pour la prévention de plusieurs pathologies comme le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires, le dysfonctionnement érectile et les radiations ultraviolettes (**Sitzia, 2009**).

Les recherches modernes ne font que répéter ce que dit la théorie de signature selon laquelle « tout ce que la nature crée, elle le forme à l'image de la vertu qu'elle entend y attacher ». En effet, la graine de grenade ressemble à un globule rouge. Or, ce fruit est utilisé pour la prévention et le traitement des maladies cardiovasculaire, l'athérosclérose, l'hypertension, l'insuffisance cardiaque et les maladies du système digestif (**Sitzia, 2009**).

Différents mécanismes peuvent être à l'origine de ces activités thérapeutiques. La plupart des recherches scientifiques ont été concentrées sur les propriétés antioxydant, anticarcinogénique, anti-inflammatoire et antidiabétique du grenadier (**Sitzia, 2009**).

#### ➤ **Maladie cardiovasculaire**

L'athérosclérose est la cause majeure de mortalité dans le monde occidental. Sa pathogénicité est due à plusieurs interactions complexes entre les cellules des parois artérielles, les cellules sanguines et les lipoprotéines du plasma. Elle est le résultat de multiples facteurs de risques interactifs, y compris l'hypertension, l'activation des plaquettes sanguines, augmentation des concentrations de cholestérol LDL, et des modifications oxydatives des LDL. La consommation de grenade affecte ces facteurs et agit sur la maladie (**Fuhrman et Aviram, 2006**).

#### ✓ **Effet hypotenseur**

La grenade est très connue pour l'abaissement de la tension artérielle (**Ranade et al., 2009**). Certains antioxydants comme la vitamine C, vitamine E,  $\beta$ -carotène et le coenzyme Q possèdent des propriétés hypotenseur. Comme le jus de grenade possède de très fortes propriétés antioxydants, une étude a examiné l'effet de la consommation quotidienne de 50ml de jus de grenade chez des patients souffrant d'hypertension. Au bout de deux semaines, la pression systolique avait baissé de 5 % et l'activité sérique de l'angiotensin-converting enzyme (ACE) était réduite de 36 %. Une réduction de l'activité sérique de l'ACE semble atténuer l'athérosclérose (**Seraam et al., 2006**).

➤ **Effet anticancéreux**

L'objectif des recherches sur le cancer est le développement de nouveaux agents chimio préventifs inhibiteur du développement des tumeurs et sans toxicité systémique.

➤ **Cancer de la prostate**

Le cancer de la prostate est l'un des cancers les plus répandus chez les hommes. Une étude *in vivo* sur une lignée de cellules du cancer de prostate PC-3 hautement agressive, a démontré que des extraits a cétoniques du fruit de grenade inhibent la prolifération cellulaire et induit l'apoptose.

L'administration par voie orale d'un extrait de grenade à des souris auxquelles des cellules cancéreuses de la prostate avaient été implantées, a induit une inhibition significative de la croissance de la tumeur. De plus, le taux sérique de la PSA (antigène spécifique de la prostate) était réduit (**Malik et al., 2005 ; Syed et al., 2007**).

➤ **Cancer du sein**

Le cancer du sein est l'un des cancers les plus courants qui menace la femme ménopausée. L'œstrogène le plus puissant de l'organisme, le 17-bêta-oestradiol, joue un rôle important dans la genèse et le développement de cancers hormonaux dépendants à leur premier stade. Les composants poly phénoliques de la grenade inhibent la prolifération de cellules d'une lignée cancéreuse du sein et la 17-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type I, enzyme qui convertit l'œstrogène, l'œstrone, en son métabolite le plus actif, le 17-bêtaoestradiol.

Une forte expression de cette enzyme peut être un indicateur de mauvais pronostic chez des femmes ayant des tumeurs du sein avec des récepteurs œstrogènes positifs (**Kim et al., 2002**).

➤ **Cancer du poumon**

Le cancer du poumon reste l'un des cancers les plus mortels en dépit des avancées scientifiques et médicales dans la radiothérapie et la chimiothérapie de ces dernières années. Des extraits du fruit de grenade ont diminué la viabilité des cellules cancéreuses humaines du poumon sans affecter les cellules bronchiales saines et diminue la progression de la tumeur (**Syed et al., 2007**).

➤ **Cancer du colon**

Les composés phytochimiques de la grenade ont démontré un effet inhibiteur de prolifération de cellules cancéreuses du colon et l'apoptose à travers la modulation de facteurs de transcriptions cellulaires et protéiques.

Le jus de grenade inhibe la prolifération des cellules cancéreuses humaines de la lignée HT-29, et il est plus efficace que l'ellagitanine purifié de la grenade. Cela est dûe à l'effet synergique des constituants du jus de grenade (**Seeram *et al.*, 2005**).

➤ **Cancer de la peau**

L'exposition excessive aux ultraviolets (UV-B) a des effets néfastes sur la santé telle que l'érythème, l'hyperplasia, l'hyperpigmentation, l'immunosuppression, le photo vieillissement, et le cancer de la peau.

Des extraits de grenade ont un effet photochimiopréventif et protecteur des kératinocytes, cellules épidermales humaines, contre les radiations UV-B et UV-A ; ainsi que des effets chimio préventifs et curatifs des lésions cutanées chez le rat (**Syed *et al.*, 2007**).

➤ **Effet protecteur neurologique**

L'Alzheimer est la cause la plus courante de démence. Elle touche plus de 10% des adultes de plus de 65 ans. Des études suggèrent que l'alimentation affecte le développement de cette maladie.

Une étude menée sur des souris transgéniques, alimentées par du jus de grenade, a démontré des effets bénéfiques sur les comportements et les signes neurologiques liés à la maladie d'Alzheimer. La consommation de jus de grenade pendant la gestation de la souris permet de protéger le cerveau du fœtus des lésions potentielles causées par un manque d'oxygène à la naissance (**Hartman *et al.*, 2006**).

➤ **Effet antimicrobien**

Les épidémies d'influenza causent de nombreux décès et hospitalisations chaque année. Cette situation devient alarmante avec l'émergence de souches résistantes aux médicaments anti-influenza. Il y'a un besoin urgent de trouver de nouvelles molécules pour le traitement de cette maladie. (**Haidari *et al.*,(2009)**). ont mené une étude dans ce sens en utilisant des extraits polyphénoliques de grenade. Ils ont démontré que ces extraits ont une action anti influenza et que le punicalagin (tannin hydrolysable spécifique de la grenade) a un effet virucide et inhibiteur de la réplication de l'ARN viral (**Haidari *et al.*, 2009**). Ont démontré que le jus de

grenade contient un inhibiteur de l'entrée du virus VIH-1 en bloquant la fixation du virus au CD4. Ces résultats suggèrent la possibilité de développement d'un anti-VIH pas trop coûteux et disponible

➤ **Effet antiviellissement**

Un nombre croissant de preuves indiquent que les dommages causés aux macromolécules dus au métabolisme de l'oxygène et au stress oxydatif augmentent progressivement avec le vieillissement. Les protéines sont les macromolécules les plus affectées par le stress oxydatif en induisant l'inactivation des enzymes et l'induction de leur protéolyse. Les modifications les plus connues sont la formation de dérivés carbonyle sur les résidus de lysine, d'arginine, de proline, d'histidine, de cystéine et de thréonine. Il est constaté que la consommation journalière du jus de grenade diminue significativement le contenu sérique en composé carbonyles chez des sujets âgés alors que la consommation du jus de pomme n'affecte pas la teneur sérique en carbonyles. Cela démontre l'effet protecteur du jus de grenade contre le vieillissement (**Guo et al., 2008**).

➤ **Effet anti inflammatoire**

L'extrait de l'écorce de grenade possède aussi des propriétés anti-inflammatoire et anti-ulcerogénique (**Ghnimi, 2015**).

➤ **Effet antioxydant**

L'extrait aqueux de l'écorce de grenade est caractérisé par un pouvoir antioxydant. Dans le jus de grenade, les principaux polyphénols antioxydants sont les ellagitannins et les anthocyanines. Les ellagitannins comptent pour 92% de l'activité antioxydant du jus de grenade et sont concentrés dans l'écorce, les membranes et les moelles du fruit (**Seeram et al., 2006**).

➤ **Effet Antiseptique**

Une autre étude publiée par (**Al-Saeed et al., 2015**), a révélé l'efficacité de l'extrait éthanoïque de l'écorce de grenade dans le traitement des plaies infectées par des champignons chez les lapins, prouvant la propriété antiseptique de l'écorce de grenade. Également, l'extrait iso flavonoïdes de l'écorce de grenade peut avoir un effet significatif sur l'amélioration des paramètres reproductifs chez les mâles des lapins.

### I.1.13. Toxicité de la grenade

La partie comestible de la grenade n'est pas toxique, par contre cancérigène (**Morton, 1987**). Afin de mieux comprendre l'effet de la consommation de grenade ou des extraits de grenade sur l'organisme et leur rôle dans le traitement de certaines maladies, il est nécessaire de connaître les substances bioactives et leurs propriétés. Nous allons nous intéresser aux composés phénoliques, leur classification et à certaines de leurs propriétés. Nous allons nous intéresser aux composés phénoliques, leur classification et à certaines de leurs propriétés.

## I.2. *Teucrium polium* L.

### I.2.1. Introduction

*Teucrium polium* L. plus connu sous le nom de germandrée dorée est une espèce d'arbuste méditerranéenne appartenant de la famille de lamiaceae, cette plante médicinale est utilisée depuis plus de deux mille ans en médecine traditionnelle. Plusieurs études sur les extraits alcooliques de germandrée dorée ont révélé des propriétés antimicrobiennes, hypoglycémiques, anti-nociceptives et antioxydantes (**Fiorentino et al., 2011**).

La famille des Lamiacées (Lamiaceae) ou Labiées (Labiatae) est une importante famille de plantes dicotylédones, qui comprend environ 4000 espèces et près de 210 genres (**Naghbi F., Mosaddegh M, et al., 2005**). Cette famille comporte de nombreuses plantes exploitées pour les essences ou cultivées pour l'ornementation et la plupart de ces espèces sont aussi bien utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne (**JUDD W.S., et al., 2002**).

La famille des lamiacées contient une très large gamme de composés comme les terpénoïdes, les iridoïdes, les composés phénoliques, et les flavonoïdes. Les huiles, essentielles et plus précisément les courtes chaînes des terpénoïdes sont responsables de l'odeur et la saveur caractéristique des plantes (**Naghbi F., Mosaddegh M, et al., 2005**).

### I.2.2. Historique

Le nom scientifique du genre, *Teucrium*, provient du grec : Teucros, nom d'un prince troyen qui aurait découvert les propriétés médicinales de la plante. Le nom français Germandrée est une altération du latin médiéval calamendria, croisement probable de alamentum, sorte de menthe, avec camedria, latinisation du grec chamaedrys signifiant littéralement (chêne à terre) (en référence à la germandrée petit – chêne) (**couplan, 2012**).

### I.2.3. Classification botanique

Selon **Quezel et Santa** la plante *T. polium* est classée comme suit

**Tableau 04** : Classification botanique du *Teucrium polium* L. (**Wald, 2009**)

<b>Ebranchements</b>	<b>Angiospermes</b>
<b>Sous ébranchements</b>	Angiospèrmes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	Teucrium
<b>Espèce</b>	<i>Teucrium polium</i> L.



### I.2.4. Nomenclature (**Bonnier, 1990**)

- **Français** : Germandrée tomenteuse .
- **Anglais** : mountain germander .
- **Arabe**: Chendgoura, Jaada khayata, Katabet ledjrah. خياطة الجراح
- **Tamazight** : Tayrart .
- **Italien** : Camedrio polio, Canitola, Polio .
- **Espagnol** : Poleo montano, Timo mascle, Tomillo terrero, Zamarilla .
- **Nom latin** : *Teucrium polium* L, synonymes : *Teucrium tomentosum*, *Teucrium* .
- gnaphalodes, *Teucrium chamaedrys* et *Teucrium capitatum* .

### I.2.5. Description morphologique

L'aspect de la plante est très variable, généralement sous forme de touffe dense. C'est un arbrisseau vivace plus ou moins feutré à poils blancs, ligneux avec une odeur poivrée au frottement, et ayant comme caractéristiques morphologiques (**Quezel et Santa, 1962, Ozenda 1983, Thoppil et al.,2001**) .

De nombreuses tiges de 10 à 30 cm portant des petites feuilles opposées sessiles, linéaires, cunéiformes, entières à la base et avec des dents arrondies, vertes au-dessus et blanchâtres au-dessous, tournant fortement sur les marges ( figure 09).

- ✓ Des fleurs formant des inflorescences compactes globuleuses ou ovoïdes serrés. Le calice brièvement tomenteux, vert grisâtre à des dents courtes triangulaires, la partie supérieure obtuse
  - ✓ Une corolle blanche à lèvre supérieure tronquée et à lobes supérieurs pubescents.
  - ✓ Des étamines tordues en spirale après l'anthere, insérées sur le tube de la corolle
- Inflorescences en capituliformes jusqu'à 1 cm, denses au sommet des tiges, avec de petites bractées florales mais ressemblant à des feuilles.
- ✓ Le fruit est constitué de 4 parties brunes et orné en réseau à sa surface.



**Figure 09 :** Aspect morphologique de *Teucrium polium* L.

### I.2.6. Habitat et répartition géographique

Le genre *Teucrium* comprend plus de 300 espèces généralement aromatiques poussant à l'état spontané dans diverses régions du globe. Il est largement présent dans le bassin méditerranéen et plus particulièrement en Algérie où sont recensées respectivement 21 espèces. *Teucrium polium* L. est une plante à fleurs, très abondante dans le bassin méditerranéen (l'Europe, nord de l'Afrique et nord-ouest d'Asie). (Andary, 1988) .

*T. polium*.se développe habituellement dans les régions appartenant aux bioclimats arides et semi-arides ; il aime le soleil et un sol bien drainé. Il pousse sur coteaux, les sables et dans les lieux arides. (Esmaeil, 2010).

### I.2.7. Composition chimique de la plante

Les extraits de la partie aérienne de *Teucrium polium* L. sont riches en polyphénols, flavonoïdes, iridoïdes et stéroïdes (Djabou *et al.*, 2012, Movahedi *et al.*, 2014). Les huiles essentielles contiennent principalement des monoterpènes, des diterpènes, des sesquiterpènes hydrocarbures et sesquiterpènes oxygénés (Kabouche *et al.*, 2007, Krache *et al.*, 2017).

Des études préliminaires réalisées sur les feuilles et les fleurs de *Teucrium polium* L. ont révélé la présence de composés polyphénoliques tels que les flavonoïdes et les tanins, ainsi que d'autres composés, des saponines, des stéroïdes. Le carvacrol et le caryophyllène sont les éléments les plus abondants des huiles essentielles dans *Teucrium polium* L. (Malki et Yahia, 2014) (figure10).

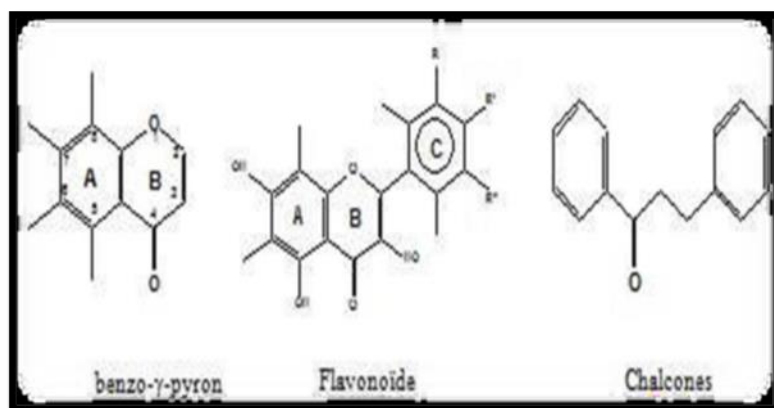


Figure 10 : Structure générale des composés polyphénoliques.

### I.2.8. Culture :

#### I.2.8.1. Plantation

Les *Teucriums* se plantent en plein soleil, dans des sols sablonneux et/ou bien drainés. Choisissez un endroit où le pH du sol est compris entre 7.0 et 7.9, donc neutre à légèrement alcalin. Évitez les sols acides, l'ombre et les zones trop riches en matières organiques.

Évitez de les planter trop près de grandes plantes qui pourraient les étouffer. Arrosez le premier été pour aider la plante à bien installer son système racinaire. Ils ne nécessiteront plus d'arrosage par la suite.

### I.2.9. Propriétés d'utilisation traditionnelles et médicales

Très tôt au cours de l'évolution, les hommes, pour se soigner, utilisèrent les ressources présentes dans leur environnement naturel. Les plantes tinrent une place très importante qui ne s'est jamais démentie (A. Fettah, 2019). Les espèces de *Teucrium polium* L. ont été



employées en tant qu'herbes médicinales pendant plus de 2000 années comme diurétique, isotropique et chronotropique, tonique, antipyrétique, cholagogue et anorexiques (**K. Khleifat., J. Shakhanbeh., k. Tarawneh ,2001**). Le feuillage de *Teucrium polium* L. légèrement poivré, était couramment utilisé pour relever les salades ou parfumer les fromages de chèvres. Une infusion des feuilles et des fleurs était ainsi consommée comme boisson régénératrice. En médecine traditionnelle, Tpo est employée comme analgésique, antispasmodique et hypolipidémique. Cette plante peut avoir quelques intérêts d'ordre cliniques : cas de désordre stomacaux et gastrointestinaux tels que la colite. Ces résultats le soutiennent également pour son emploi folklorique pour soulager ces douleurs (**A. Abdollahi., Karimpour, H., Monsef- Esfehni.,2003**).

Plusieurs recherches ont démontré certains effets pharmacologiques attachés à l'utilisation de Germandrée tomenteuse, parmi lesquelles : anti-inflammatoire, anti-ulcerogène, anti-nociceptive, antispasmodique, antidiabétique, diurétique, hypolipidémique, antagoniste du calcium et cytotoxique (**Abdollahi et al., 2003**).

#### **I.2.10. Données pharmacologiques**

Plusieurs recherches ont démontré certaines activités pharmacologiques liées à l'utilisation de la Germandrée Récemment, quelques rapports dans la littérature dévoilent des effets antioxydants des extraits bruts de Tpo Par conséquent, d'autres investigations sont nécessaires maintenant pour élucider le mécanisme d'action pharmacologique et identifier les composants bioactifs responsables de telles actions afin d'expliquer leur efficacité thérapeutique (**I. Krache ,2015**).

##### ✓ **Antifongique**

L'extrait de *Teucrium polium* L. a été employé dans le traitement des abcès fongiques (**H. Boutaleb ,2014**).

##### ✓ **Antipyrétique, Antimicrobien**

L'extrait éthanolique de *Teucrium polium* L. présente un effet antipyrétique contre la levure et la pyrexie de carragénine. Le mécanisme de l'hyperthermie de carragénine a été liée à un dégagement des prostaglandines au site de l'injection par l'irritant en inhibant la synthèse de prostaglandines au niveau périphérique. Cette hypothèse est renforcée par le fait que cet extrait peut empêcher la formation d'œdème. Cependant, l'extrait de *Teucrium. Polium* L. a montré une remarquable activité antibactérienne contre les bactéries Gram positive et Gram

négative. D'autre part, il présente des degrés élevés de résistance à nombreux agents antimicrobiens (Boutaleb .H , 2014) .

✓ **Antidiabétique**

L'extrait aqueux de *Teucrium polium* L. a montré un effet hypoglycémiant chez les rats. La propriété insulino-tropique de cet extrait a été encore évaluée, in vitro, en utilisant des îlots pancréatiques de rat. Les données ont indiqué l'extrait brut aqueux est capable de réduire le taux du glucose sérique principalement en augmentant la sécrétion d'insuline par le pancréas par comparaison aux îlots témoins. Cependant, les composés responsables de l'activité hypoglycémique ne sont pas encore élucidés (Boutaleb .H , 2014) .

✓ **Propriétés cicatrisantes**

L'application topique de 10% (p/p) de pommade *T. polium* a révélé une amélioration de la cicatrisation des plaies après 14 jours d'expérience. La plante étudiée a une grande marge de Sécurité pour l'utilisation répétée et favorise de manière significative la cicatrisation des plaies en accélérant la réépithélisation.

✓ **Propriétés antioxydantes**

Plusieurs travaux de recherches ont montré que *Teucrium polium* L. a des activités antioxydantes *in vivo* et *in vitro*.

### **I.2.11. Toxicité de la plante**

Les effets toxiques causés par la Germandrée varient selon la dose et la durée d'utilisation (Bachtarzi *et al.*, 2016; Dağ *et al.*, 2014). Une utilisation prolongée (qui dépasse les 90 jours) engendre des effets hépatotoxiques et néphrotoxiques (Aktürk Esen *et al.*, 2019; Rafieian Kopaei et Baradaran, 2013). L'étude de toxicité aigüe (16 g/Kg de plante pendant 14 jours) Et subaigüe (500 et 1000 g/Kg pendant 28 jours) sur des souris et des rats a révélé que la plante était non toxique (Meguellati *et al.*, 2019).



**Chapitre II :**

*Les plantes médicinales et les  
métabolites secondaires*

## II.1. Les plantes médicinales :

### II.1.1. Historique des plantes médicinales

Les plantes médicinales ont longtemps été employées comme remède pour le traitement de nombreuses maladies humaines parce qu'elles contiennent des molécules de valeur thérapeutique. Au fait, les plantes ont toujours été une source majeure de médicaments grâce à leur richesse en métabolites secondaires (**Fouché et al. , 2000**). Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique (8000 ans avant J.C). L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations acquises au fil du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade (**Fouché et al., 2000**).

Dans les civilisations chinoises, indiennes (Médecine ayurvédique) ou aztèques, il existe des preuves très anciennes de l'usage des plantes médicinales ; la première livre médicale, le Shen Nung Ben Caojing "Traité des plantes médicinales de l'empereur Shen Nung", fut rédigé vers 2900-4000 avant J.C. Les populations babyloniennes et sumériennes utilisaient également les plantes pour se soigner, environ 600 tablettes d'argiles mentionnent 1000 plantes pour leurs vertus thérapeutiques et plus de 800 remèdes sont décrits par les Egyptiens (**Fouché et al., 2000**). Le traitement de la peau a commencé 3000 avant J.C, quand les Egyptiens ont transcrit sous forme hiéroglyphique le soin de la peau sur des peintures du mur du temple.

De nos jours, le recours intensif à la médecine traditionnelle comme forme alternative et de développement de nouvelles molécules thérapeutiques est justifié par les effets secondaires négatifs causés par les drogues modernes, ainsi que l'apparition de germes résistants ou multi résistants expliquant la désaffection de plus en plus croissante du public et même de certains membres du corps médical envers ces drogues (**Nostro et al., 2000**). La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles ou des matières premières pour la héli synthèse de composés actif (**Teixeira da Silva ,2004**).

### II.1.2. Définition d'une plante médicinale

La plante organisme vivant, marque son identité par des spécificités morphologiques, à l'origine de la classification botanique, mais aussi biochimiques liées à des voies de biosynthèses inédites, représentant l'intérêt de l'usage des plantes médicinales (**Bruneton, 1993**).

Dans le code de la santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France « une plante » est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (**Moreau, 2003**). Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents.

Une plante médicinale est un végétal dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise. Une plante médicinale est définie par la pharmacopée européenne comme une « drogue végétale dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisée, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais. L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments. La plante médicinale porte sur deux origines (**Bezanger, Beauquesne et al., 1986**).

### II.2. Métabolites secondaires :

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de divers principes actifs. Ce processus métabolique est lié mêmes aux conditions de vie de la plante, où elle doit faire face aux multiples agressions environnementales dans lesquelles elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes,... etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier qui lui permet de synthétiser des diverses substances pour se défendre. Ces dernières prennent la nomenclature de métabolites secondaires (**Kansole, 2009**).

Le terme métabolite secondaire est utilisé pour décrire une large gamme des composés chimiques dans les plantes, qui ne sont pas impliqués dans les processus biochimiques de la croissance et de la reproduction des plantes. D'ailleurs, ils ont un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement tel que la protection contre les pathogènes, herbivores, la concurrence entre les plantes et le stress abiotique comme la dessiccation et les

radiations UV. Les métabolites secondaires végétaux dépassent actuellement 100 000 substances identifiées et appartiennent à trois classes chimiques principales : les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques.

## II.2.1. Classification des métabolites secondaires :

### II.2.1.1. Terpénoïdes

Sont des constituants habituels des cellules végétales (**Adouane, 2016**), forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes et en particulier les conifères. Ce sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine (**Kahlouche, 2014**).

Chez les végétaux, les terpénoïdes sont produits par tous les tissus végétatifs dont les racines et par les diverses pièces florales (**Dudareva et al., 2004**). Ce sont des substances du métabolisme secondaire qui dérivent des isoprénoïdes, dont certains interviennent dans la photosynthèse, ainsi que plusieurs hormones végétales qui ont une structure terpénique. La synthèse des terpènes est généralement associée à la présence de structures histologiques spécialisées, localisées en certains points d'autres tissus, et le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface de la plante (**Hopkins, 2003**).

Les composés terpéniques possèdent des propriétés pharmacodynamiques très variées, en relation avec les différentes fonctions liées au squelette terpénique (**Zakkad, 2017**). Sa formule générale ( $C_5H_8$ ) (figure 11) (**Seenivasan, 2006**).

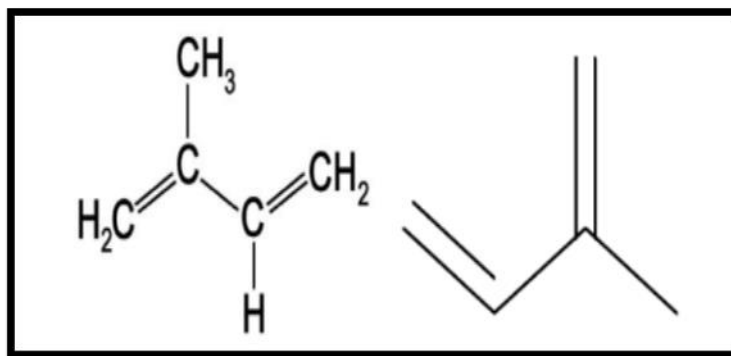


Figure 11 : Structure de la molécule d'isoprène (**Calsamiglia et al., 2007**)

### II.2.1.2. Alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé d'origine naturel (plus souvent végétale), azoté plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué avec une faible dose. L'appartenance aux

alcaloïdes est confirmée par les réactions communes de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes (**Merghem, 2009**).

Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles et jeunes racines. Ensuite, ils gagnent des lieux différents et lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, et se trouvent concentrées dans les vacuoles (**Krief, 2003**).

Les alcaloïdes constituent une classe de produits naturels présentant une grande diversité structurale. Leurs propriétés biologiques, aussi variées que leurs structures, continuent à être bénéfiques dans les traitements de différentes maladies ou des dysfonctionnements de l'organisme humain. Les pyrrolizidines et les tropanes sont les plus importants. Les pyrrolizidines, très répandues dans la nature, sont présents dans les plantes qui font partie des familles botaniques Asteracea, Boraginaceae, Fabaceae et Orchidaceae (**Mohammedi, 2013**).

La plupart des alcaloïdes sont dérivés des acides aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'aspartate, l'antranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplées aux autres squelettes carbonés (figure12).

Les alcaloïdes sont utilisées dans plusieurs médicaments, ils affectent chez l'être humain le système nerveux particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétyl choline, norepinephrine , acide-aminobutyrique (GABA), dopamine et la serotonine d'autres effets pharmacologiques sont attribués également aux alcaloïdes telles que l'effet analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), antihypertensive (réserpine), antitussive (codéine), stimulant centrale (caféine), dépressant cardiaque et diurétique narcotique (morphine), anti-tumeur et sympathomimétique (éphédrine) (**Badiaga, 2011**).

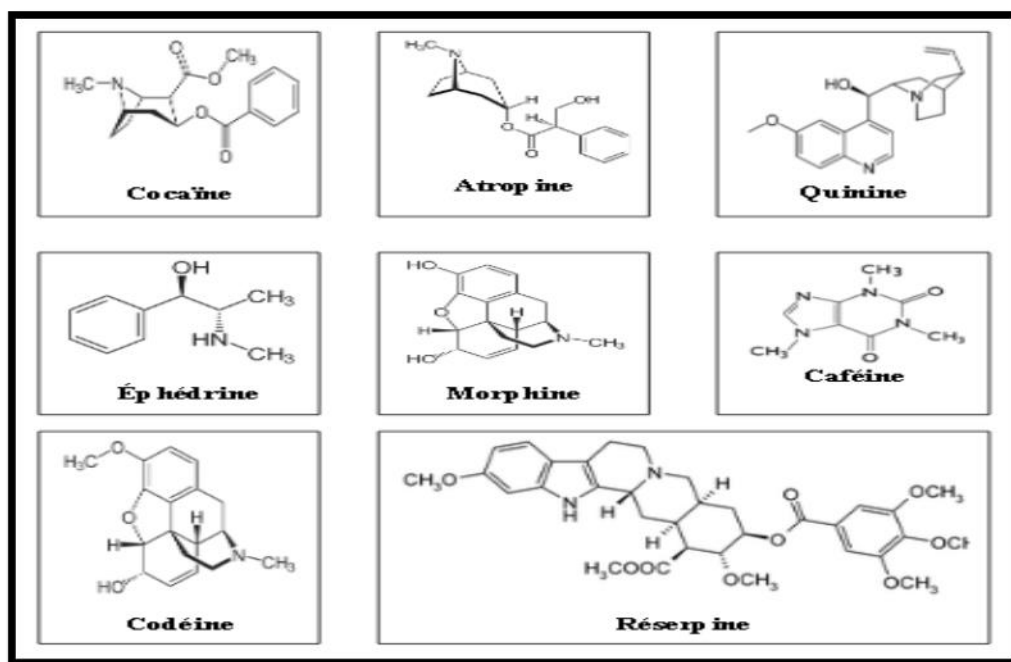


Figure 12 : Structure de quelques alcaloïdes (Badiaga, 2011)

### II.2.1.3. Polyphénols

Les polyphénols sont un groupe important de composés produits par de nombreuses plantes (Bakhouché *et al.*, 2013). Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes contre les rayons UV, les agents pathogènes et les herbivores (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

La qualité et la quantité des polyphénols dans les plantes peuvent varier considérablement en fonction de différents facteurs intrinsèques et extrinsèques tels que le génotype des plantes, la composition du sol, le degré de maturité et l'état des cultures (Faller *et Fialho*, 2010).

Aussi, ils comprennent une grande variété de molécules avec plusieurs groupements hydroxyles sur leurs cycles aromatiques. Ils comportent également des molécules avec un seul cycle phénolique, tels que les acides phénoliques et les alcools phénoliques. Ils sont divisés en plusieurs classes, en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et les fonctions chimiques liées à ces cycles à savoir: les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines (Luthria *et al.*, 2006).

#### ➤ Acides phénoliques

Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, en phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique



(Belyagoubi, 2011). Les composés phénoliques sont dérivés de deux sous-groupes distingués: les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide chlorogénique, ainsi que les acides hydroxybenzoïques, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique, qui se trouvent dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales, et présents chez toutes les céréales (figure 13) (Barboni, 2006).

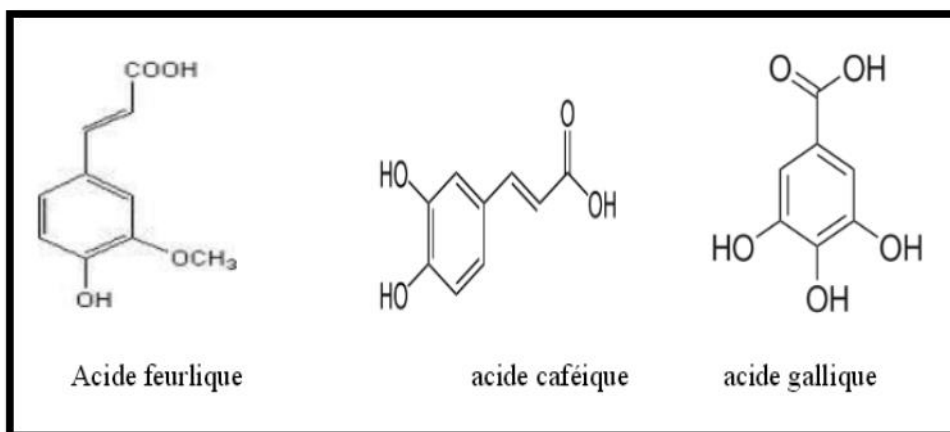


Figure 13 : Quelques acides phénoliques (Ribereau, 1968).

### ➤ Flavonoïdes

Le terme flavonoïdes signifie jaune en latin (Ribereau, 1968). Les composés flavonoïques sont des pigments végétaux responsables de la coloration des fleurs et fruits et parfois des feuilles. Aussi, ils se localisent dans divers organes des plantes (Bruneton, 1999), et jouent un rôle très important dans la croissance des plantes, la floraison, la fructification et la défense contre les maladies et les microorganismes. Ils ont également un rôle très important pour la santé humaine. A titre d'exemple, ils sont efficaces pour l'inflammation chronique les maladies allergiques, les maladies coronariennes et le cancer (Ebadi, 2001 ; Ghedira, 2005).

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C6, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Ce dernier est situé entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines, flavonoles, isoflavonoles, flavones, isoflavones, flavanes, isoflavanes, flavanols, isoflavanols,

flavanones, isoflavanones et aurones (Medic *et al.*, 2004) La Distinction des sous-classes se fait sur la conformation de la structure centrale (cycle C) (Dacosta, 2003).

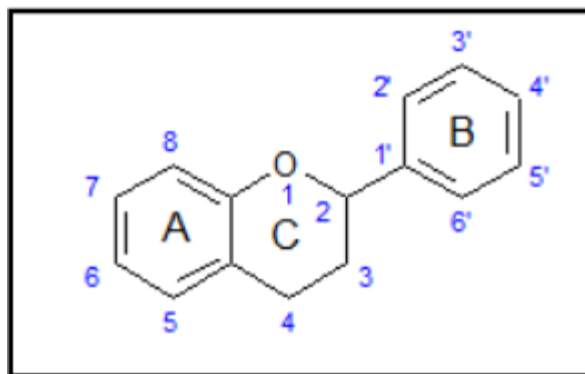


Figure 14 : Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003).

### ➤ Coumarines

Les coumarines sont des molécules hétérocycles, oxygénées et largement répandues dans monde végétal (Casleyet *al.*, 1993). Généralement, elles constituent une classe importante des produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétale chlorophyllien, les familles végétales les plus riches en coumarines sont les : Légumineuses, Rutacées, Apiécées et Thymelacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment les fruits et les huiles essentielles des graines. Les squelettes de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (figure 15) (Ford *et al.*, 2001).

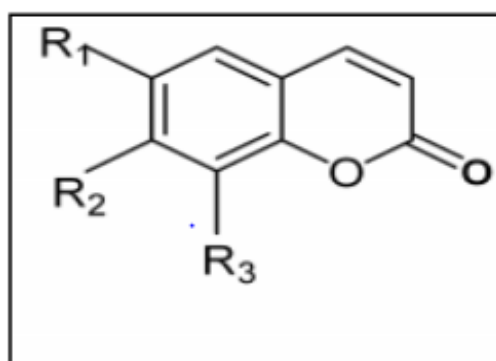


Figure 15 : Structure d'une molécule coumarine (Ford *et al.*, 2001).

### ➤ Tanins

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits des plantes pour tanner les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau en cuir (Hopkins,

2003). En effet, ce sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreuses parties des végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). De même, ils sont des substances de saveur astringente ayant la propriété de tanner la peau et de se combiner aux protéines animales par des liaisons hydrogènes (Pousset, 1989). Solubles dans l'eau et caractérisés par leur astringence (Peronny, 2005). Leur structure est complexe, formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres, asymétriques et leur degré d'oxydation (Ghestem, 2001).

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes de tanins, basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables ou tanins condensés (figure 16) (Ghestem, 2001).

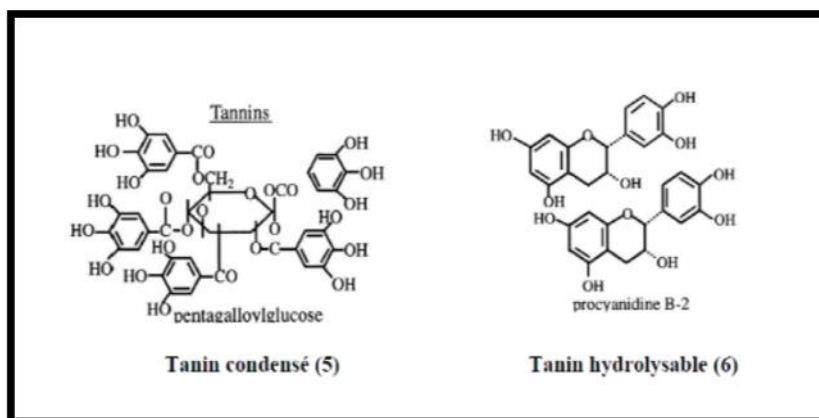


Figure 16 : Structure des deux types de tanins (Ghestem, 2001).

### ➤ Quinone

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substituants cétoniques, caractérisé par un motif 1, 4 – dicétohexa –2,5 diénique (para quinones) ou par un motif 1, 2 –dicétohexa –3,5 – diénique (ortho – quinones) (Bruneton 1993).

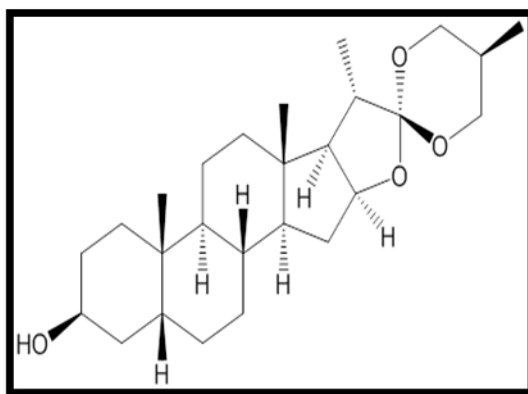
Les quinones peuvent être classées :

- Benz quinones
- Naphtoquinones
- Anthraquinones
- Isoprénoides quinones

### ➤ Saponine

Les saponines sont très communes dans les plantes médicinales. Du point de vue chimique, elles se caractérisent également par un radical glucidique (glucose, galactose) joint à un radical aglycone

Les saponosides sont une classe d'hétérosides marins. Ce sont des glycosides téroïdiens ou triterpéniques qui ont la propriété de former des solutions moussantes en présence d'eau et de précipiter le cholestérol (figure 17).



**Figure 17 : Structure de saponoside (Salah Eddine L. 2014).**

### ➤ Stérols

C'est une molécule amphiphilique en C<sub>27</sub>, renferme un squelette tétracycliques planaire, avec une queue hydrophobique, et un groupement polaire : le groupe hydroxyle (**Harborne et Williams, 1998**).

Les stérols possèdent un groupement hydroxyle sur l'atome de carbone 3 généralement une double liaison entre les atomes de carbone 5 et 6 ainsi qu'une chaîne latérale rattachée au sommet 17 du noyau perhydrocyclo – pentano – phénanthrène, leur représentant dans le règne animal est le cholestérol.

### ➤ Anthocyane

Le mot vient d'ailleurs du grec anthos qui veut dire fleur et de kuanos (qui à donner cyan) qui veut dire bleu. Elles sont responsable des couleurs éclatantes de certains fruits (raisin rouge, framboises, cerise), de fleurs (coquelicots, géraniums) ou des couleurs rouges des feuilles d'érable à l'automne.

La partie responsable de la couleur (chromophore) s'appelle l'anthocyanidine et présente une structure de cation 3,5,7,4 – tétrahydroxyflavylium. Dans les anthocyanes naturels, le groupement OH en position 3 est toujours glycosylé et celui en position 5 est très fréquemment (Olivier, D, 1994) (figure 18).

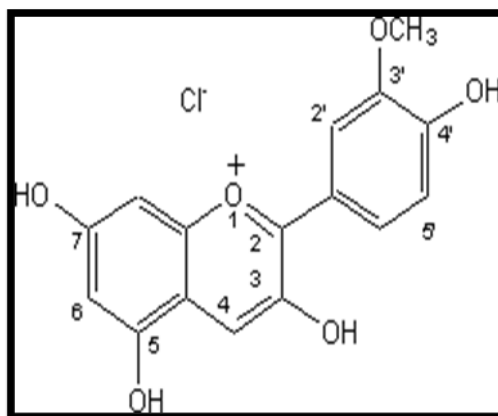


Figure 18 : Structure d'anthocyane (Olivier .D , 1994).

### II.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Dans la nature, la synthèse du noyau benzoïque est exclusivement le fait des végétaux et micro-organismes. Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse.

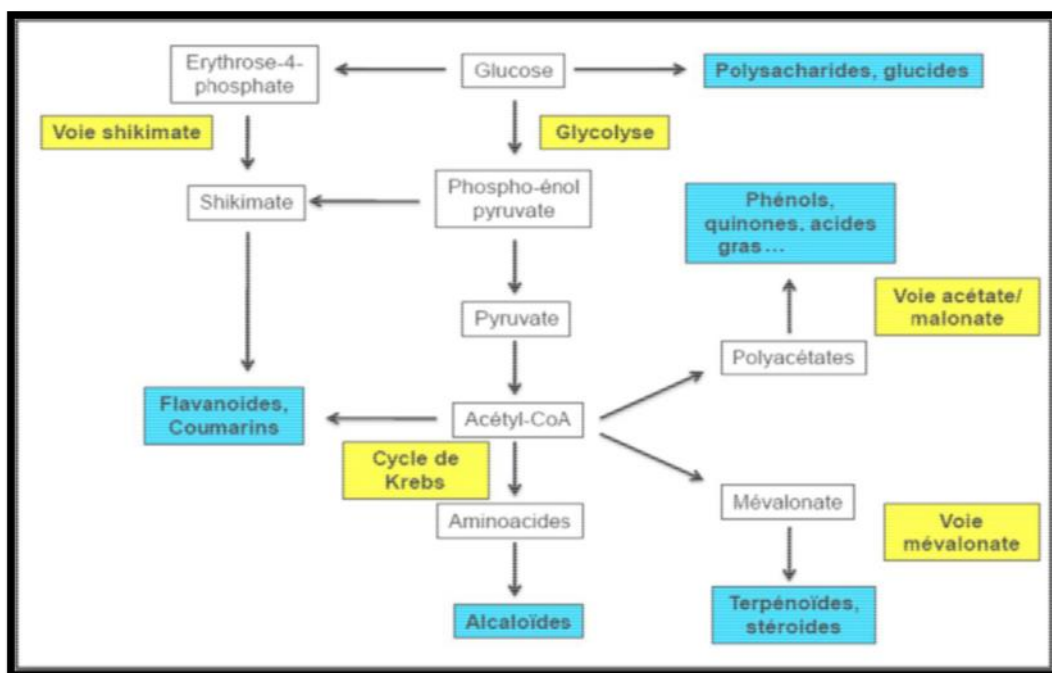
#### ➤ La voie de l'acide shikimique

La voie la plus courante est celle de l'acide shikimique, qui conduit des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine) (Guignard, 1996).

La première réaction de cette voie est la condensation du phosphoénolpyruvate (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate pour former un composé en C7, le 3-désoxy-D-arabinoheptulosanate-7-phosphate. Après élimination du phosphore, déshydratation et réduction de ce dernier, il se forme le shikimate qui subit une phosphorylation et une condensation avec une nouvelle molécule de PEP pour former au bout de plusieurs réactions enzymatiques l'acide chorismique, ce dernier se transforme en acides aminés aromatiques (tyrosine, phénylalanine) qui, par désamination, mènent aux acides cinnamiques, précurseurs de la majorité des acides phénoliques (Martin *et al.*, 2002).

### ➤ Voie de polyacétates

Une seconde voie de biosynthèse consiste à réaliser un ensemble de noyaux aromatiques par condensation répétée d'unités acétate et former ainsi un acide polycétonique. Ce dernier subit une cyclisation formant un noyau benzénique portant une chaîne latérale (**Richter, 1993**). Cette seconde voie intervient pour accomplir un second noyau benzénique chez les végétaux supérieurs pour de nombreux composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie du shikimate : ce sont les composés mixtes dont les représentants les plus importants sont les flavonoïdes (**Bruneton, 1993 ; Guignard, 1996**) (figure 19).



**Figure 20** : Les voies du métabolisme cellulaire : Interrelation entre les métabolites primaires et les métabolites secondaires (**Bruneton, 1993 ; Guignard, 1996**).

### II.2.3. Rôles des polyphénols :

#### ➤ Pour les plantes

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques : la croissance cellulaires, différenciation, floraison (**Albert , L ,1998**).

Les anthocyanes et les flavonoïdes participent à la coloration des fruits murs, ils confèrent aux fruits et légumes leur teinte rouge ou bleuté. Aussi ils sont responsables de la qualité sensorielle et alimentaires des aliments végétaux (**Lugasi , A, et al.,2003**).

Les flavonoïdes sont impliqués dans une certaine fonction :

- ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits, et des grains
- système de défense contre les pathogènes

Les polyphénols participent à des réponses allopathiques : compétition entre les plantes pour la germination et la croissance au moyen de toxicité qui empêchent la croissance des autres plantes compétitrices (**Yezza et Bouchama , 2014**).

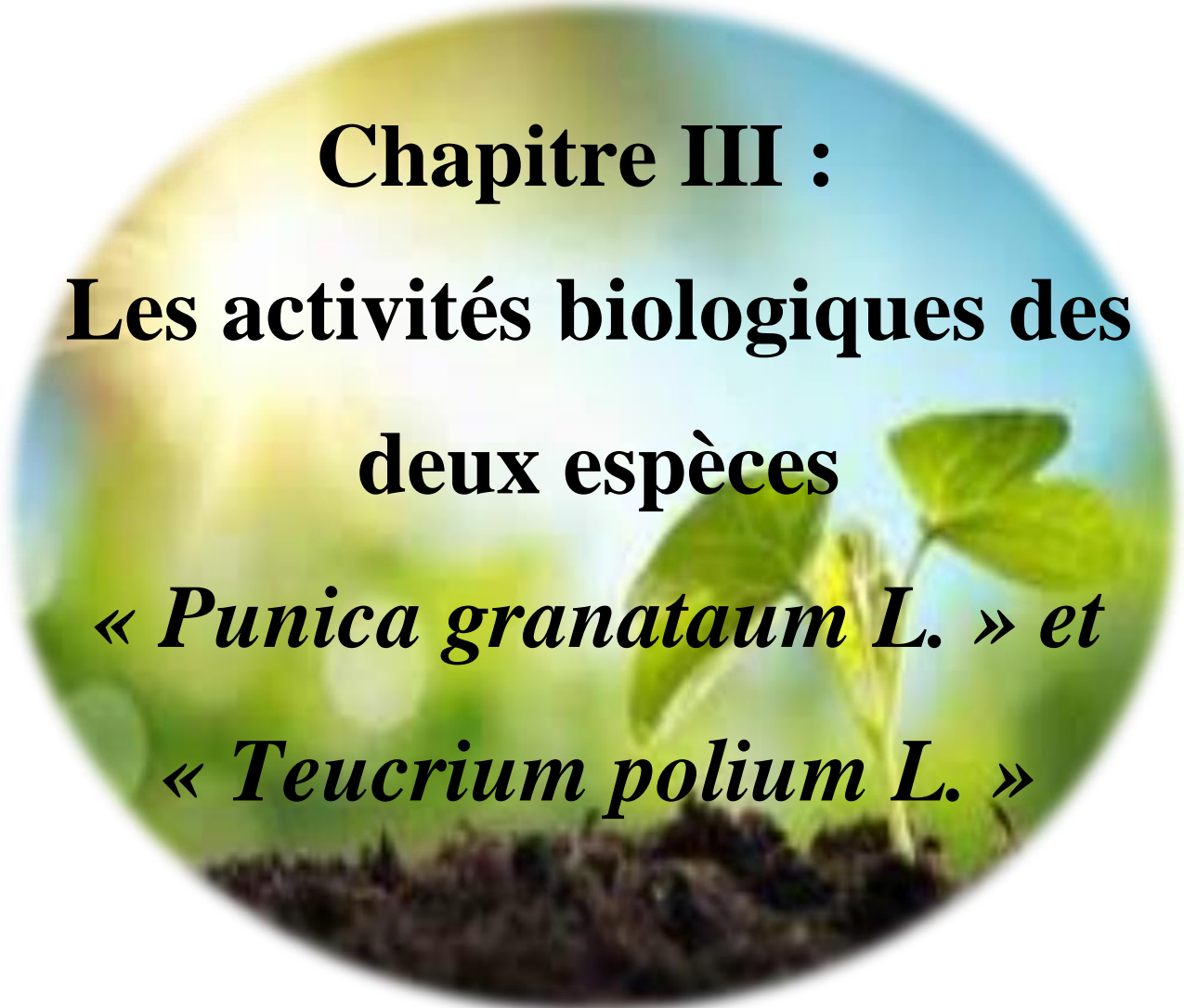
➤ **Pour l'homme**

Les métabolismes secondaires ont des intérêt multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétique, en pharmacie, ces composés sont en grande mesure illustrés en thérapeutique (**Bahourn , 1997**) (tableau05) .

### II.2.3.1. Rôle biologique

**Tableau 05** : activités biologiques des composés phénoliques (**Laraoui . H , 2007**).

Polyphénols	Activités
Acides phénoliques	Antibactérienne, antifongique, antioxydant
Coumarines	Protectrice vasculaires
Flavonoïdes	Anti-tumorale, Anti carcinogène, Anti inflammatoires, anti oxydante
Anthocyane	Protectrice capillaroveineux
Pro anthocyanidine	Effets stabilisants sur le collagène, anti fongique
Tanins	Anti oxydante



**Chapitre III :**  
**Les activités biologiques des**  
**deux espèces**

*« Punica granatum L. » et*

*« Teucrium polium L. »*



### III.1. Activité anti bactérienne :

#### III.1.1. Définition d'un antibactérien

Une substance antibactérienne ou bactéricide est une substance possédant la capacité de tuer des bactéries, elle fait intervenir tous les caractères structuraux et métaboliques qui leur donnent une individualité parmi les microorganismes et permettent de les distinguer d'une part des champignons inférieurs et des protozoaires, d'autre part (**Labad.I, 2015**).

#### III.1.2. Infections bactériennes

Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, cependant leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multi résistance bactérienne (**Zeghad .N, 2009**).

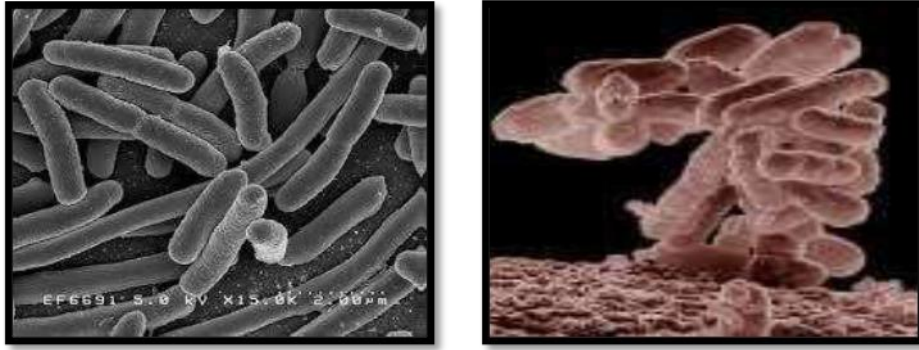
La maîtrise des infections bactérienne devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale (**Zeghad .N, 2009**).

Pour cette raison ; plusieurs chercheurs s'orientaient vers de nouveaux substituts notamment les végétaux qui représentent une source d'inspiration dans les recherches médicales (**Ali-shtayeh et al., 1998**).

#### III.1.3. Généralités sur les souches bactériennes testées :

➤ *Escherichia coli*

*Escherichia coli* est un bacille à gram négatif aérobie-anaérobie facultatif appartenant à la famille des entérobactéries (enterobacteriaceae) qui colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (**Thorene, 1994**). *Escherichia coli* représente près de 80% de la microflore aérobie, plus largement les coliformes thermotolérants, sont recherchés dans les aliments comme indicateurs de contamination fécale ; leur présence fournit ainsi une indication sur une éventuelle contamination de l'aliment par des bactéries pathogènes d'origine digestive. La majorité des souches d'E. Coli sont associées à des pathologies intestinales ou extra-intestinales bien connues des médecines (**Thorene, 1994**).

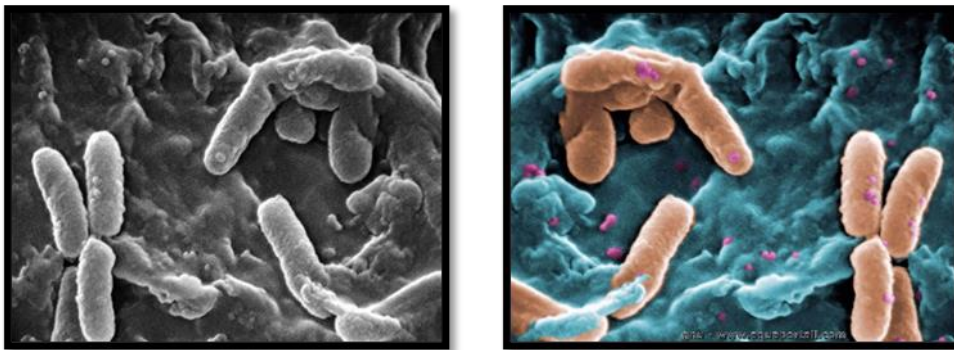


**Figure 21** : *Escherichia coli* sous microscope électronique à différents grossissements.

A : x15000 ; B:x 1000 (Thorene, 1994).

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *P.aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries mesurent de 1,5 à 3µm de long et 0,5 à 0,8 µm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de vol moucheron. *P.aeruginosa* ne forme ni des spores ni sphéropastes. Elles sont responsables de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3ème rang après *E.coli* et *S.aureus*, mais le 1er rang pour les infections pulmonaires basses et le 3ème rang pour les infections urinaires (figure 21) (Thorene, 1994).

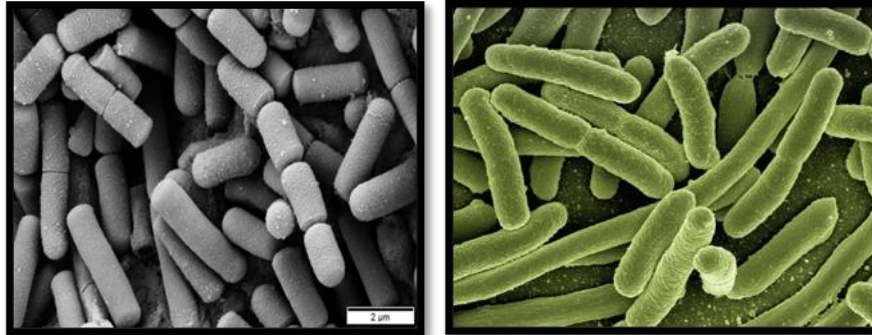


**Figure 22** : *Pseudomonas aeruginosa* sous microscope électronique à différents grossissements. A : x15000 ; B:x 1000 (Thorene, 1994).

➤ *Bacillus Cereus*

*Bacillus cereus* est un groupe d'espèces très proches qui sont caractérisées par des bacilles à gram positif, aérobies ou anaérobies facultatifs, et sporulant. Elle est sphérique ou ovale, déformante ou pas selon les espèces (Medane .H, 2017) (figure 22).

*Bacillus cereus* est responsable de toxi-infections caractérisées par des symptômes diarrhéiques, ainsi que d'intoxinations se traduisant par des symptômes émétiques (Anses, 2021).



**Figure 23 :** *Bacillus Cereus* sous microscope électronique à différents grossissements.

**A : x15000 ; B:x 1000 (Thorene, 1994).**

### III.1.4. Les antibiotiques :

#### III.1.4.1. Définition

Les antibiotiques sont des molécules ayant une activité antimicrobienne, qui sont soit d'origine microbienne ( $\beta$ -lactamines, aminosides, macrolides, polypeptides), synthétiques (sulfamides, quinolones) ou semi-synthétiques (Boulahbal, 2009). Ils peuvent avoir des effets bactéricides ou bactériostatiques. C'est des molécules qui agissent spécifiquement sur des cibles moléculaires perturbant une étape essentielle du métabolisme des bactéries (Paul, 2005).

#### II I .1.4.2. Classification des antibiotiques :

La classification des antibiotiques repose sur plusieurs critères en outre leur structure chimique et leurs mécanismes d'action, lesquels conditionnent leur spectre d'activité.

- **Mode d'action** : action sur la paroi, la membrane cytoplasmique.... etc
- **Spectre d'activité** : sur les cocci Gram positives, les cocci Gram négatives ou autres.
- **Origine de la molécule** : naturelle, synthétique ou semi synthétique.
- **La structure chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle  $\beta$ -lactame) (Boulahbal, 2009) .

La classification selon le mode d'action permet de classer les antibiotiques en familles :

- **Les  $\beta$ -lactamines** : Pénicilline et Céphalosporines.
- **Les macrolides et apparentés** : Erythromycine et Oléandomycin.
- **Les cyclines** : Tétracyclines et Doxycycline.
- **Les aminosides** : Streptomycine, Gentamycine, Chloramphénicol et Thiamphénicol (Etebu et al., 2006).

#### II II.4.3.Mode d'action des antibiotiques :

Pour pouvoir être utilisable en pratique clinique, un antibiotique doit se caractériser par une action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules eucaryotes (hôte), donc les antibiotiques ont une cible précise dans le métabolisme bactérien (Yves, 2005). (figure 23 ).

##### ➤ **Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne**

C'est le blocage de la synthèse de la paroi, ce qui fragilise fortement l'enveloppe externe des bactéries qui les protège de l'environnement extérieur (pression osmotique, T°, stress mécanique) (Sandra, 2015). Chez les microorganismes Gram positif, la pénicilline et les antibiotiques chimiquement apparents empêchent la réaction de transpeptidation qui est une étape importante dans l'assemblage du peptidoglycane. Par contre, les Gram négatifs sont moins sensibles à la pénicilline car leurs enveloppes externes empêchent l'antibiotique d'atteindre la couche de peptidoglycane de la cellule.

##### ➤ **Action sur la membrane cytoplasmique**

Il existe quelques molécules d'antibiotiques qui agissent sur la membrane des cellules bactériennes, ce sont essentiellement des détergents qui jouent un rôle important dans la désorganisation des lipides ou la formation des pores dans la membrane qui provoque l'infiltration des composés cellulaires et la mort bactérienne (Brienne, Gayton, Mounier,2014).

##### ➤ **Inhibition de la synthèse des acides nucléiques**

La Rifampicine, Sulfamide, Quinolone et Trimètoprine sont des familles d'antibiotiques qui inhibent la synthèse et le fonctionnement des acides nucléiques (ADN, ARN) par

inhibition de la réplication de l'ADN et de la transcription de l'ARN et aussi la diminution de la synthèse des précurseurs nucléotidiques (Philippon, Arlet, 2005).

#### ➤ Inhibition de synthèse protéique

Les tétracyclines, aminosides, chloramphénicol, macrolides, acide fusidique et linézolide empêchent la traduction de l'ARNm par la fixation sur la petite sous-unité des ribosomes ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines (Boulaïbal, 2009) (figure 23).

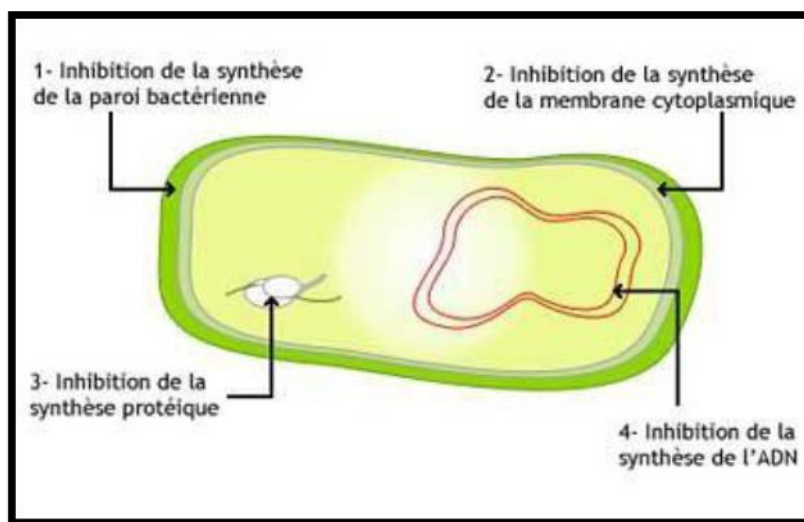


Figure 24 : Modes d'actions des antibiotiques. (Mandell, 1975).

### III.1.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne :

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* des extraits des plantes sont nombreuses et donnent parfois des résultats différents selon les conditions expérimentales adoptées par chaque manipulateur (Suhr et Nielsen, 2003).

Les méthodes d'évaluation les plus utilisées sont la méthode de diffusion sur l'Agar et la méthode de dilution. Dans la première méthode les extraits sont déposés sur des disques de papier ou dans des puits creusés dans l'Agar. Dans la seconde méthode, les extraits sont incorporés dans le bouillon de culture ou d'autres liquides dans lesquels les bactéries sont présentes. Ces différentes techniques sont répertoriées et décrites dans différentes publications (Lahlou, 2004 ; Bosio et al., 2000). C'est ce qu'on appelle l'aromatogramme.

#### III.1.5.1. Méthode de l'aromatogramme

L'aromatogramme est une méthode qui se réalise *in vitro*, basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu

gélifié ou encore méthode des disques. Le contact se fait par l'intermédiaire du disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée des extraits de plante. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale. L'aromatogramme se réalise aussi sur un milieu liquide par la méthode des disques (**Belaiche, 1979**).

#### **III.1.5.2. Méthode du puits ou cylindre**

Proposé par **Cooper et Woodman en 1946**, reprise par **Shroder et Messing (1949)**, elle mesure une diffusion radiale de l'extrait à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable. Elle consiste à découper un tronc circulaire vertical dans la gélose et d'y verser une solution d'extrait de concentration connue. L'extrait diffusant radialement créant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne ou fongique.

#### **III.1.5.3. Méthode de dilution**

Les extraits à tester peuvent également être directement mélangés en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide ou liquide sans oublier que les techniques de dilutions exigent une dispersion homogène. Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes et après incubation on note la présence ou l'absence de culture ; la lecture peut être visuelle ou spectrophotométrique car le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (**Ferhat, 2004**).

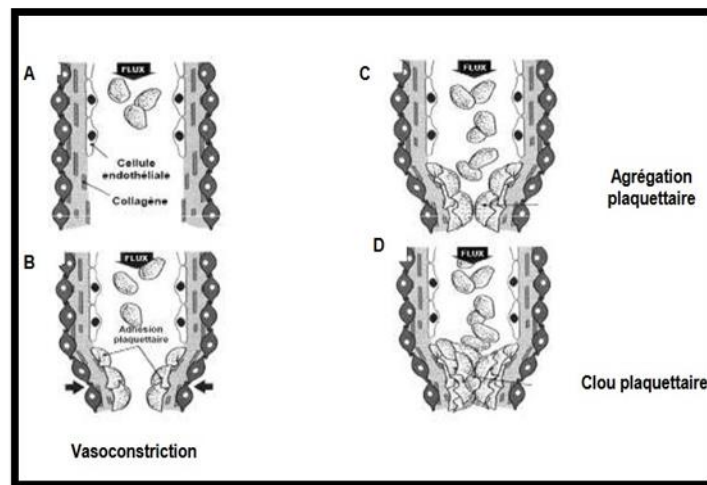
## III.2. Activité anticoagulante :

### III.2.1. Notion de l'hémostase

L'hémostase concerne l'ensemble des phénomènes qui contribuent à l'arrêt du saignement (lutte contre l'hémorragie) et ceux qui maintiennent le sang à l'état fluide dans les vaisseaux (lutte contre la thrombose). Elle résulte de trois processus complémentaires : L'hémostase primaire, la coagulation et la fibrinolyse (**Harif, 2007**).

- L'hémostase primaire : ferme la brèche vasculaire par un "thrombus blanc" (clou plaquettaire) (figure 24).
- La coagulation : qui consolide ce premier thrombus en formant un réseau de fibrine emprisonnant des globules rouges (thrombus rouge) ;
- La fibrinolyse : permet la destruction des caillots, ou la limitation de leur extension.

Ces trois étapes sont initiées simultanément dès que le processus d'hémostase est enclenché (**Schved, 2007**).



**Figure 25** : Etapes de l'hémostase primaire (**Harif, 2007**).

### III.2.2. Plaquettes sanguines

Les plaquettes sanguines sont de petites cellules sans noyau, formées dans la moelle osseuse, circulent dans le sang avec les globules rouges et blancs, et elles ont un rôle essentiel dans la coagulation du sang. Leur membrane plasmique est composée d'une double couche de phospholipides (PL) répartis de façon asymétrique. La membrane plaquettaire est riche en acide arachidonique et comprend des glycoprotéines (GP) dont les principales sont GPIIb/IIIa

et la GPIb ainsi que des récepteurs divers, dont le plus important est les récepteurs à la thrombine (Schved, 2007).

Le cytoplasme des plaquettes comporte deux réseaux de canaux :

- Le système canaliculaire ouvert qui fait de profondes invaginations de la membrane plaquettaire, permettent ainsi une communication rapide entre des éléments extra cellulaire et l'intérieur des plaquettes

-Le système tubulaire dense qui représente le lieu de stockage du calcium

### **III.2.3. Coagulation du sang :**

#### **III.2.3.1. Définition**

La coagulation est une réaction normale de l'organisme dont le but est la formation d'un caillot qui sert à stopper une hémorragie à la suite d'une brèche dans un vaisseau Sanguin. Pour cette raison, il considéré comme un phénomène essentiel dans la protection Du système vasculaire car il est lié à la transformation de fibrinogène en fibrine. Cette transformation à lieu après une série de réactions enzymatiques faisant intervenir de nombreux facteurs tant plasmatiques que plaquettaires (Ekoumou, 2003).

#### **III.2.3.2. Facteurs de coagulation**

Les facteurs de la coagulation, synthétisés pour la plupart par le foie, sont divisés :

- En précurseurs (pro-enzymes ou zymogènes) de sérine-protéases représentés parprothrombine (F II), proconvertine (FVII), anti-hémoph B (F IX), Stuart (FX), Rosenthal (F XI), Hageman (FXII).

- En cofacteurs représentés par proaccélérine (FV), anti-hémoph A (FVIII) et en fibrinogène qui est le substrat (FI). La vitamine K intervient au stade terminal de la synthèse de 4 facteurs de la coagulation (F II, VII, IX, X appelés facteurs vitamine K dépendants) en leur faisant acquérir la capacité de se complexer avec le calcium et les phospholipides. En l'absence de vitamine K, le foie libère des facteurs de la coagulation anormaux non fonctionnels appelés PIVKA (Protein Induced by Vitamin K Absence) (Moerloose et Boehlen, 2005).

Pour que l'activation enzymatique des facteurs de la coagulation se déroule normalement, la présence de phospholipides et de calcium est nécessaire. Les phospholipides proviennent de deux sources principales, les plaquettes et les tissus (thromboplastine



tissulaire). Le calcium est nécessaire à la plupart des étapes d'activation enzymatique de la coagulation (Schved, 2007).

Côté de ces facteurs, ils existent des systèmes inhibiteurs : système des antithrombines, système protéine C- protéine S, inhibiteur de la voie extrinsèque (TFPI pour Tissue Factor Pathway inhibitor). Ils sont prédominants dans le plasma et régulent en permanence le processus d'hémostase (Schved, 2007). Le Facteur von Willebrand (VWF) joue également un rôle dans la coagulation, il circule lié au facteur antihémothilique A qu'il protège contre la protéolyse. Ainsi, une diminution importante du facteur Willebrand entraînera une diminution du FVIII (Schved, 2007) (tableau 06) .

**Tableau 06 : Facteurs de la coagulation plasmatique (Boisseau, 1996).**

N° de facteurs	Nom de facteurs	Rôle	Lieu de synthèse
<b>I</b>	Fibrinogène	Substrat	Foie
<b>II</b>	Prothrombine	Zymogène	Foie
<b>III</b>	Facteur tissulaire	Cofacteur	Sous-Endothélium Cellules sanguines
<b>V</b>	Proéaccéléline	Cofacteur	Foie
<b>VII</b>	Proconvertine	Zymogène	Foie
<b>VIII</b>	Facteur antihémothilique A	Cofacteur	Foie
<b>IX</b>	Facteur antihémothilique B	Zymogène	Foie
<b>X</b>	Facteur Stuart	Zymogène	Foie
<b>XI</b>	Facteur de Rosenthal	Zymogène	Foie
<b>XII</b>	Facteur de Hageman	Zymogène	Foie

### III.2.4. Déroulement de la coagulation :

La coagulation peut être initiée de deux façons différentes. La première dite « voie extrinsèque » de la coagulation, est l'exposition du sang au contact du FT qui semble prépondérant et essentielle in vivo. La seconde, connue sous le nom de « voie intrinsèque » est l'exposition du sang au contact d'une surface chargée négativement. » (**Said et Rose, 2012**).

#### III.2.4.1. Voie endogène ou intrinsèque

Dans cette voie de coagulation, tous les éléments nécessaires de la coagulation sont présents dans le plasma sans apport extérieur.

D'abord, elle est déclenchée par l'activation du facteur XII par son contact aux structures électronégatives de la matrice sous-endothéliale (collagène, sulfatides, glycosaminoglycanes) (**Vogler et al., 2009**). Cette activation conduit par la suite à l'activation de pré-kallikréine en kallikréine qui à son tour peut activer le facteur XII. Après, ce dernier activé catalyse la transformation de la forme zymogène du facteur XI à la forme protéolytique activée qui active par la suite le facteur IX (**Vogler et al., 2009**). Puis, ce facteur se lie à la surface de phospholipides anioniques des plaquettes (PS) par l'intermédiaire des ions calcium et forme, en présence de son co-facteur, le facteur VIII, le complexe tenase qui est responsable de l'activation du facteur X (le facteur Stuart). Ce dernier forme avec son cofacteur, le facteur V (proaccéléline), les phospholipides plaquettaires et par l'intermédiaire aussi des ions de calcium le complexe prothrombinase qui catalyse la transformation de prothrombine (facteur II) en thrombine (**Ajjan et Grant, 2006**) (figure 25).

#### III.2.4.2. Voie exogène ou extrinsèque

La voie exogène est la voie la plus simple et la plus rapide que la voie endogène, car elle fait intervenir un nombre limité de facteurs (**Caen et al., 1975**). Cette voie est activée par un facteur non plasmatique qui est le facteur tissulaire, une glycoprotéine membranaire exprimée sur la surface des cellules endothéliales et les cellules de la matrice sous endothéliale. Lors d'une brèche vasculaire, le facteur tissulaire devient en contact avec le plasma ce qui permet l'interaction avec le facteur VII (pro-convertine) pour former un complexe enzymatique réactif (Facteur tissulaire-FVII). Ce complexe est responsable de l'activation de facteur X et aussi de facteur IX et par conséquent de prothrombine en thrombine (**Colvin, 2004**) (figure 25).

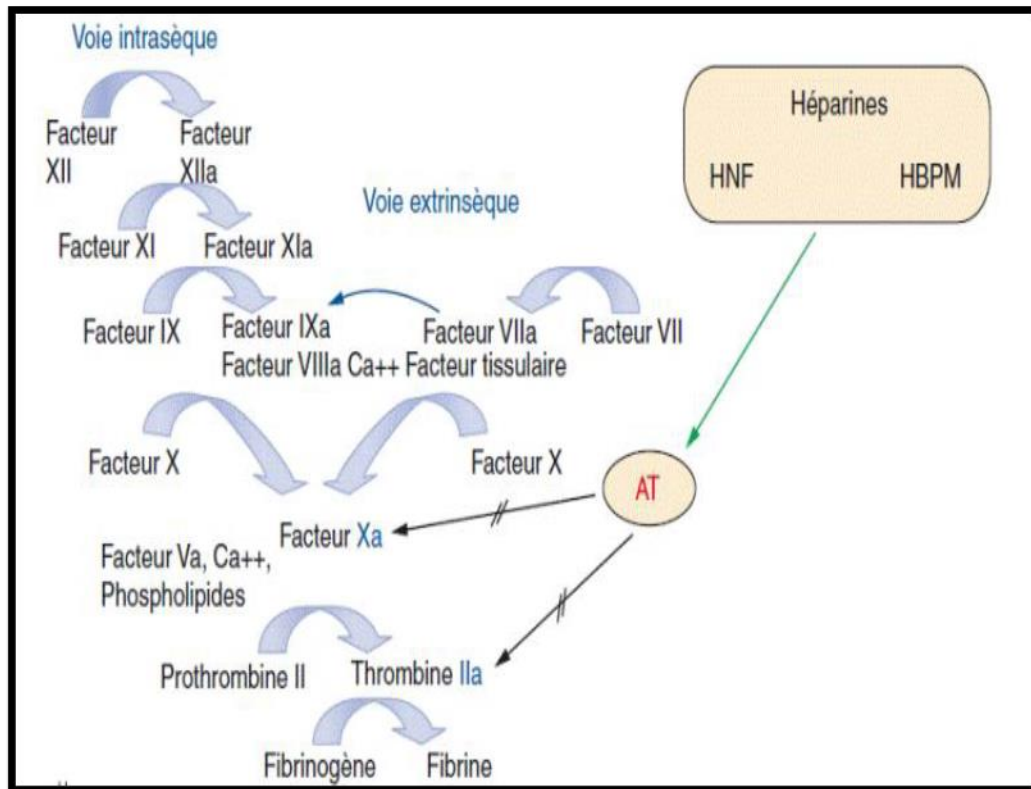


Figure 26 : Cibles principale de la cascade de coagulation (Colvin, 2004).

### III.2.5. Anticoagulants

Les anticoagulants représentent le traitement principal de la maladie veineuse thromboembolique. En effet, de nombreux anticoagulants agissant à différents niveaux de la cascade de la coagulation sont utilisés et ils sont regroupés en trois classes, deux classes sont des anticoagulants classiques (les héparines et les anti vitamines K) et la classe des Nouveaux anticoagulants (Batty et Smith, 2010).

#### III.2.5.1. Héparines

Il existe deux types des héparines utilisables et administrées par voie intraveineuse ou sous cutanée, l'héparine non fractionnée (HNF) et les héparines de bas poids moléculaire (HBMP) (Batty et Smith, 2010). L'héparine non fractionnée est composée d'un mélange hétérogène de chaînes polysaccharidiques sulfatées de taille et de structures différentes extraites de la muqueuse intestinale de porc. Le poids moléculaire varie de 5000 à 35000 daltons alors que les héparines de bas poids moléculaire sont issues de la dépolymérisation des chaînes polysaccharidiques de l'HNF par des procédés chimiques ou enzymatiques dont leurs poids moléculaires varient de 3000 à 5000 daltons. L'HNF et les HBPM forment un complexe avec l'anticoagulant physiologique l'antithrombine III potentialisant son effet sur

l'inactivation de divers facteurs de coagulation. Le complexe HNF-antithrombine III inactive le plus notamment les facteurs Xa et la thrombine (facteur IIa), mais à un moindre degré les facteurs IXa, XIa et XIIa, alors que le complexe HBPM-antithrombine III inhibe particulièrement le facteur Xa et à moindre degré la thrombine (**Batty et Smith, 2010**).

### III.2.5.2. Les anti vitamines K

La vitamine K est un élément nécessaire dans la synthèse au niveau du foie de quatre facteurs de la coagulation, la prothrombine II, la proconvertine VII, le facteur stuart X, et le facteur antihémophilique B (le facteur IX). Elle intervient dans la carboxylation des molécules d'acide glutamique de l'extrémité –N- terminale de la chaîne glycoprotéinique de chacun de ces facteurs. Cette carboxylation est nécessaire pour l'activité biologique et la fixation de ces facteurs sur les surfaces phospholipidiques plaquettaires. (**Vidal, 2009**).

### III.2.5.3. Les nouveaux anticoagulants

Des nouveaux anticoagulants sont actuellement utilisés à côté des anticoagulants classiques. Ils sont subdivisés selon leur mode d'action en deux catégories : les inhibiteurs indirects et les inhibiteurs directs. (**Girardel et Samama, 2006**). Les inhibiteurs indirects agissent en potentialisant l'activité de l'antithrombine III, et parmi lesquelles la fondaparinux et l'idraparinux qui sont des inhibiteurs synthétiques indirects et sélectifs du facteur Xa et ils sont constitués de 5 unités saccharides capables de modifier la conformation en augmentant l'activité inhibitrice naturelle de l'antithrombine III sur le facteur Xa (**Girardel et Samama, 2006**).

Les inhibiteurs directs agissent directement sur le facteur Xa ou la thrombine, et parmi lesquelles le DX-9065a, l'hirudin, l'argatroban,...etc. Le DX-9065a est un dérivé synthétique de l'acide propanoïque qui inhibe directement le facteur Xa libre et le facteur Xa lié dans le complexe prothrombinase (**Girardel et Samama, 2006**). alors que l'hirudin est un peptide de 65 acides aminés, extrait de la glande salivaire d'une espèce de ver (*Hirudomedicinalis*) et il inhibe directement et de façon irréversible la thrombine.

L'argatroban est un dérivé synthétique d'acide carboxylique qui inhibe directement la thrombine.

La thrombine formée par les deux voies catalyse la conversion de fibrinogène (FI) en monomères de fibrine qui s'associent les unes aux autres grâce à des liaisons hydrogène pour former un réseau fibrineux instable, où le facteur XIIIa (le facteur stabilisateur de fibrine) préalablement activé par la thrombine intervient pour la solidification du caillot fibrineux par l'établissement de liaisons covalentes entre les différentes molécules de fibrine (**Ajjan et Grant, 2006**).

A collection of laboratory glassware including Erlenmeyer flasks, test tubes, and a round-bottom flask, all containing various colored liquids (red, blue, green, yellow, purple). A glass rod is also visible. The items are arranged on a reflective surface.

*Partie 02*  
*Etude expérimentale*



***Chapitre I***  
***Matériel et méthodes***

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein des laboratoires pédagogiques du Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf – Mila, ainsi que le laboratoire d'analyse médicale. Dr Mirouh à Ferdjioua. Elle comporte quelques aspects d'ordre technique concernant le screening photochimiques, le dosage des polyphénols totaux et l'étude de deux activités biologiques de deux plantes médicinales ( *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L. ). Le choix de ces deux plantes a été fondé sur le fait d'utilisation dans le traitement des cicatrices, et plaies, notamment au niveau de l'estomac.

## I.1. Matériel et Méthodes :

### I.1.1. Matériel végétal

La matière végétale utilisée dans cette étude est achetée d'un herboriste à Ferdjioua. Elle est constituée des écorces de grenade (*Punica granatum* L.) et Germandrée tomenteuse (*Teucrium polium* L. ) (figures 26 , 27) .



**Figure 27** : sèche de *Teucrium polium* L.



**Figure 28** : écorces sèches de *Punica granatum* L.

### I.1.2. Matériel de laboratoire

Le matériel utilisé dans cette étude ainsi que les réactifs et les produits sont illustrés dans l'annexe 01.

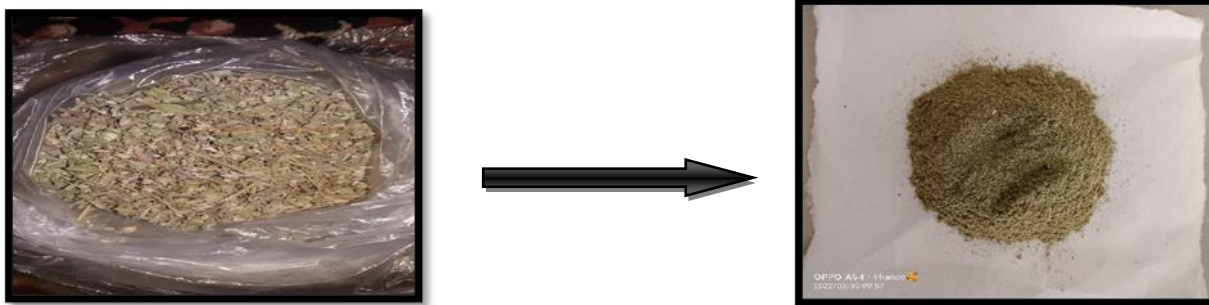
### I.1.3. Méthodes

#### I.1.3.1. Préparation du matériel végétal

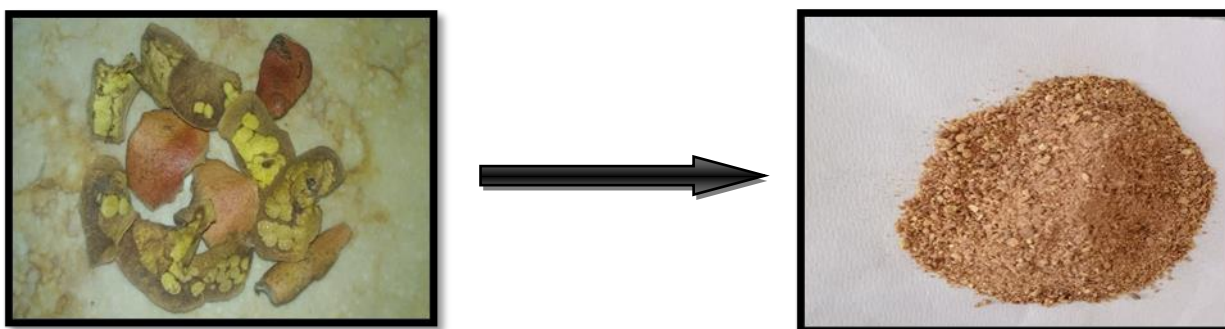
##### ➤ Broyage et tamisage

La plante et les écorces sèches sont broyées à l'aide d'un moulin électrique, pour obtenir une poudre, puis tamiser par un tamis, le broya (poudre végétale) est ensuite conservée dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockée à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation (figure 28, 29).





**Figure 29** : Broyage et tamisage du *Teucrium polium* L. (Photo personnelle ,2022).



**Figure 30** : Broyage et tamisage du *Punica granatum* L. (Photo personnelle ,2022).

### I.1.3.2. Analyse qualitative (Screening phytochimique) :

Les tests du screening phytochimiques sont réalisés sur deux différents types des plantes : les écorces de *Punica granatum* L et la plante de *Teucrium polium* L , ces tests consistent à détecter les différents composés chimiques existants dans une partie quelconque de la plante par des réactions soit de précipitation ou de coloration

#### ➤ Préparation de l'extrait éthanolique

Dans un Erlenmeyer, on a ajouté 50 g de chaque poudre végétale (Broya), puis 250 ml d'éthanol, l'ensemble est ensuite soumis sous agitation mécanique à une température ambiante pendant 3 jours. Le produit obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre de Whatman, après ; le filtrat obtenu est conservé dans un flacon en verre fermé hermétiquement et stocké à l'abri de la lumière jusqu' à utilisation.

#### a) Recherche de stéroïls et triterpènes

Dans un bécher, introduire 5 ml de l'extrait à analyser, puis 5 ml d'anhydride Acétique, et 5 ml de chloroforme. avec une pipette on ajoute ensuite 1 ml de l'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) concentré au fond de bécher sans agitation. après 20 min, on observe la formation des

anneaux rouge brunâtre ou violets au zone de contact avec le surnageant et une coloration verte ou violette dénotait présence de stérols et de triterpènes ( **Guedouri. R, 2012**).

**b) Recherche de coumarines**

Dans un tube à essai, on ajoute au 5 ml d'extrait éthanolique, 5 ml de KOH (10%) et 5 ml de HCl (10%), Après quelques secondes, on observe une précipitation rouge brune ; ce qui indique la présence des coumarines (**Koffi N et al., 2009**).

**c) Recherche des glucosides**

Pour détecter ces molécules, un mélange constitué de 1ml de l'extrait brut avec 2 ml d'eau distillé et 20 gouttes de liqueur de Fehling a été chauffé à 70 °C dans un bain marie, un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Bensalah . F, 2014**).

**d) Recherche des alcaloïdes**

1 ou 2 ml de l'extrait de filtrat ont été traité avec le réactif de wagner ; la formation d'un précipité brun, rougeâtre monte un résultat positif des alcaloïdes ( **Memelink et al .,2001**).

**e) Recherche des saponines**

2g de la poudre est mélangé à 80ml d'eau distillé puis porter à l'ébullition pendant 5 minutes. On filtre. L'extraits est ensuite, on refroidi et agité rigoureusement pendant 2 minutes. la formation d'une mousse permanente plus au moins importante > 1cm indique la présence des saponosides (**Benzahi . K, 2001 ; Caouch. N, 2001**).

**f) Recherche des flavonoïdes**

Pour le criblage des flavonoïdes, ajouter 5 ml d'extraits éthanolique et, quelques gouttes de HCl, quelque copeaux de magnésium (Mg). l'apparition d'une coloration rose ou rouge après 3 minutes prouve la présence des flavonoïdes ( **Karumi Yet Coll , 2004**).

**g) Recherches des tanins**

1 ml de l'extrait à tester a été ajouté à 2 ml d'eau distillé et 2 – 3 gouttes de la solution de chlorure ferrique FeCl<sub>3</sub> (1%) permet de détecter la présence ou non de tanins. L'apparition d'une couleur verte ou bleu – vert indique la présence de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (**Trease et al. ,1987 ; Douhou et al.,2003**).

**h) Recherche des anthraquinones libres**

Un volume de 5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10%) est mélangé avec 10 ml d'extrait, en maintenant l'agitation. L'apparition d'un anneau rouge indique la présence des anthraquinones libres (Oloyede , 2005).

**i) Recherche des quinones**

La présence des quinones libre est confirmée par l'ajoute de quelques gouttes de lessive de soude ( $\text{NaOH}$  1 %) sur 5 ml d'extrait de test.

Coloration : la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (Oloyede , 2005).

**j) Recherche des anthocyanes**

Les anthocyanes sont détectés en plaçant 5ml d'extrait dans un tube auxquels on ajoute 15ml d  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (10%) (milieu acide). Après agitation, le mélange est additionné de 5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10%) (milieu basique). La présence des anthocynes est affirmée par une coloration bleu – violacée en milieu basique (Bruneton , 1999).

**I.1.3.3. Extraction des polyphénols totaux****I.1.1.1.1. Préparations des extraits végétaux**

La macération est la méthode utilisée pour l'extraction des molécules bioactives. Cette méthode consiste à laisser le matériel végétal en contact direct avec un solvant pendant 24 heures à une température ambiante (température de laboratoire).

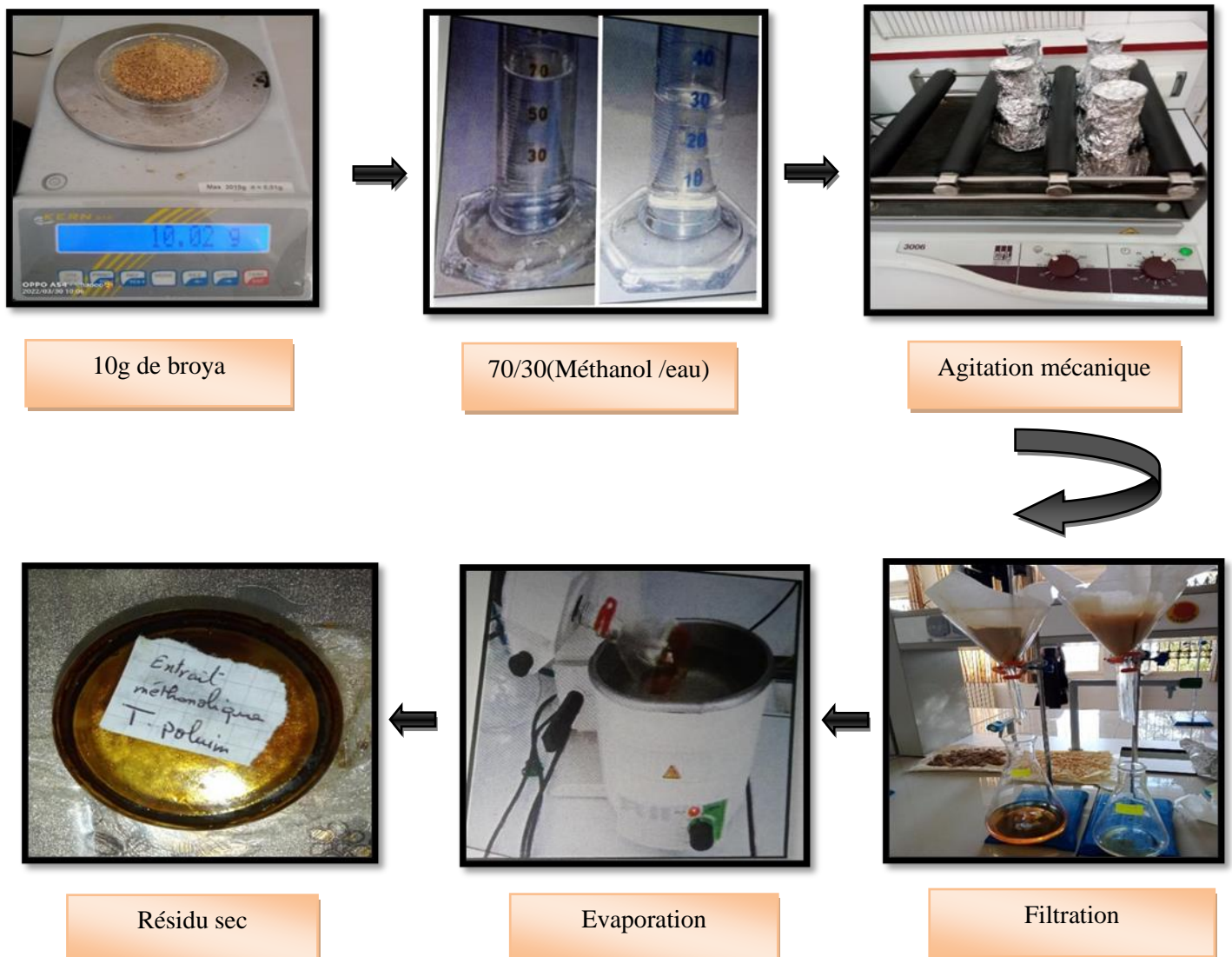
La méthode a pour but d'extraire le maximum des molécules chimiques contenant dans les graines de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

**➤ Préparation des extraits bruts méthanoliques**

Cette étape consiste à extraire le maximum des substances actives contenues dans les plantes en utilisant le méthanol comme solvant organique auquel nous avons ajouté une quantité d'eau pour en augmenter la polarité.

Selon le protocole de (Talbi et al., 2015), nous avons ciblé les composés phénoliques. Une quantité de 10g de la poudre est macérée pendant 3 jours dans une solution de méthanol/eau (70: 30, V/V) sous agitation mécanique à une température ambiante. Après filtration, Le filtrat obtenu est soumis ensuite à une évaporation par rotavapeur. Permettant

ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur marron, qui est considéré comme étant le résidu sec, ce dernier est stocké dans des boîtes de Pétries en verre fermées hermétiquement à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation (figure30).



**Figure 31** : Etapes de la macération méthanolique (photo personnel 2022).

### ➤ Préparation de l'extrait aqueux

Pour préparer un extrait aqueux, une quantité de 10g de broya (*Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L.) a été macéré dans 100 ml d'eau distillé sous agitation mécanique pendant une heure et à une température ambiante. La solution obtenue est filtrée à l'aide d'un papier filtre de type wattman.

Le filtrat est ensuite évaporé dans une étuve à une température de 40°C pour éliminer de l'eau. Le résidu sec obtenu est conservé dans un flacon opaque à basse températures jusqu'à leur utilisation (figure31).

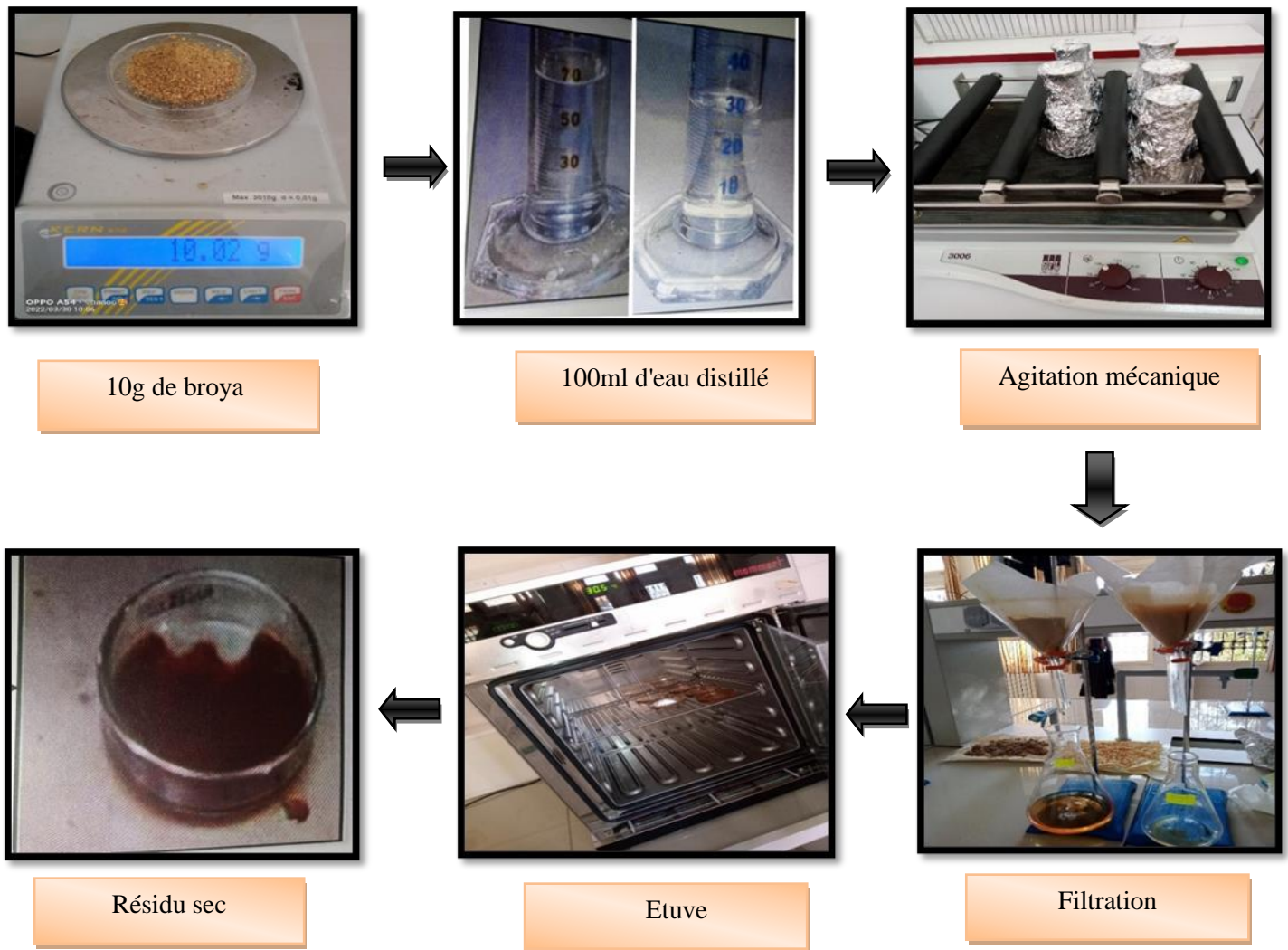


Figure 32 : Etapes de la macération aqueux (photo personnel 2022).

➤ **Rendement en extrait sec (Résidu sec) :**

Selon **Harbone ,1998** . Le rendement en extrait sec est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R\% = (Me/Mv) \times 100$$

**R%** : Rendement en %.

**Me** : Masse de l'extrait après évaporation du solvant.

**Mv** : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

#### I.1.4. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de Folin Ciocalteu) :

##### I.1.4.1. Principe

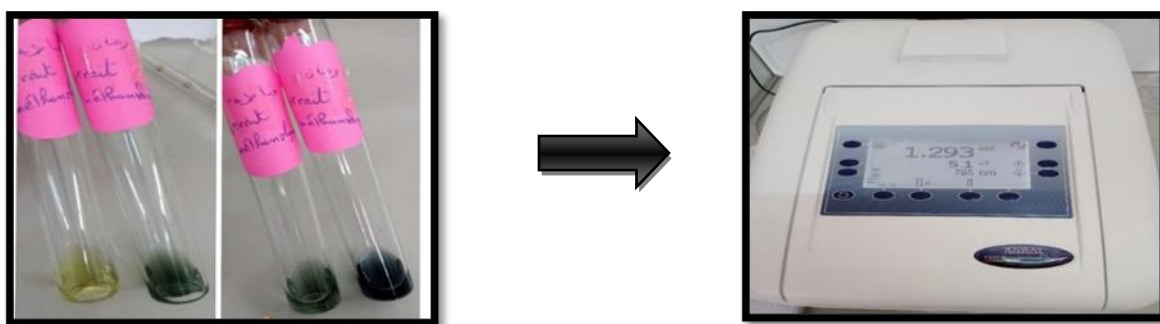
Le test est adapté par Singleton et Ross (en 1965) qui ont utilisé le réactif de Folin-Ciocalteu pour réaliser le dosage (Giner, 1996). Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ribéreau, 1968).

##### I.1.4.2. Mode opératoire

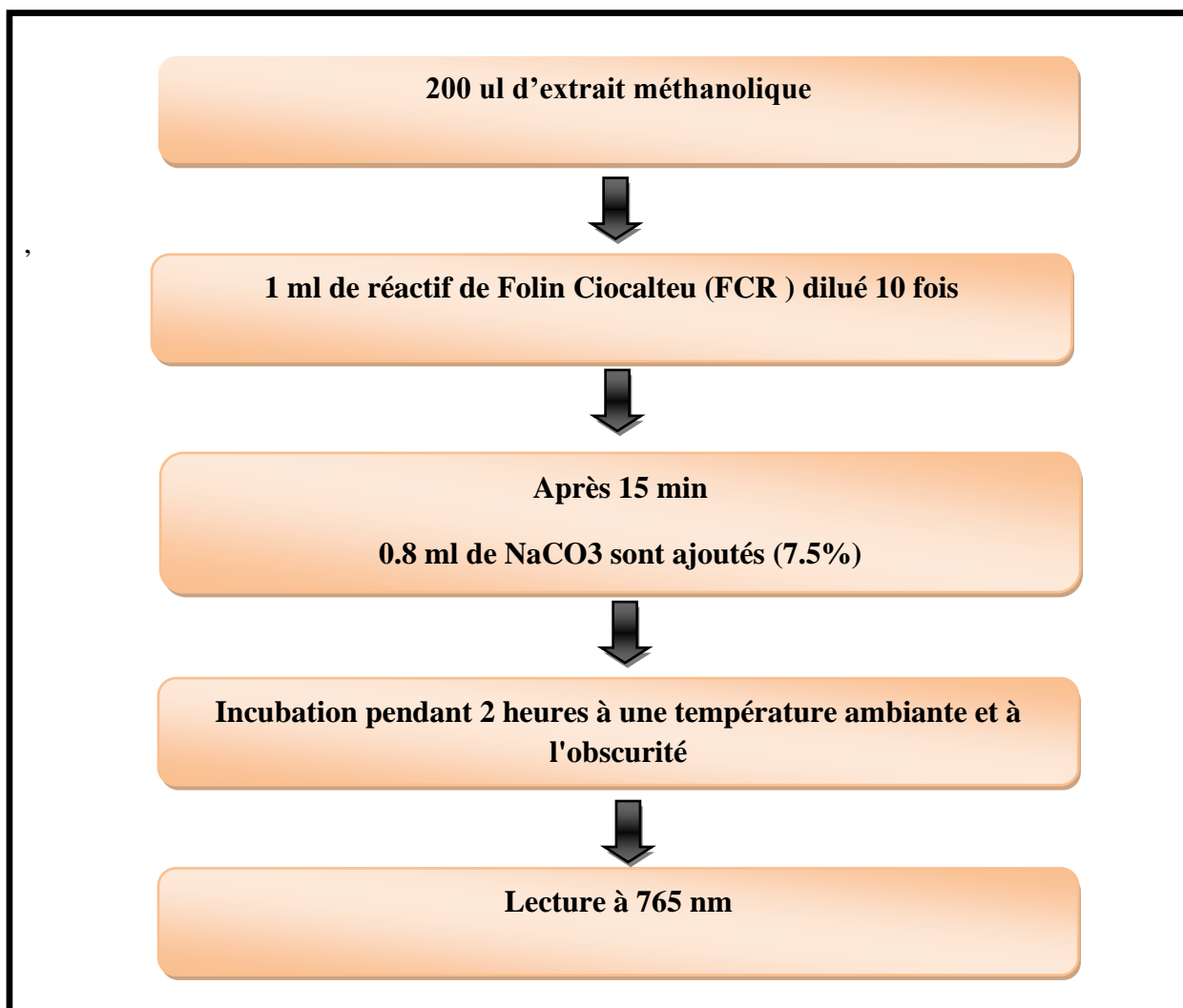
Ce dosage permet de déterminer la concentration en se référant à une courbe d'étalonnage réalisé à partir des concentrations connues d'acide gallique.

Mettre 0.2 ml (200 uL) d'extrait méthanolique, solution mère préparée de résidu sec de Concentration massique de 0.1g/ml, dans des tubes à essais, ajouter 1 ml de réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillée (1V/9V), Après 15 min d'incubation à température Ambiante, 800ul de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5%) dilué également dans l'eau distillée, sont additionnés au Mélange (figure33).

L'ensemble préalablement agité est incubé à l'abri de la lumière pendant 2 heures. L'absorbance est ensuite lue à 760 nm par un spectrophotomètre UV/visible (figure 32).



**Figure 33** : Etapes de dosage des polyphénols totaux (photo personnelle ,2022).



**Figure 34 :** Protocole de dosage des polyphénols totaux (Li *et al.*, 2007).

La courbe d'étalonnage linéaire ( $Y = ax$ ) est effectuée par l'acide gallique. A partir d'une solution mère aqueuse préparée de l'acide gallique de concentration massique 0,75g/1, des solutions filles sont ainsi préparées à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par 1g du poids de l'extrait sec (résidu).

Le blanc est représenté par le solvant utilisé additionné du Folin-Ciocalteu et de carbonate de sodium. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

#### **I.1.5. Etude de l'activité anti – bactérienne :**

L'activité antibactérienne. *in vitro* vis à-vis des différentes souches bactériennes (*Bacillus Cereus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) a été réalisée par la méthode de

diffusion de disque où les disques sont imbibés de 10 µl de chaque extrait (Sokmen et al., 2004). Dans le laboratoire d'analyses médicales de Dr. Mirouh à Ferdjioua Wilaya de Mila.

#### **I.1.5.1. Préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit :

Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 120°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

#### **I.1.5.2. Préparation des dilutions des extraits**

Les extraits méthanoliques et aqueux des deux espèces étudiées ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 100 mg/ml.

#### **I.1.5.3. Préparation de l' inoculum**

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 3 ml d'eau distillée stérile, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland, ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

#### **I.1.5.4. Ensemencement et dépôt des disques**

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées.

L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. Les disques imprégnés d'extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.



De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés et les disques Wattman imprégnés de DMSO (témoin négatif).

Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

### ➤ Lecture

Après l'incubation, l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. (Najjaa et al., 2007). La lecture des résultats se fait par la mesure de la zone d'inhibition (à l'aide d'une règle (mm) à l'extérieure de la boîte). Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi et al, 2006) (tableau 07).

**Tableau 07** : évaluation de l'effet antibactérienne selon diamètre d'inhibition (Choi et al., 2006).

Observation	Signe	Diamètre d'inhibition
Non sensible	(-)	<8 mm
Sensible	(+)	8 à 14 mm
Très sensible	(++)	15 à 20 mm
Extrêmement sensible	(+++)	>20 mm

## I.1.6. Etude de l'activité anti – coagulante :

### I.1.6.1. Coagulation du sang

La coagulation est une cascade de réactions enzymatiques aboutissant à la formation de fibrine. L'enzyme central permettant de transformer le fibrinogène en fibrine, est la thrombine. Le processus de formation de la thrombine est complexe avec une série d'activations enzymatiques qui surviennent à la surface des phospholipides membranaires des plaquettes, cellules endothéliales ou monocytes (Schved, 2007).

### I.1.6.2. Evaluation de l'activité anticoagulante des extraits

L'activité anticoagulante de nos extraits étudiés a été évaluée *in vitro* et *in vivo* vis-à-vis la voie exogène et endogène de la coagulation. Et ceci sur un pool de plasmas normaux

déplaquettés et à l'aide de deux tests globales et chronométriques ; le temps de Quick (TQ) ou nommé également taux de prothrombine (TP) et le temps de céphaline kaolin (TCK).

➤ **Préparation du pool plasmatique (standard) déplaquetté**

Le pool plasmatique déplaquettés est un mélange de plasma déplaquettés des volontaires 10 jeunes adultes sains non traités, dont les TQ et TCK sont normaux et comparables.

Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2 % et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang (1/9, v/v).

Le sang est ensuite centrifugé pendant 10 minutes à 3000 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Le plasma standard obtenu est conservé à basse température -10°C jusqu'à utilisation (figure 34) (Athukorala, et al., 2007).



**Figure 35 :** Etapes de préparation d'un pool plasmatique (Photo personnelle, 2022).

**I.1.1.1.2. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène :**

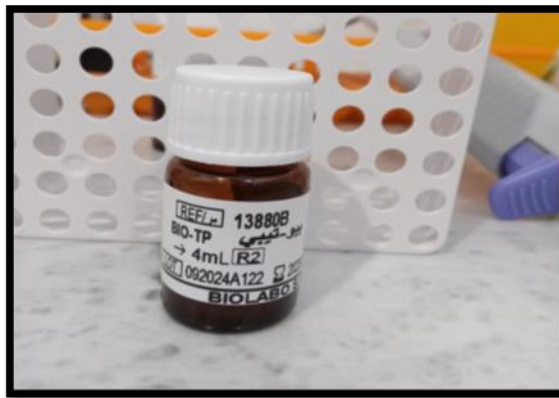
• **Temps de Quick ou taux de prothrombine (TQ)**

Le test de Temps de Quick (TQ) permet une exploration de la voie extrinsèque de la coagulation. Le TQ, converti en "taux de prothrombine" (TP) permet d'évaluer l'activité des facteurs du complexe prothrombinique en référence à un plasma normal à 100%. Cet examen consiste à mesurer le temps que met à se former un caillot de fibrine à 37°C lorsqu'on ajoute dans le plasma un excès de thromboplastine ou facteur tissulaire en présence de calcium. Normalement le caillot se forme en 12 à 13 s ce qui représente le temps de Quick. Le TQ explore les facteurs de la voie exogène de la coagulation : facteur VII, facteur X, facteur V, facteur II, fibrinogène (Caquet.R., 2004). Un temps de coagulation allongé par rapport à

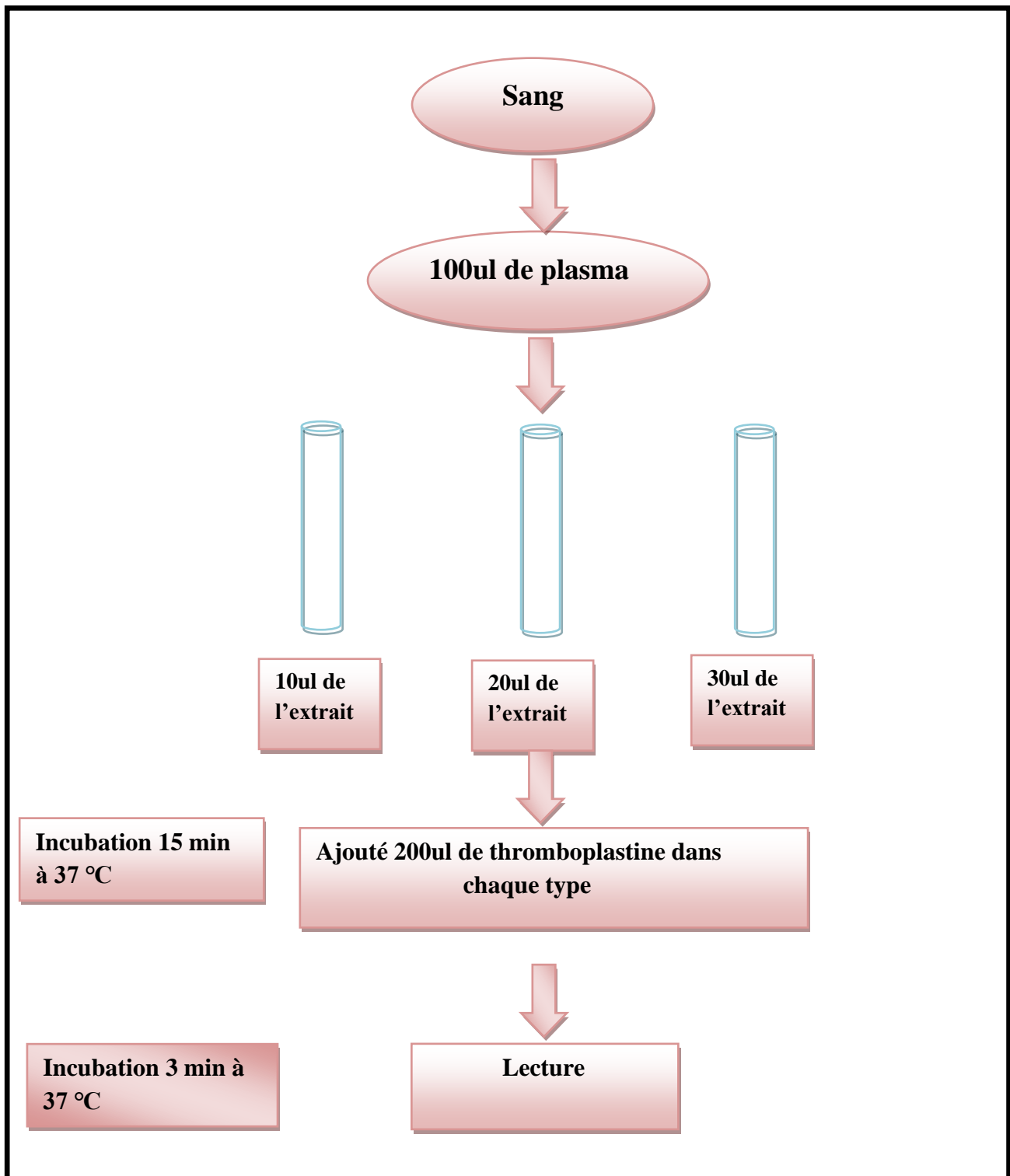
celui du contrôle négatif explique que l'échantillon exerce un effet anticoagulant vis-à-vis de cette voie de coagulation.

➤ **Mode opératoire**

L'effet des extraits sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par **Atbukorala et ses collaborateurs ,2007**. Différents volumes des extraits ont été préparés (10, 20,30 ul) et additionné à 100 ul du plasma standard pré incubé à 37C° durant 2 min, les mélanges sont ensuite incubés à 37C° durant 15 minutes. Après l'incubation, la coagulation a été déclenchée par l'addition de 200 ul de thromboplastine pré incubé à 37C° pendant 15 minutes, on mesure le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot fibrineux par l'agitation (figure 36). les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en seconde (s).



**Figure 36 : Réactif de thromboplastine (Tp) (Photo personnelle2022).**



**Figure 37 :** Représentation schématique des étapes d'étude de l'activité anticoagulante (TQ) (Atbukorala et ses collaborateurs ,2007).

### I.1.1.1.3. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène :

#### • Temps de céphaline Kaolin (TCK)

Cet examen consiste à activer la voie intrinsèque de la coagulation par différentes substances : le Kaolin (TCK = Temps de Céphaline Kaolin), ou plus souvent la selice micronisée ou l'acide ellagique. Dans ce test, la céphaline est un phospholipide qui remplace les plaquettes.

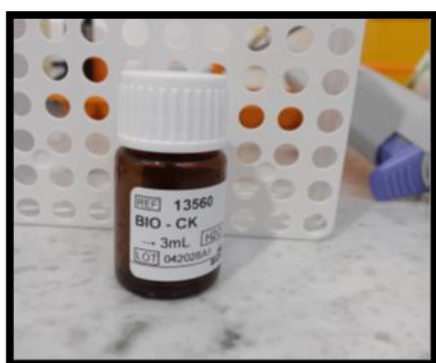
Chez l'adulte, la valeur normale moyenne du TCK est de 30 à 34 s habituellement. Un laboratoire doit donc toujours rendre un temps témoin pour permettre l'interprétation du test.

Le réactif de céphaline Kaolin (BIO-CK) permet la recalcification du plasma en présence d'une quantité standardisée de céphaline (substitut des plaquettes) et d'un activateur du facteur XII (Kaolin). Le kaolin présente le double avantage d'une lecture aisée et d'un temps de lecture plus court.

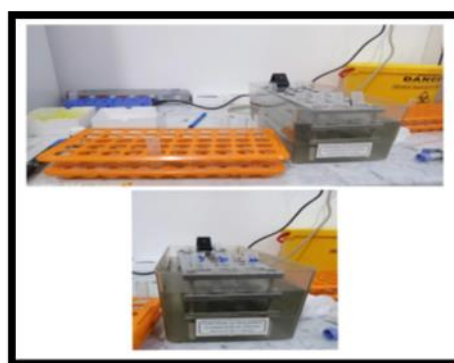
#### ➤ Mode opératoire

La procédure suivie dans la réalisation de ce test est celle pratiquée par **Athukorala et ses collaborateurs , 2007** .Avec modification.

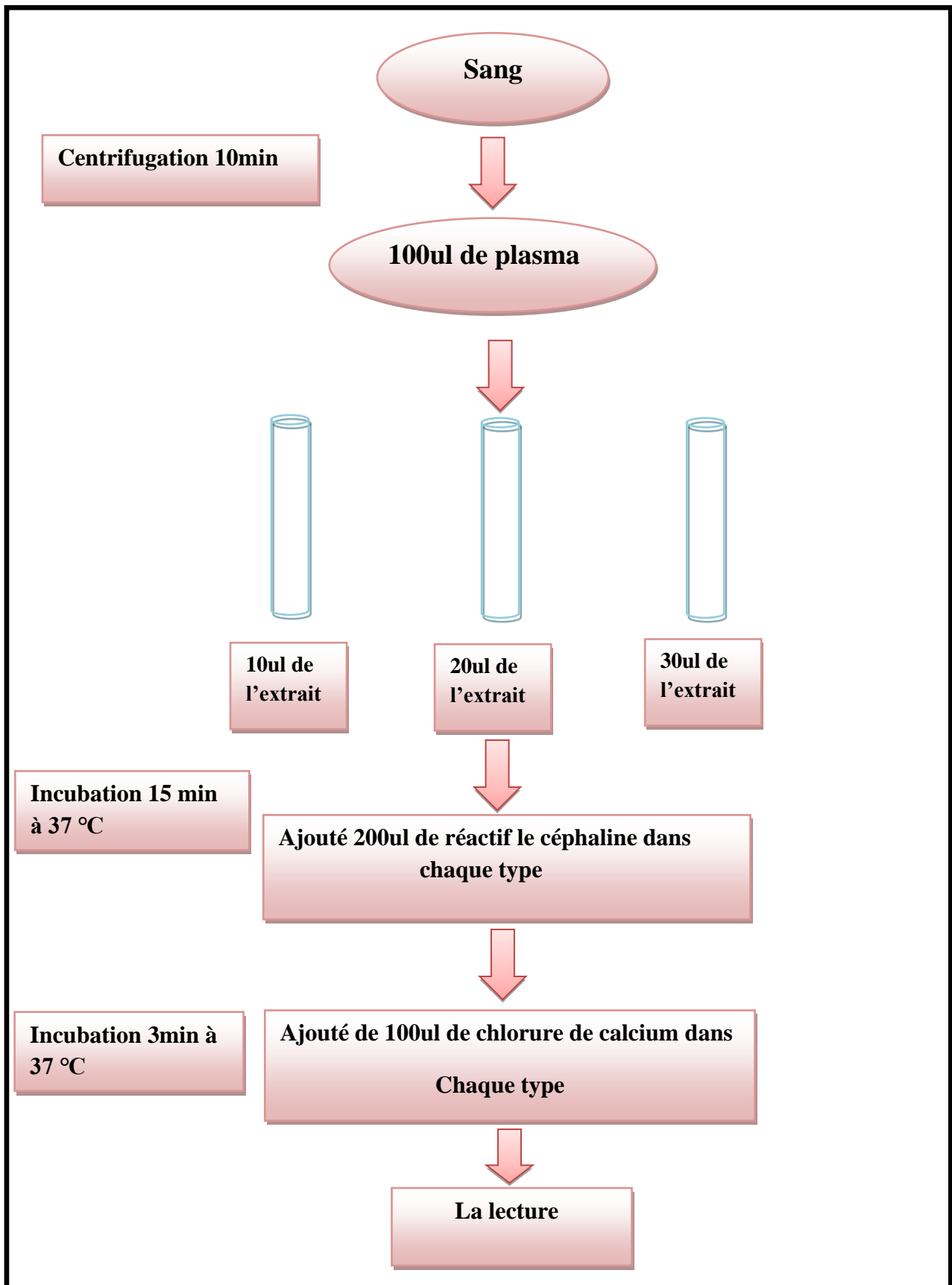
Un mélange de 100ul du Plasma avec différents volumes de nos extraits (10, 20, 30 ul), est incubé à 37°C pendant 15 minutes, puis on ajoute 100ul du réactif de céphaline, on laisse le mélange pendant 3 minutes, suivi d'une addition de 100ul de chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) préchauffé pour une reclassification du plasma. On mesure le temps qui s'écoule jusqu'à la formation de caillot fibrineux par l'agitation, les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en second (s)(figures 37,38 , 39).



**Figure 38** : Réactif de céphaline kaoline (BIO-CK) (Photo ersonnelle,2022)



**Figure 39** : Lecture des résultats de TCK



**Figure 40** : Représentation schématique des étapes d'étude de l'activité anticoagulante (TCK) (Atbukorala et ses collaborateurs , 2007).



*Chapitre II*  
*Résultats et discussion*

## II.1. Résultats et discussion :

### II.1.1. Screening phytochimiques

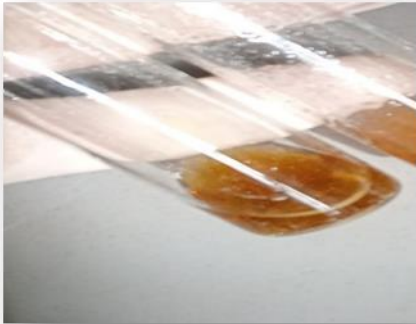
Les tests de screening phytochimique ont été réalisés sur deux différents extraits préparés à partir des *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L. Ils sont réalisés dans le but de déterminer les différents groupes chimiques présents dans les deux espèces étudiées.

Les tests de caractérisation sont basés sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité ou encore un changement de couleur spécifique.

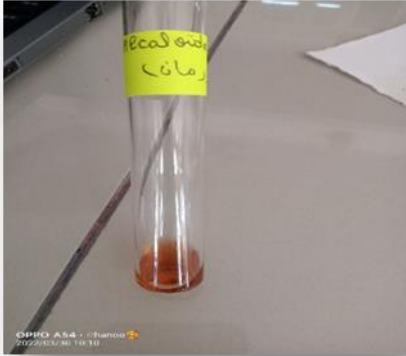


#### A. L'espèce *Punica granatum* L. :

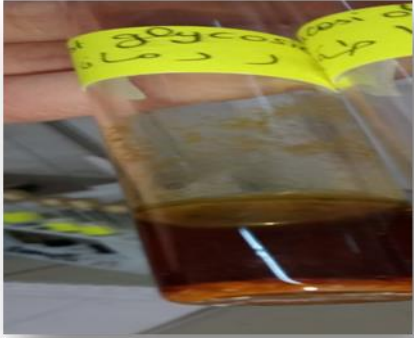

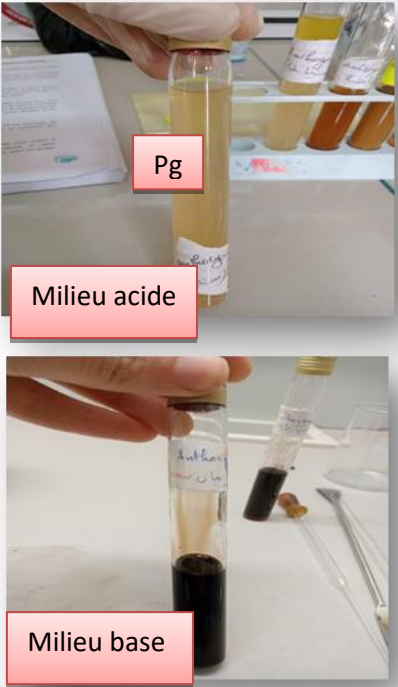
Les résultats des tests de screening photochimique de cette espèce sont représentés dans le tableau 08.

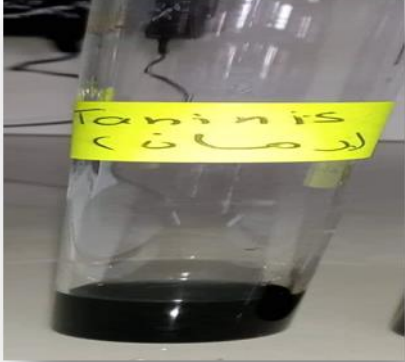
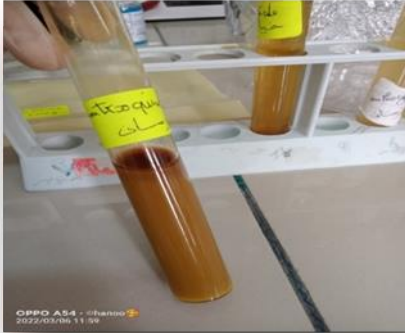

**Tableau 08** : Résultats d'analyse phytochimique des métabolites secondaire ( *Punica granatum* L .)

Tests	Résultats	Description des résultats	Photo
<b>Flavonoïdes</b>	+++	La coloration jaune confirme la présence des flavonoïdes dans le <i>Punica granatum</i> L .	



<p><b>Alcaloïdes</b></p>	<p>--</p>	<p>Il n y a pas de formation d'un précipité brun rougatre , ce qui confirme la présence des alcaloïdes .</p>	
<p><b>Stérols</b></p>	<p>++</p>	<p>Le résultat obtenu montre que cette espèce contient des stérols ,ce résultat est confirmé par la présence de l'anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux phases</p>	
<p><b>Coumarines</b></p>	<p>+++</p>	<p>Les coumarines sont présent dans le <i>Punica granatum.</i> , leur présences est confirmé par l'apparition d'une précipitation rouge brun</p>	

<p><b>Glucosides</b></p>	<p>++</p>	<p>La formation d'un précipité rouge brique , indique la présence des glycosides dans le grenade</p>	
<p><b>Saponosides</b></p>	<p>--</p>	<p>l'absence d'une mousse persistante confirme l'absence des saponines dans l'extrait de cette espèce</p>	
<p><b>Anthocyanes</b></p>	<p>--</p>	<p>Ce test est négatif dans les deux milieux (acide et basique) , cela confirmé par l'absence d'une coloration bleu – violacée</p>	 <p>Pg</p> <p>Milieu acide</p> <p>Milieu base</p>



<p><b>Tanins</b></p>	<p>+++</p>	<p>Ce test , nous a donné un résultat très positif , indiqué par l'apparition d'une coloration vire au bleu noir ce qui prouve la présence des tanins galliques .</p>	
<p><b>Anthraquinones libres</b></p>	<p>--</p>	<p>Ce test est témoigné par l'absence d'un anneau rouge indique la présence des anthraquinones libres dans le <i>Punica granatum L.</i></p>	
<p><b>Quinons</b></p>	<p>++</p>	<p>Le résultat de ce test est confirmé par l'apparition de la coloration jaune dans l'extrait de cette espèce.</p>	



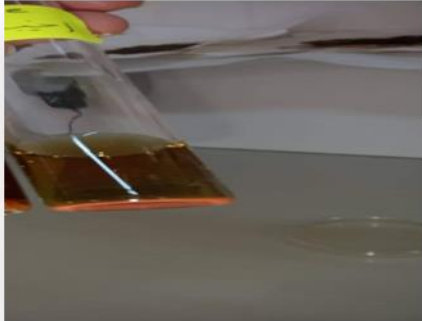
<p><b>Polyphénols</b></p>	<p>+++</p>	<p>L'apparition de la coloration verte prouve la présence des polyphénols .</p>	
---------------------------	------------	---	--




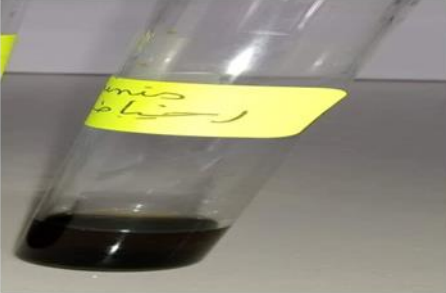
**B. L'espèce *Teucrium polium L.***


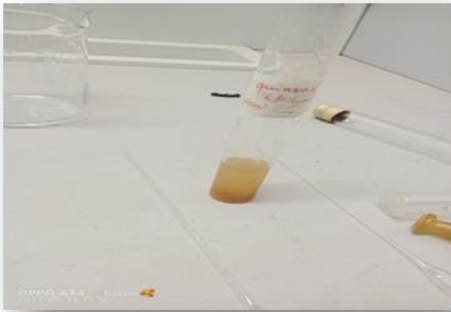
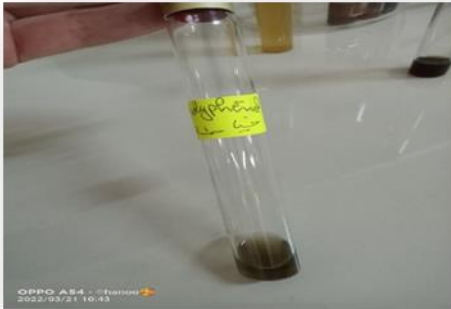
Les résultats des tests de screening photochimique de cette espèce sont illustré dans le tableau 09 .

**Tableau 09 :** Résultats d'analyses phytochimiques des métabolites secondaires (*Teucrium polium L.* )

<p><b>Tests</b></p>	<p><b>Résultats</b></p>	<p><b>Description des resultats</b></p>	<p><b>Photo</b></p>
<p><b>Flavonoïdes</b></p>	<p>--</p>	<p>L'absence de la coloration rose, qui confirme la présence des flavonoïdes dans l'espèce <i>Teucrium polium L.</i></p>	
<p><b>Alcaloïdes</b></p>	<p>-</p>	<p>la formation d'un précipité brun rougeâtre , confirme la présence des alcaloïdes</p>	

<p><b>Stérols</b></p>	<p>--</p>	<p>le résultat obtenu montre que le <i>Teucrium polium</i> L. ne contient pas des stérols, car l'absence de l'anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux phases.</p>	
<p><b>Coumarines</b></p>	<p>--</p>	<p>Ce test est témoigné par l'absence d'une précipitation rouge brune</p>	
<p><b>Glucoside</b></p>	<p>+</p>	<p>Le glycoside est présente dans l'extrait de <i>Teucrium polium</i> L. prouve la formation d'une précipitation rouge brique</p>	

<p><b>Saponosides</b></p>	<p>+</p>	<p>-la présence d'une mousse persistante confirme la présence des saponines dans l'extrait de <i>Teucrium polium</i> L.</p>	
<p><b>Anthocyanes</b></p>	<p>--</p>	<p>Ce test se révéla négatif dans les deux milieux (acide et basique), et cela est confirmé par l'absence d'une coloration bleu-violacée</p>	<p><b>milieu acide</b></p>   <p><b>milieu basique</b></p>
<p><b>Tanins</b></p>	<p>+++</p>	<p>Ce test, nous a donné un résultat très positif, indiqué par l'apparition d'une coloration vire au bleu noir ce qui prouve la présence des tanins galliques.</p>	

<p><b>Anthraquinone libre</b></p>	<p>--</p>	<p>Ce test est témoin par l'absence d'un anneau rouge indique la présence des anthraquinones libres dans le <i>Teucrium polium</i> L.</p>	
<p><b>Quinones</b></p>	<p>+</p>	<p>Ce test est confirmé par l'apparition de la coloration jaune dans l'extrait de <i>Teucrium polium</i> L.</p>	
<p><b>Polyphénols</b></p>	<p>+++</p>	<p>L'apparition de la coloration verte indique la présence des polyphénols .</p>	

(+++ ) : fortement positif

(++ ) : positif

(+ ) : quelques traces

( \_ ) : négatif

### ➤ Discussion

Les tests des saponosides, des alcaloïdes, des anthraquinones et des anthocyanes sont négatifs, de même les résultats réalisés par ; **Bhandary et al, (2012) ; Hegde et al .(2012) ; Uma et al . (2012) ;Kesure et al .,(2016)**, et cela soutient notre résultat.

Les résultats des tests phytochimique montrent que la « *Teucrium poluim L.* » est très riche en : tanins ; polyphénols ; elles renferment également des alcaloïdes ; glycosides ; saponosides ; quinones, tandis que les tests des stérols ; flavonoïdes coumarines ; anthocyanes ; anthraquinons sont négatifs. Nos résultats de tous les tests s'accordent avec ceux obtenus par **Asma Elbidi (2016)** . appart celui du test des stérols.

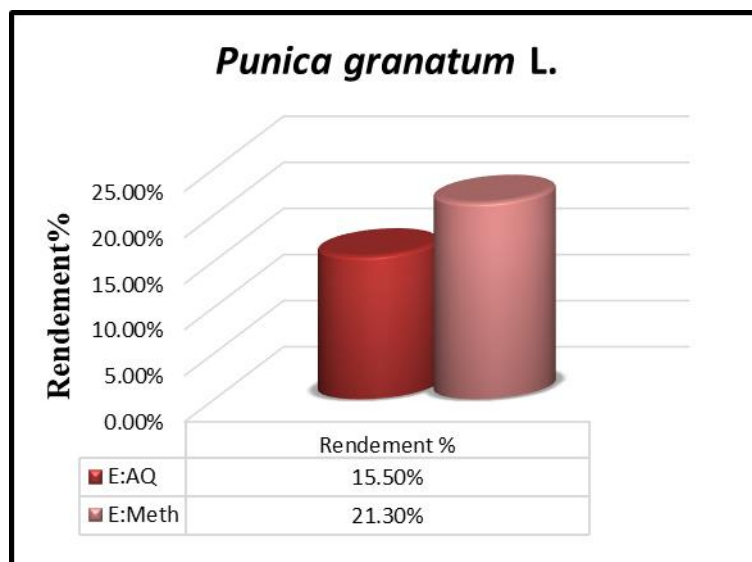
Toutes ces différences obtenues chez les deux espèces ( *Punica grnatum L. et Teucrium polium L.* ) peuvent être expliquer par des différences dans la composition chimique dépend du cultivar, de la région de culture, des conditions pédoclimatiques, du stade de maturité de fruit et des pratiques culturales, (**Skeekumer et al .2014 ; in Douaouri,2018**) Ou encore par le protocole suivi lors de l'expérimentation, les solvants et les réactifs utilisés .

#### **II.1.2. Extraction et dosage des polyphénols totaux :**

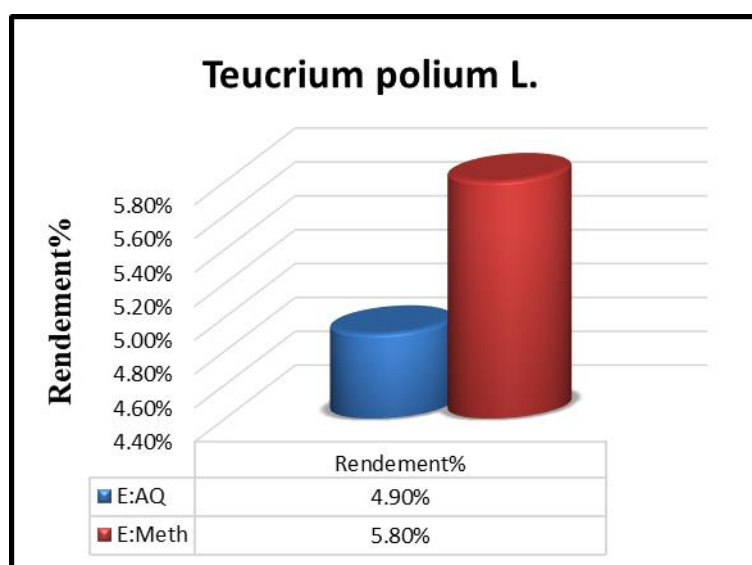
##### **II.1.2.1. Rendement en extrait brut**

Les rendements d'extraction de « *Punica granatum L.* » « *Teucrium poluim L.* » ont été déterminés par rapport au matériel végétal sec, et les résultats obtenus sont représentés dans la (figure 40 et 41 ).





**Figure 41 :** Rendement en extrait brut de *Punica granatum* L.



**Figure 42 :** Rendement en extrait brut de *Teucrium polium* L.

Au vu des résultats rapportés dans la Figure 40 et Figure 41. Il apparait qu'il y a un grand écart entre le rendement des extraits méthanoliques de *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L. Ces rendements sont estimés de 21,30% et de 5,80% respectivement.

Alors que les rendements des extraits aqueux des espèces *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L. appartiennent relativement moins faibles que ceux des extraits méthanoliques. Ils sont estimés de 15,50% et de 4,90% respectivement.

**A. L'espèce *Punica granatum* L.**

Nos résultats du rendement en extrait méthanolique (21,30%) est supérieur au ceux obtenus par **Maliviya et al. (2014)** (16,3%) ; par contre nos résultats (21,30%) se trouvent très faible que ceux de **Kanoun et al. (2014)** (37%).

Pour le résultat en extrait aqueux (15,50%) est supérieurs à celui obtenu par **Benhsouna et al. (2011)** ( 8,84% ).

**B.L'espèce *Teucrium polium* L.**

Nos résultats du rendement en extrait méthanolique (5,8%) est inférieur du rendement enregistré par **Krache Imane ,(2015)** ; qui a enregistré un rendement égal à 6.45 %.

Le rendement d'extraction pour les deux espèces se différent d'une étude à l'autre. Car le rendement semble être liée aux propriétés génétiques de la plante (un caractère quantitatifs), l'origine géographique, condition et à la durée de stockage de la récolte et aussi des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (nature de solvant et la méthode d'extraction **Lee et al.,(2003)**).

**II.1.2.2. Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux des extraits préparé à partir de l'écorces de *Punica granatum* L. et la plante sèche de *Teucrium polium* L. a été effectué par la méthode spectrométrique adapté avec le réactif de Folin – Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 765nm.

Les résultats obtenus pour l'acide gallique sont représentés dans une courbe d'étalonnage (figure 42) , ayant l'équation suivante :  $Y= 1,491 x + 0,0166$  et  $R^2 = 0,9934$

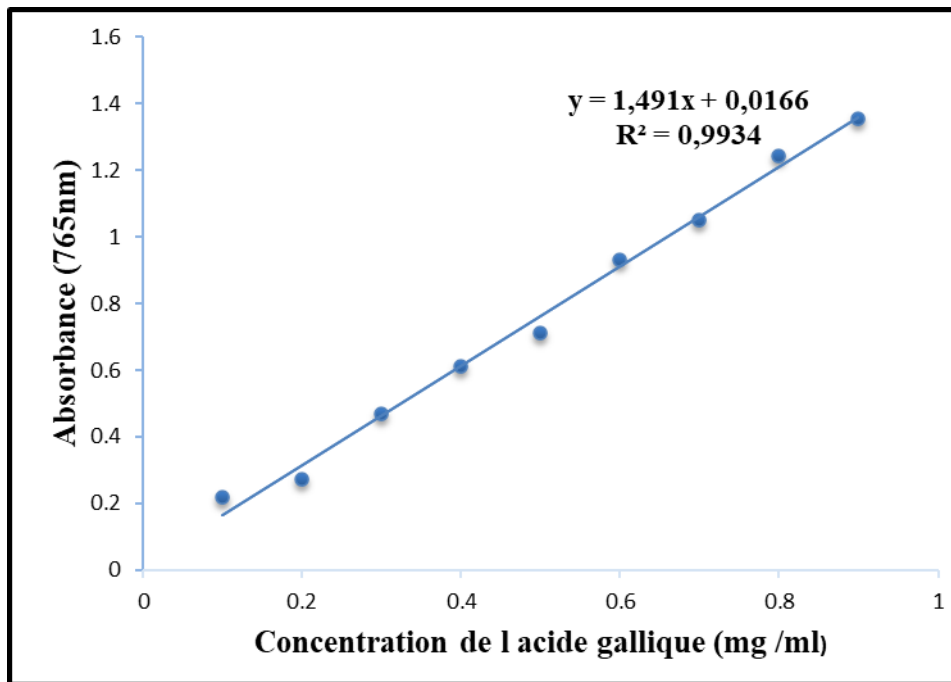
Avec :

Y : valeur d absorbance

x : concentration d'étalon en mg /ml

$R^2$  : coefficient de corrélation.

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait sec (mg EAG/g d'extrait) .

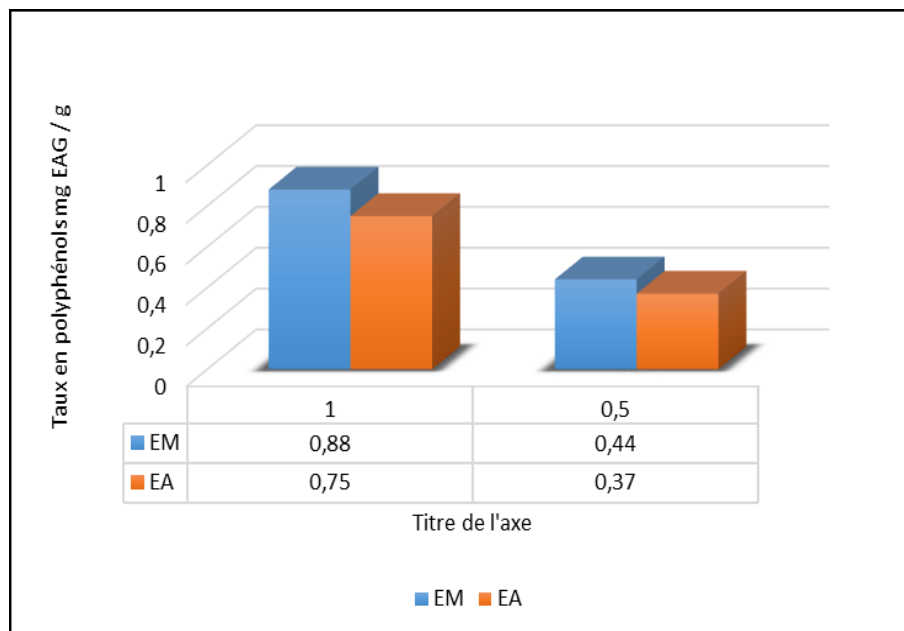


**Figure 43** : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

Les composés phénoliques forment le groupe des composés phytochimiques les plus abondants dans les plantes, leur teneur en composés phénoliques totaux illustrés dans les histogrammes ci-dessous :

### A) L'espèce *Punica granatum* L .

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux de *Teucrium polium* L. sont représentés dans la figure 44.



➤ Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures  $\pm$  écart type

**Figure 45 :** Teneur en polyphénols totaux de *Punica granatum* L .

La valeur de la teneur enregistrée dans la dilution  $\frac{1}{2}$  est de 0,44 mg EAG/g pour l'extrait méthanolique et 0,37 mg EAG/g pour l'extrait aqueux, ce qui traduit une teneur en polyphénols totaux de ( 0,88  $\pm$  0,06 mg EAG/g d'extrait sec) et ( 0,75  $\pm$  0,047 mg EAG/g d'extrait sec ) respectivement .

Nos résultats du dosage des composés phénoliques totaux dans l'extrait méthanolique de l'écorces de *Punica granatum* L .montre que ses écorces sont contient des polyphénols mais avec faible quantité (0,88  $\pm$  0,06 mg EAG/g) d'extrait sec), cette quantité reste inférieur à celle trouvée par **Safi .A et Benbrahim.R,(2016)**. qui ont enregistré des teneurs sont de ( 80mgEAG /g ).

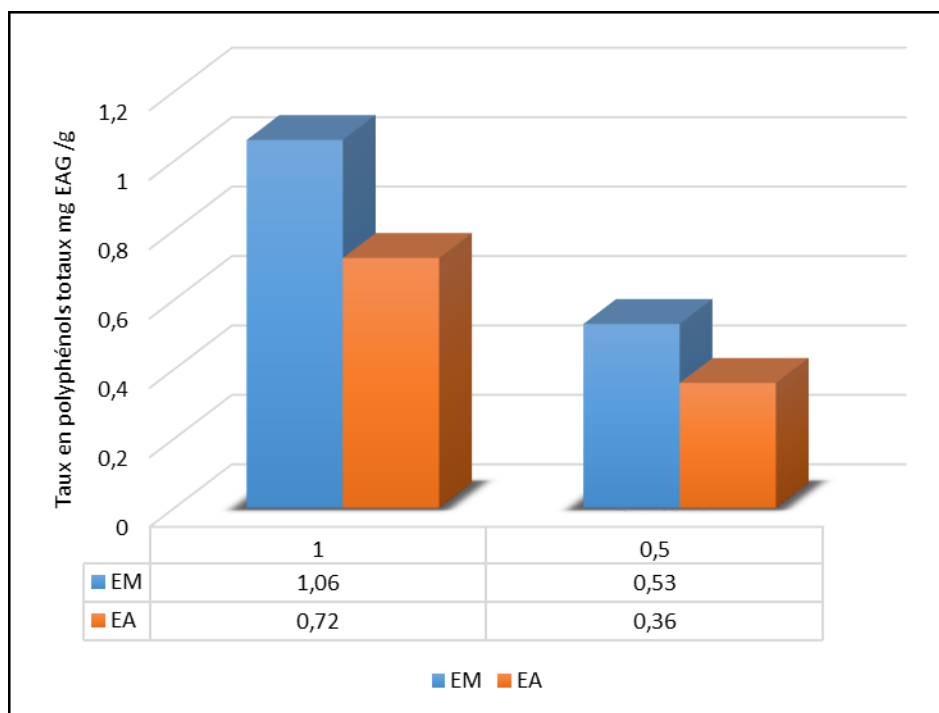
#### ➤ Discussion

Les résultats obtenus à partir du dosage des polyphénols totaux dans l'extrait aqueux de l'écorce de *Punica granatum* L., montrent que ses écorces contient des polyphénols mais avec des quantités considérables (0,75  $\pm$  0,047 mg EAG /g)

Ces résultats indiquent que la teneur des polyphénols totaux d'extrait aqueux est proche à celle de l'extrait méthanolique .

### B) L'espèce *Teucrium polium* L.

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux de *Teucrium polium* L. sont représentés dans la figure 46.



**Figure 47 :** Teneur en polyphénols totaux de *Teucrium polium* L. .

La valeur de la teneur enregistrée dans la dilution  $\frac{1}{2}$  est de 0,53 mg EAG/g pour l'extrait méthanolique et 0,36 mg EAG/g pour l'extrait aqueux ce qui traduit a une teneur en polyphénols totaux de ( 1,06  $\pm$  0,023 mg EAG/g d'extrait sec) et ( 0,72  $\pm$  0,015 mg EAG/g d' extrait sec ) respectivement .

Les résultats obtenues durant cette étude sont différents de ceux trouvés par quelque auteurs travaillants sur la même plante . En effet **Krache , (2017)**. a trouvé une valeur significativement supérieurs de notre résultats avec une teneur en polyphénols totaux de ( 18,63  $\pm$  3,51 mg EAG/g) , ainsi que **Djeribane et al.,(2006) ; Belmekki , (2009)**. ont trouvés la teneur phénoliques totale de (4,91 mg EAG/g) du matériel végétal sec.

La teneur en polyphénols totaux d'extrait aqueux de *Teucrium polium* L , est ainsi estimé au cours de notre analyse présentent une variation de 0,36 qui se traduit une teneur en polyphénols totaux de (0,72  $\pm$  0,015 mg EAG/g) , ces résultats obtenues indiquent que les

teneurs en polyphénols des extraits méthanoliques sont élevées par rapport aux ceux des extraits aqueux .

Cette différences dans les teneurs peut être expliquée par la méthode d'extraction, méthode de quantification peuvent être également influencer l'estimation de la teneur des phénols, aussi due à l'origine de la plante et les conditions climatiques telle que (La température, salinité ...) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaire (**Cheyrier et al .,2013**) .

La distribution des métabolites secondaires peut varier pendant le développement de la plante. Ceci peut être liée aux facteurs génétiques ou encore à la qualité du sol (**Fallah et al .,2008**) .

### **II.1.3. Activité anti bactérienne**

Afin de réaliser cette expérience, nous avons évalué *in vitro* le pouvoir antibactérien de deux extraits, de *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L. par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton). L'activité antibactérienne de nos extraits est estimée en terme de diamètre de zone d'inhibition (mm) autour des disques contenant l'extrait à tester contre trois germes pathogènes (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ), après 18 à 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

#### **II.1.3.1. Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques et de DMSO**

Les résultats de l'antibiogramme par la méthode de diffusion en disque de trois souches testées sont représentés dans le tableau 10.

**Tableau 10 :** Diamètres des zones d'inhibition des deux antibiotiques (témoin positif) testés et de DMSO (témoin négatif).

Les bactéries	Témoin positif (Les antibiotiques)		Témoin négatif
	Gentamicine CN 10	Trimethoprim- sulfamethoxazole SXT25	DMSO
<i>Bacillus cereus</i>	23 mm	30 mm	-
<i>Escherichia. Coli</i>	16 mm	23 mm	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30 mm	13 mm	-

(-): Absence de zone d'inhibition

D'après les résultats obtenus dans le tableau 10 et la figure 45, nous soulignons une variabilité dans la réponse des souches étudiées (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*,) vis-à-vis des deux antibiotiques (T+) testés. Par contre aucune réponse n'a été présentée avec DMSO (T-).

*Bacillus cereus* est une bactérie à Gram (+), elle est extrêmement sensible à l'antibiotique SXT25 (diamètre de zone d'inhibition de 30 mm), alors qu'elle a montré une sensibilité vis-à-vis de Gentamicine (diamètre de zone d'inhibition de 23 mm).

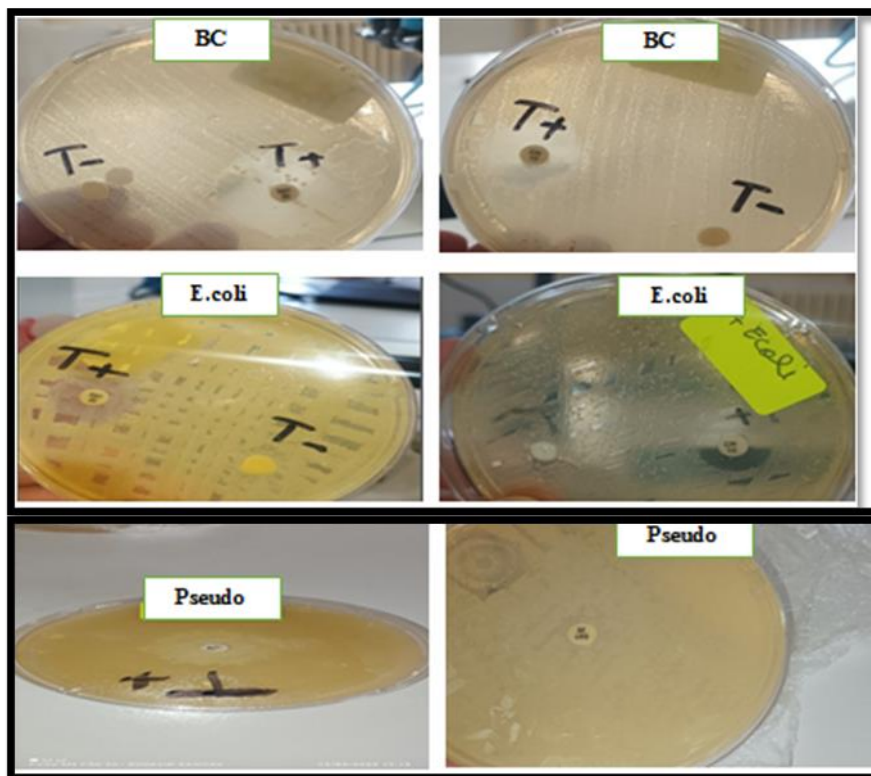
La bactérie *E. coli* (Gram -) est sensible à CN10 avec un diamètre de zone d'inhibition de 16 mm, alors qu'elle est sensible à SXT25 avec un diamètre de 23 mm.

*Pseudomonas aeruginosa* (Gram -) est extrêmement sensible vis-à-vis de CN10 avec un diamètre de zone d'inhibition de 30 mm, alors qu'elle a montré une sensibilité à l'antibiotique SXT25 (diamètre de zone d'inhibition de 13 mm).

La sensibilité de la souche *Pseudomonas aeruginosa* aux CN10 testés a montré un meilleur résultat par rapport aux autres bactéries étudiées avec un diamètre de zone d'inhibition de 30 mm .suivi par *Bacillus cereus* avec un diamètre de zone d'inhibition de 23 mm, et enfin *E. coli* avec un diamètre de zone d'inhibition de 16mm (figure 45 ).

D'autre part la sensibilité de souche *B.cereus* à l'antibiotique SXT25 a montré un meilleur résultat par rapport aux autres bactéries étudiées avec un diamètre de zone

d'inhibition de 30 mm .suivi par *E. coli* avec un diamètre de zone d'inhibition de 23 mm, et enfin *P.aeruginosa* avec un diamètre de zone d'inhibition de 13mm (figure 45).



**Figure 48 :** Effet des antibiotiques et de DMSO sur les bactéries testées (Photo personnelle ; 2022).

### II.1.3.2. Résultats de l'activité antibactérienne des deux espèces étudiées

Les différents mesures des diamètres des zones d'inhibitions de l'activité antibactérienne des extraits de *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L vis – à –vis les trois souches testées sont repris dans l'annexe 03.

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique et aqueux de *Teucrium polium* L. et *Punica granatum* L. sur différents germes (Gram (+) et Gram (-) par la méthode de l'antibiogramme donne des diamètres qui varient en fonction de la souche testée. Les diamètres des zones d'inhibition des extraits contre les microorganismes testés sont représentés dans les **tableaux 11, 12.**



**Tableau 11 :** Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne testés par Les deux extraits de *Punica granatum* L . (en mm).

Diamètre de zone d'inhibition en mm					
Gram	Souches bactériennes	Solution mère		Dilution 1/2	
		Méthanolique	Aqueux	Méthanolique	Aqueux
Positif	<i>Bacillus Cereus</i>	11,5 ±2,121	11± 0,00	10 ± 0,00	–
Négatif	E. coli	–	–	–	–
	<i>Pseudomonas aeroginosa</i>	–	–	–	–

\_ aucun zone d'inhibition .

**Tableau 12 :** Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne testés par Les deux extraits de *Teucrium polium* L . (en mm)

Diamètre de zone d'inhibition en mm					
Gram	Souches bactériennes	Solution mère		Dilution 1/2	
		Méthanolique	Aqueux	Méthanolique	Aqueux
Positif	<i>Bacillus Cereus</i>	–	–	–	–
Négatif	E. coli	–	–	–	–
	<i>Pseudomonas aeroginosa</i>	–	–	–	–

Les résultats révèlent des réponses variables en fonction des souches testées, de la Concentration, type de l'extrait étudié (méthanolique et aqueux) et de la plante étudiée.

Dans les deux espèces (*Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L.), tous les extraits ont réagi négativement sur les souches microbiennes testées (*Bacillus Cereus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) à part que dans le cas où l'espèce *Punica granatum* qui nous a donné un résultat positif avec la souche (*Bacillus Cereus*) avec un diamètre d'inhibition de 11,5mm avec l'extrait méthanolique et 11 mm avec l'extrait aqueux, cela montre que la plante de *Punica granatum* L. est douée de propriétés antimicrobiennes.

### ➤ Discussion

D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'effet antibactérien de *Punica granatum* L. est absente sur les deux souches étudiés (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), mais présent sur la souche (*Bacillus Cereus*).

Nos résultats sont similaires avec l'étude de **kaci-meziene et al., (2017)** qui ont montré que les souches de *P.aeruginosa* et *E.coli* présentent une résistance envers les deux types de sous-produits étudiés (jus et écorce de *Punica granatum* L.), et ceci est expliqué par le fait que cette dernière a développé des mécanismes de résistance aux agents antibactériens présents dans les extraits.

Nos résultats s'accordent aussi avec ceux obtenus par **Alexandre et al. (2019)** qui ont montré que les deux extraits de *Punica granatum* L. présentent une activité antibactérienne contre la bactérie *Bacillus cereus*.

Les bactéries à Gram positif n'ont pas de membrane extérieure, ce qui facilitera la diffusion des acides phénoliques à travers la paroi cellulaire par rapport aux bactéries à Gram négatif. La membrane interne des bactéries à Gram négatif agira comme une barrière à l'hyperacidification et cela peut expliquer la résistance différente des bactéries à Gram positif et Gram négatif à l'action des composés phénoliques (**Alexandre et al., 2019**).

Pour l'espèce *Teucrium polium* L. On peut montrer à partir de notre étude l'absence de l'effet antibactérien de *Teucrium polium* L. sur différentes souches bactériennes de gram positif et négatif. Cette absence est due à l'absence des flavonoïdes qui est de métabolite secondaire réputé pour l'effet antibactérien (**Havsteen, 2002 ; Sosa et Tonn, 2006**).

Nos résultats de l'extrait méthanoliques sont pas compatibles avec ceux de (**Darabpour et al., 2010 ; Darwish et Aburjai, 2010 ; Belmekki et al., 2013**) qu'ils ont démontré que

l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* L présentait une efficacité antimicrobienne acceptable.

D'après ces résultats, il semble que la variabilité de l'activité antibactérienne est probablement due à une sensibilité relativement différente des bactéries et/ou la présence d'une sélectivité vis-à-vis les extraits des plantes. Ce qui explique que l'activité antibactérienne varie d'une plante à une autre et d'un germe à l'autre **Yameogo, (2003)**. Les travaux de **Weber et al., (1996)**, ont indiqué que les composés phénoliques sont reconnus toxiques et auraient pour cible les enveloppes des microorganismes telles que la membrane plasmique et la paroi .

#### **II.1.4. Activité anti coagulante :**

Le pouvoir anticoagulant des extraits méthanoliques , aqueux et résidu méthanolique dilué dans l'eau (RME) des écorces de *Punica granatum* L. et *Tecrium polium* L. a été évalué *in vitro* vis-à-vis de deux voies de la coagulation –la voie endogène et la voie exogène d'une manière non spécifique le TCK et le TQ respectivement.

##### **II.1.4.1. La voie exogène (TQ)**

Le temps de Quick(TQ) ou le taux de prothrombine (TP) est le test qui permet d'explorer globalement la voie exogène de la coagulation où le facteur tissulaire est le déclencheur de cette voie.

Le TQ normal est compris entre 12 et 14S selon le réactif. Dans le but de rechercher un allongement au niveau du temps de coagulation qui se définit par une activité anticoagulante des extraits méthanoliques, aqueux et résidu méthanolique dilué dans l'eau (RME) de *Punica granatum* L. et *Tecrium polium* L. de vis-à-vis de la cascade de cette voie . Un temps de coagulation (TQ ou TP) allongé par rapport à un témoin positif de TQ de 14S et un témoin négatif ( Lovinox) incoagulable .

#### **A . L'espèce *Punica granatum* L.**

Dans un premier temps, différents volumes (10, 20,30 ul) des extraits méthanoliques, aqueux et RME de *Punica granatum* L. ont été incubés pendant 15 min avec le pool de plasma à fin de déterminer le volume optimal pour obtenir une activité anticoagulante vis-à-vis à la voie exogène élevée.

L'extrait méthanolique et l'extrait RME de *Punica granatum* L. s'avèrent incoagulable comme (Lovenox) avec les trois volumes testés, du même pour le volume (20ul et 30ul) de

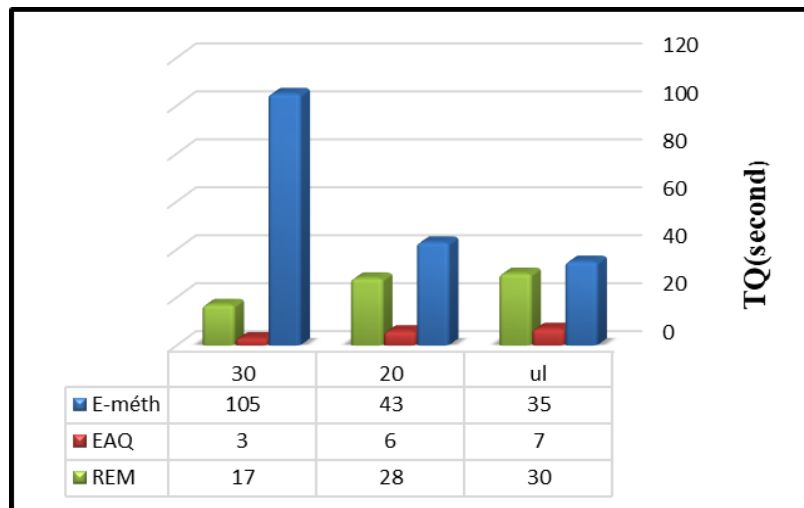
l'extrait aqueux et seul volume 10ul qui nous a donné un effet anticoagulant avec un TQ de 94s et avec un temps d'allongement de 80s.

**B. L'espèce *Teucrium polium* L.**

Lors de la deuxième étape différente (10, 20,30µl) des extraits méthanoliques, aqueux et RME de *Teucrium polium* L. ont été incubé pendant 15 min avec le pool de plasma pour déterminer le volume optimale pour obtenir une activité anticoagulante vis-à-vis à la voie exogène élevée.

D'après les résultats de l'activité anticoagulante de l'espèce *Teucrium polium* L. (figure 46) il ressort que l'extrait aqueux testé de cette espèce a un effet coagulant proportionnel avec le volume prélevé avec un TQ de (7S,6S, 3S) respectivement. Cependant l'extrait méthanolique et RME ont présenté un effet anticoagulant important; pour l'extrait Méthanolique le TQ (35S, 43S, 105S) est proportionnel avec les volumes (10ul, 20ul, 30ul) avec un temps d'allongement de (21S, 29S , 91S ) respectivement.

Alors le RME montre un effet anticoagulant moins important que celui de l'extrait méthanolique avec des TQ de (30ul , 28ul , 17ul) qui sont inversement corrélé avec les trois volumes (10ul , 20ul , 30ul) avec des d' allongement de (16S ,14S , 3S) respectivement.



**Figure 49 :** Capacité anticoagulante des extraits méthanoliques , aqueux et RME de *Teucrium polium* L . vis-à-vis de la voie exogène

Ces résultats nous a permis de déduire que le méthanol a changé l'effet coagulable de cette espèce.

D'après les résultats obtenus sur l'effet anticoagulant des trois extraits étudiés, on peut conclure que notre espèce dans son état naturel (extrait aqueux) très efficace pour traiter les hémorragies et cela confirmé par son effet anti cicatriciel (Raber El Maizi. F ; Abedlali. D 2017) .

#### II.1.4.2. La voie endogène (TCK)

L'évaluation de la capacité anticoagulante des extrait méthanolique, aqueux et RME de *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L. vis-à-vis à la voie endogène de la coagulation a été réalisée à l'aide du test de temps de céphaline kaolin (TCK) et la voie commune (facteur X, V, II, fibrinogène) de la coagulation.

Le teste TCK est activé par le contact entre le facteur XII et la surface électronégative de l'activateur qui est le kaolin (substitut du collagène e de tissu conjonctif in vivo).

Cette interaction induit l'activation du facteur XII et par conséquence l'activation séquentielle des facteurs XI, IX, X et la thrombine (facteur. II)

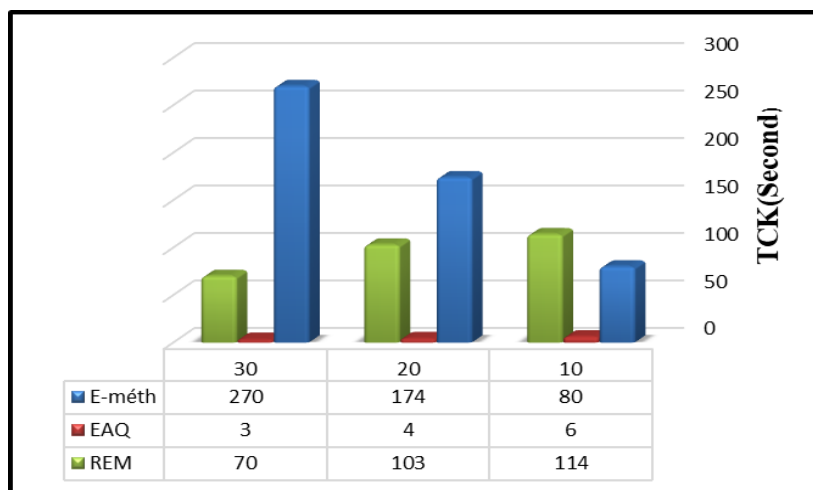
Un temps de coagulation (TCK) allonger par rapport à un témoin de TCK de 32S, le TCK normal est compris entre 30 et 40S selon le réactif.

##### A. L'espèce *Punica granatum* L.

Les trois volumes (10, 20, 30ul) de l'extrait méthanolique, aqueux et RME ne présentent aucun effet anticoagulant, plus important que celui le témoin négatif (Lovenox).

##### B. L'espèce *Teucrium polium* L.

L'extrait méthanolique de *Teucrium polium* L. présent une action anticoagulante avec un temps de coagulation très long qui dépasse (4:30 min ) avec les trois concentrations testés (10 , 20, 30ul ),cette action est presque similaire à celui de lovenox (5min) il est du même pour RME qui présente également un effet anticoagulant avec des temps de coagulation moins importants (1 :54min) que celui de l'extrait méthanolique , avec les trois concentrations ce qui confirme l'effet de la dilution avec l'eau distillé sur le résultat (figure 47).



**Figure 50 :** Capacité anticoagulante des extraits méthanoliques, aqueux et RME de *Teucrium polium* L. vis-à-vis de la voie endogène.

### Discussion

A la lumière de la bibliographie effectuée sur l'activité anticoagulante des extraits méthanoliques et aqueux de *punica granatum* L. *Teucrium polium* L., il a été clair que ce test n'est pas vraiment connu et réalisé par les chercheurs pour utiliser les extraits des plantes médicinales comme anticoagulants ou coagulants. Malgré que l'héparine est le médicament, qui est largement utilisé comme anticoagulant pour le traitement et la prévention des maladies thrombotiques et pour maintenir la fluidité du sang dans les dispositifs extracorporels (M. Johnell, G. Elgue, R. Larsson, A. Larsson, S. Thelin, and A. Siegbahn, 2002). mais malheureusement, la principale complication de l'héparine en tant qu'anticoagulant comprend des saignements occasionnels menaçant le pronostic vital et une thrombocytopénie induite par l'héparine (A. Greinacher and T. E. Warkentin, 2006). Pour cette raison L'OMS a recommandé que les plantes médicinales soient utilisées plus efficacement dans le système de santé (H. S. Lee, 2006). et parmi ces plantes trois plantes ont été proposées, à savoir le *Berberis vulgaris* L ; l'*Orthosiphon* et le *Teucrium polium* L, cette dernière qui présente un effet anticoagulant très important dans notre étude. De ce fait le sujet de ce mémoire est considéré comme étant un sujet rare de son genre qui s'inscrit dans le cadre des études intéressées à la prévention et la thérapie des maladies thrombotiques.



*Conclusion et  
perspectives*

## Conclusion et perspectives

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir l'industrie, la médecine, la pharmacie ...

Dans le cadre de notre travail, nous sommes intéressés à une étude phytochimique et dosage des polyphénols totaux, ainsi que l'étude de l'activité antibactérienne et anticoagulante des deux plantes médicinales *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L.

Le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de nos plantes en métabolites secondaires, nous avons constaté la richesse de *punica granatum* L. et *Teucrium polium* L. en : flavonoïdes, coumarines, stéroïls, glucosides, tanins, quinones, polyphénols.

Les rendements en extrait sec (résidu sec) des deux plantes après extraction méthanolique sont très variables. Le rendement le plus important est enregistré chez l'espèce *punica granatum* L. avec une valeur de (21,30%), alors que l'espèce *Teucrium polium* L. a enregistré un rendement de (5,80%). Pour l'extrait aqueux des deux espèces citées les rendements respectivement de (15,50%) et de (4,90%) respectivement.

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin –Ciocalteu a révèle la présence des quantités importantes en polyphénols dans les extraits méthanoliques et aqueux des deux plantes étudiées. La teneur en polyphénols totaux est variable selon la méthode et les solvants utilisée pour l'extraction.

L'évaluation de l'activité antibactérienne été faite par la méthode de diffusion en milieu gélosé a été fait et d'après les résultats obtenus on peut constater que l'effet des extraits testés sur les trois souches bactériennes sélectionnées : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus Cereus* révèle une sensibilité et une résistance variable selon la souche étudiée.

Les résultats des tests de l'activité antibactérienne ont montré que *Tecrium polium* L. n'a adonnée aucun effet d'inhibition sur les trois souches testées.

Alors que *punica granatum* L. donne une action inhibitrice faible par rapport aux les antibiotiques étudiés sur la souche *Bacillus Cereus* seulement.

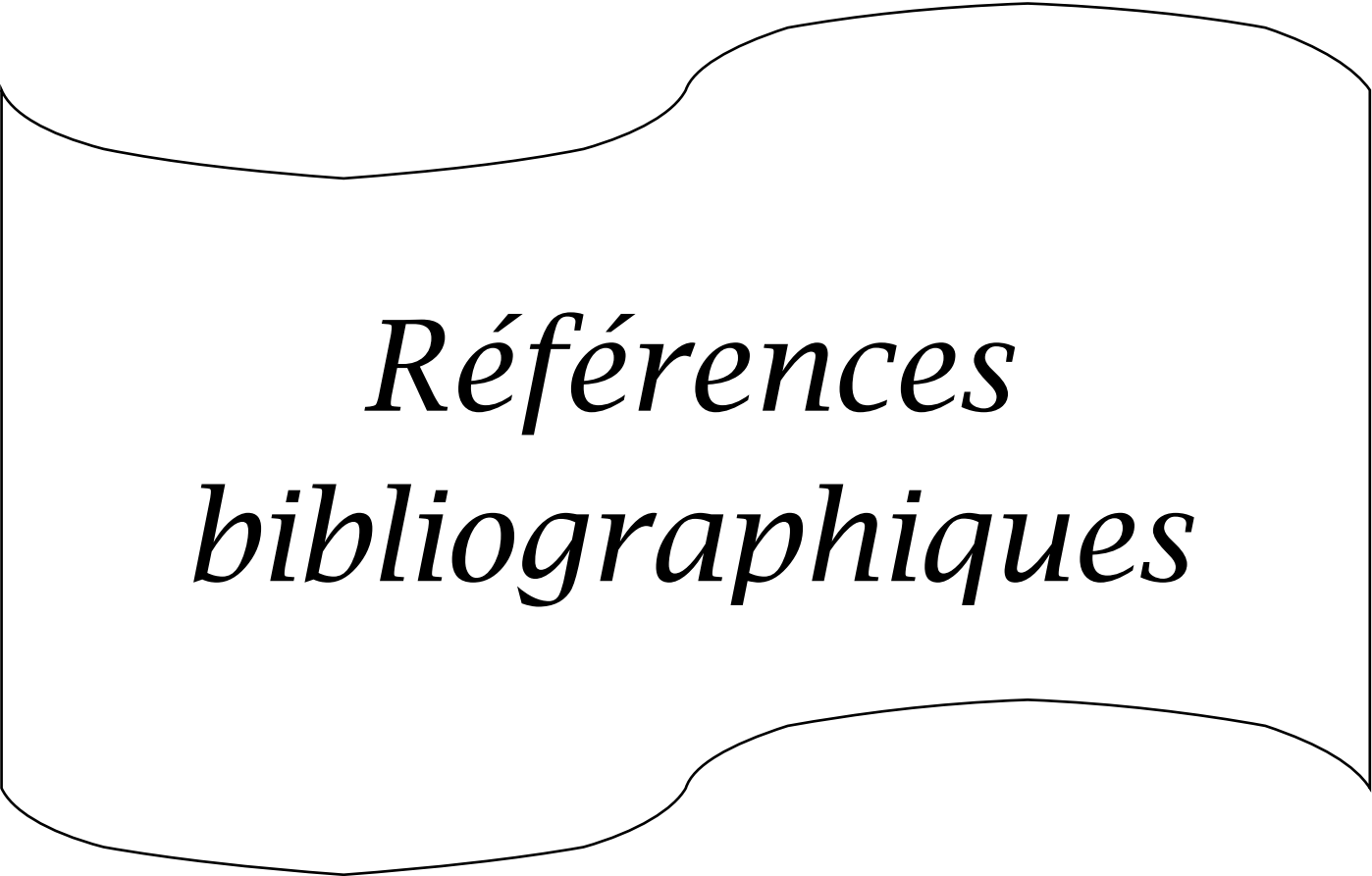
L'étude du pouvoir anticoagulant des extraits des deux plante *punica granatum* L. et *Teucrium polium m* L. a été évaluée *in vitro* vis –à-vis de la voie endogène et la voie exogène de la coagulation à l'aide de deux tests chronométriques, le TQ et TCK respectivement ; Les résultats démontrent que les trois extraits méthanoliques , aqueux et RME de *Punica*



*granatum* L. exercent un effet incoagulable et pour les extraits de *Teucrium polium* L. ressortent que les extraits aqueux a un effet incoagulable , cepenadant l'extrait méthanolique et RME ont présenté une activité anticoagulante important .

En perspective, ce travail est considéré comme une étape préliminaire par des études plus large et plus approfondies incluant :

- ❖ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques
- ❖ Compléter l'étude *in vitro* pour l'évaluation de l'activité antioxydant et anti cicatrisant.
- ❖ L'étude *in vivo* pour l'évaluation de l'activité anti inflammatoire, cytotoxicité et déterminée la dose toxique.
- ❖ Evaluation l'activité antibactérienne des extraits de *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L . vis-à-vis d'autres souches bactériennes et également l'évaluation de l'activité anticoagulante.



*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

### A

**A. Fettah .( 2019).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra, thèse de doctorat, université Mohamed Khider Biskra.

**Abbasi H., Rezaei K. et Rashid L. (2008).** Extraction of Essential Oils From the Seeds of Pomegranate Using Organic Solvents and Supercritical CO<sub>2</sub>. *J Am Oil Chem Soc*, 85: 83–89.

**Abdollahi , A., Karimpour, H., Monsef-Esfehani H.(2003).** Antinociceptive effects of *Teucrium polium* L. total extract and essential oil in mouse writhing test. *Pharmacol. Res.* 48:31-35.

**Abdollahi., Karimpour, H., Monsef-Esfehani.(2003).** Antinociceptive effects of *Teucrium polium* L. total extract and essential oil in mouse writhing test. *Pharmacol. Res.* 48 :31-35

**Abigail, R., and Ramirez, Q.C. (2013).** Sashenka Bonilla Rojas E.E. *Microbiología General.*Après traduction espagnol –français

**Adouane S.(2016).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Mémoire de Magistère. Université Mohamed Khider, Biskra, Algérie. p. 5-10

**Ajjan R., Grant P.(2006).**Coagulation and a the roth rombotic disease. *Food chemistry.* 186(50): 240-259

**Akin M, Oguz D, Saracoglu HT. (2010) .** Antibacterial Activity of Essential oil from *Thymbra spicata* var. *spicata* L. and *Teucrium polium* (Stapf Brig.). *International Journal of Pharmaceutical*

**Aktürk Esen S, Kahvecioğlu S, Gül CB, Aktaş N, Esen İ. (2019) .**Toxic effects of herbal medicines: *Teucrium polium* and acute kidney injury. *European Respiratory Journal*, 5 : 1028–1030

**Alhijna D.,Bourich E.(2017) .**Grenade de Beni Snous:étude et caractérisationchimique des extraits de pépins,évaluation de l'activité

**Ali-Shtayeh, M. S., Yaghmour, R. M. R., Faidi, Y. R., Salem, K., & Al-Nuri, M. A. (1998).** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*, 60(3), 265-271.

**AL-Saeed, M.H., Othman,R.M., AL-Saeed, A.H.( 2015).**L'effet de l'extrait éthanoïque de l'écorce de *Punicagranatum* sur la guérison des plaies infectées de champignons chez les lapins ». *AL-Qadisiya Journal of Vet. Med. Sci*, Vol. 14 No.1

**Alvarez L., Wijngaard H., Arendt K. and Gallagher E. (2010).**Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking.*Food Chemistry*. 11(9): 770-778.

**Amira, B. Z. R. B. (2021).** *Punica granatum L. un arbre historique, évolutions thérapeutique récentes et activités biologiques* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).

**Amjad H. (2005).** POMEGRANATE : Anatomy Of A Divine Remedy. éd Lulu.com, 126 p, ISBN : 1411662784.

**Andary C., Rascolj P., Rousselj L & Privatg. (1988).** Les esters de l'acide caféique dans La chimiotaxonomie des *Teucriurn* de la section polium (Lamiaceae). *Can. J. Bot.* 66: 1007- 1012

**Athukorala Y , Lee K . W . Kim S . K . et Heon Y . J . (2007) .** Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from jeju Island in Korea . *Bioresource Technology* . 98 : 1711 – 1716

**A. Greinacher and T. E. Warkentin.(2006) .**“Recognition, treatment, and prevention of heparin-induced thrombocytopenia: review and update,” *Thrombosis Research*, vol. 118, no. 2, pp. 165–176.

## **B**

**Bachtarzi K, Hilmi S, Laouar H, Belkheiri A, Pacha YH. (2016).** The chronic toxic effect of *Teucrium polium* aqueous extract on some blood parameters in rat. *Der Pharma Chemica*, 8: 384–387

**Bakhouché A., Lozano-Sánchez J., Beltrán-Debón R., JovenJ., Segura-CarreteroA. And Fernández A. (2013).** Phenolic characterization and geographical classificationof commercial

*Arbequina* extra-virgin olive oils produced in Southern Catalonia. *Food Chemistry*.50(1): 401-408.

**Batty, M., Hudson-Smith, A., Milton, R., & Crooks, A. (2010).** Map mashups, Web 2.0 and the GIS revolution. *Annals of GIS*, 16(1), 1-13.

**Bellaïche P. (1979).** Aromatogramme. In *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Edition Maloine-S-A, tome I. p20.

**Benchiha W . (2016).** Phyto-écologie et étude biochimique des composants phénoliques (traitement in vivo contre hépatite) de *Rhamnus alaternus* L. des monts de Tessala Wilaya de Sidi Bel Abbès. Thèse de doctorat : Ecologie végétale et Environnement. Sidi Bel Abbès : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

**Bensalah F. (2014) .** Contribution à l'étude phytochimique et l'effet cytotoxique de quelque plante médicinales

**BenYahkem M.L, HadjadjS, Others.(2018).**Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des trois espèces: *Punicagranatum*L.(Grenadier); *Zeamays* L.(Maïs) et *Lawsonia inermis* L.(Henné)., Thésis de doctorat

**Benzahi K . (2001).** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la palnte cynodn *Dactylon – L* « chindent ». Mémoires de Magister. Université d Ouargla. P. 15-17

**Betioui M .( 2017).**Etude de la possibilité d'amélioration de la culture et de la production du Grenadier commun, *Punicagranatum*L. dans la région de Tlemcen.

**Bezanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M.(1986).** Les plantes dans la thérapeutique moderne, 2ème édition révisée, Ed. Maloine éditeur

**Bhandary S.K , Kumari S.N Bhat V.S Sharmila K.P Bekal, M.P .(2012).** Preliminary phytochimique screening of various exacts of *punica granatum* peel , whole fruit and seeds . Nitte University Journal of Health Science NUJHS , vol 2 ,no 4, p . 34-38.

**Biozot N , Carpentier J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiens , prairiaux et aquatique , INRA p .79-82 .

- Boisseau M. (1996).** Données actuelles sur l'Hémostase. *Phlébologie*. 42(2): 175-186
- Boizot N, Charpentier JP. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Cahier des Techniques de l'INRA, 79-82.
- Boizot N, Charpentier JP. (2006)** .Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Cahier des Techniques de l'INRA, 79-82.
- Bonnier, G. (1990)** La grande flore en couleurs. Ed. Belin. Paris. 4 tomes,
- Bosio K, Avanzini C, D'avolio A, Ozimo O, Savoia D .(2000)** . *In vitro* activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. *Lett Appl Microbiol* 31: 174-177.
- Boudjouref, M.(2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia compestris* L. Thèse pour l'obtention du Magister en Science ,spécialité :Biochimie Appliqué .Sétif, Université Ferhat Abbes,64p.
- Boulahbal F. (2009).** Manuel de microbiologie, les antibiotiques, 4ème réimpression, 105-119 p.
- Brand, A., Richter-Landsberg, C., & Leibfritz, D. (1993).** Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. *Developmental neuroscience*, 15(3-5), 289-298.
- Brienne P., Gayton E., Mounier M. (2014).** Le mode d'action des antibiotiques. [En ligne]. <http://www.antibiotique.eu/le-mode-daction.html>. (Consulté le 11-05-2020).
- Bruneton J . (2009 )** . Pharmacognosie : phytochimie , plantes médicinales . 4 ème edition . Edition Lavoisier TEC et DOC . Médicales internationales , paris . p 261 , 308 , 571
- Bruneton J. (1993).** Composés Shikimate-acétates. In : Pharmacognosie « Phytochimie, Plantes médicinales ». 3ème ed., Technique et documentation Lavoisier, p :199-383
- Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2ème Ed. Lavoisier, Paris
- Bruneton J. (1999).** Phamacognosie phytochimie plantes médicinal technique et documentaires. 4ème Edition, *Lavoisier*, Paris. p. 136.

C

**Caen J., Lrrieu M. et SamamaM. (1975).** L'Hémostase: Méthodes d'exploration et diagnostic pratique. 1èreEditionToray. Expansion Scientifique Française (Paris).

**Calsamiglia 2007, M Busquet, PW Cardozo .(2007) .** Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation.

**Çam M., Hısl Y. et Durmaz G. (2009).** Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*, 112 : 721–726

**Caquet R. (2004).** Examens de laboratoire : prescription et interprétation. 9ème édition

**CardonD . (2014).** Lemonde des teintures naturelles.

**Chaouch N . (2001) .** Etude des alcaloïdes dans la coloquinte colocynthis vulgrais (L) Schrad (cucurbitacées ) Région de oued . Mémoire de Magister . Université d Ouargla , P . 44. *Chemistry*.87(1): 43-46

**Cheynier V, Comte G, Davies KM, Lattanzio V, Martens S. (2013).** Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1-20

**Collin S . et Crouzet J . (2011) .** Polyphénols et procédés . Edition Lavoisier TEC et DOC . p 5 , 13 , 16 , 235

**Colvin T. (2004).** Physiology of Haemostasis Vox Sanguinis. *Journal of Food*

**Cook N. C , Samman S . (1996) .** Flavonoids – Chemistery , metabolism , cardioprotective effects , and dietary sources , nutritional Biochemistery , 178 : 66-76

**Couplan F .(2012).** Les plants et leur nom . histoires insolite , Editions Quae, p. 224

**Cuendet . (1999) .** Vermerris 2006 Métabolisme des végétaux . Physiologie et biochimie . 526 pages , presses polytechniques et universitaires romondes . Lausanne . P19

**Cyr A. (2017).** Grenade (la petite histoire de la grenade) [en ligne]. In: Encyclopédiesaliments.[https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=grenade\\_nu](https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=grenade_nu) (consulté le : 21.08.2020).

**D**

**D'Archivio , M . Filesi ; C . Di Benedetto , R . Gargiulo, R. Giovannini , C et Masella , R.(2007) .** polyphénols , dietary sources and bioavailability . *annali – dellstituto-superiore – di –sanita .* 43 (4) : 348-361

**Dallas,S.L L.F .( 2010).** Bonewald, Dynamics of the transition from osteoblast to osteocyte, *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1192,437

**Dehak K. (2013).** Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles. Université KASDI Merbah Ouargla

**Di Carlo G, Mascolo N, Izzo A A et Capasso F. (1999).** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs, *Life Sci,* p 337-53.

**Djabou N, Muselli A, Allali H, Dib M, Tabti B, Varesi L, Costa J. (2012) .**Chemical and genetic diversity of two Mediterranean subspecies of *Teucrium polium* L. *Phytochemistry,* 51-62.

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

**Douaouri N. (2018) .**Noureddine Djebli laboratory of pharamacognosy and Api-phytotherapy ,Department of Biology ,University of Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem , Algeria -06- 21) .

**Dudareva N., PicherskyE. Et GershenzonJ.(2004).**Biochemistry of plant volatiles. *Society of Plant Biologists.*135(2):1899.

**E**

**Edardes J . P . (2008) .** Coumarin Anticoagulant Reseach Progress . Edition Nova Biomedical Books . P 100 Edition *Mosson,* Paris. p. 388-389.

**Ekoumou C.(2003).**Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite.Thèse de Doctorat. Université de Bamako,Mali. p. 36.



**Elbidi, A. (2016).** Screening phytochimique de quelques plantes steppiques *Artemisia Campestris* et *Teucrium Polium* de la région de El Hamel wilaya de M'Sila. *Master professionnel. Université Zaine Achour de Djelfa.*

**Erlund I. (2004) .** Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology», *Nutr Res*, p 851-874.

**Esmaeil D., Hossein Motamedi., Seyyed ,M & Sayed ,N.( 2010).** Antimicrobial properties of *Teucrium polium* against some clinical pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 124-127.

**Etebu E., Arikekpar I. (2016).** Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspective. 90-101 p.

## **F**

**Fabre B. et Ermosilla V. (2008).** Utilisation d'un extrait de grenadier pour le maintien de la coloration capillaire. Fascicule de brevet européen. Bulletin 2008/01

**Falleh H ., Ksouri R ., Chaieb K ., KarrayBouraoui N ., Trabelsi N ., Boulaaba M., Abdelly C .(2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*. 331 (5), 372379.

**Faller A. Et Fialho E. (2010).** Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional Plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 23(06): 561-568.

**Fauchère, J.L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ellipses (EDS) Paris. p 365.

**Fiorentino,A.,Abrosca,B.,Pasifico,S.,Scognamiglio,M.,D'Angelo.,Gallicchio,G.,Chambay ,M & Monaco , P. (2011) .**structure elucidation and Hypatotoxicity evaluation aginst HepG2 Humaine cells of neo-clerodan diterpenes from *Teucrium polium* L. *phytochemistry* ,72 2037-2004.doit :10.1016/j. phytochem.2011.07.006

**Fouché, J.G .; Marquet, A .; Hambuckers, A. (2000).** Les plantes médicinales, de la plante au médicament. *Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman.*

**François , D . (1997) .** Bactériologie médicale : Technique usuelle. Camille – Desmoulins : ELSEVIER MASSON , 51 pages .

**Fritz, S. A., Garbutt, J., El Ward, A., Shannon, W., and Storch, G. A. (2008)** .Prevalence of and risk factors for community –acquired methiallin-resistant and methiallin-sensitive *Staphylococcus aureus* colonization in children seen in a practise based research net work .Pediatrics 121(6) :1090-8-doi :10.1542 /

**Fuhrman B. et Aviram M. (2006)**. Protection against Cardiovascular Diseases. In : Pomegranates Ancient Roots to Modern Medicine .

## G

**Ghazi F., et Sahraoui S. (2005)**. Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de datte communes Tantboucht et Hamraia . Mémoire d'ingénieur en agronomie, El Harrach .

**GHNIMIW .(2015)** .Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: Ricinus communis et Jatropha curcas Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action sur l'activité cetylcholinestérase. thèse de doctorat université de lorraine (franse) et université de carthage (tunisie)P2

**Gil M. I. Tomas-Berberan A. Hess-Pierce B. Holcroft D. M. & Kader A. A. (2000)**.Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. J. Agric. Food Chem., 48: 4581–4589

**Girardel J.,etSamamaM. (2006)**.Les nouveaux anti thrombotiques une thérapeutique en mutation des perspectives d'avenir. The Veterinary Journal.15: 117-123.

**Guedouari, R. (2012)**. Etude comparative de la pharmacognosie des differentes parties du laurus nobilis L.: essais de formulations therapeutiques (Doctoral dissertation, Université de Boumerdès-M'hamed Bougara).

**Guignard J. L. (1996)**. Les composés phénoliques. Biochimie végétale. Edition Masson, Paris, p : 167-231

**Guo C., Wei J., Yang J., Xu J., Pang W. et Jiang Y. (2008)**. Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. Nutrition Research, 28 : 72–77.

## H

**H. BELKHODJA. (2015).** Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara : Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité biologique'' thèse doctorat, Université de li-Mustapha stambouli Mascara

**H. BOUTALEB .(2014).** Evaluation des effets cicatrisants de Teucrium Polium (KHAYATA) sur des plaies d'excision chez le rat, mémoire de magister, institue des sciences vétérinaires

**Haidari M., Ali M., Casscell S.W. et Madjid M. (2009).** Pomegranate (*Punica granatum*) purified polyphenol extract inhibits influenza virus and has asynergistic effect with oseltamivir. *Phytomedicine*, 16 : 1127–1136.

**HaidariM, Ali M, CasscellsIII S.W, MadjidM.(2009).**Pomegranate (*Punica granatum*) purified polyphenol extract inhibits influenza virus and has a synergistic effect with oseltamivir, *Phytomedicine*. 16 ,1127–1136.

**Harborne J. B. et Williams C. A. (1998).** Anthocyanine and other flavonoids. *Natural Product Reports* 18 : 310 -333

**Harif M. (2007).** Hémostase de la physiologie à la pathologie.1 ére Edition *Casablanca*, Maroc. p.229.

**Hartman R. E., Shah A., Fagan A. M., Schwetye K. E., Parsadonian M., Hebert D. (2006).** Preface. In : *Pomegranates Ancient Roots to Modern. Medicine* CRC Press Taylor & Francis Group Medicinal and aromatic plants–industrial profiles, 263p, ISBN: 0- 8493-9812-6.

**Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* p96, 67– 202.

**Hegde CR, Madhuri M , Swaroop T, Nishitha D , Arijit L , Bhattacharya S , Rohit KC . (2012).** Evaluation of antimicrobial properties, phytochemical contents and antioxidant capacities of leaf exatracts of punica granatum L.ISCA , journal of biological sciences vol 1, no 2, p,32-37

**Hmidl., (2013):** Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica Granatum L.*) : caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais. Alimentation et nutrition. Université d'Angers, français p27

**Hopkins G. (2003).** Physiologie végétale. 2ème édition. Boeck. Université Lille, France. p. 268-280.

**Hopkins, W. G. (2003).** Physiologie végétale. De Boeck Supérieur.

**H. S. Lee, (2006)** "Antiplatelet property of *Curcuma longa* L. rhizome-derived ar-turmerone," *Bioresource Technology*, vol. 97, no. 12, pp. 1372–1376.

### I

**I. Krach. (2015).** Effets anti-inflammatoire, antioxydants et toxiques de l'extrait de *Teucrium polium L.*, thèse de doctorat, Université de Farhat Abbas–Sétif, 2015.

### J

**Jahfar M., Vijayan K.K. et Azadi P. (2003).** Studies on a polysaccharide from the fruit rind of *Punica granatum*. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 7 : 43–50.

**JUDD W.S., CAMPBELL C.S., KELLOGG E.A. et STEVENS P.(2002).** Botanique Systématique: une perspective phylogénétique; Ed 1: DEBOECK; p: 84-336.

### K

**K. Khleifat., J. Shakhanbeh., k. Tarawneh .( 2001).** The chronic effects of *Teucrium polium* on some blood parameters and histopathology of liver and kidney in the rat. *Turk J Biol* 26 : 65-71

**Kabouche A, Kabouche Z, Ghannadi A, Sajjadi SE. (2007).** Analysis of the essential oil of *Teucrium polium* ssp. *aurasiacum* from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 19: 44–46

**Kaci-Meziane, Z., Boutekrabt, L., Laidoudi, D., Moussaoui, T., Melahi, N., Ait Ouarab, D., ... & Meguetaoui, A. (2017).** Phytochemical assessment and antioxidant, antibacterial potential in three cultivars of pomegranate fruit" *Punica granatum L.*" in North East Algeria. *AgroBiologia*, 7(2), 589-602.

**Kada S.( 2018).** Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse de doctorat Université Ferhat Abbas Sétif 1 P1.

**Kahlouche R. (2014).** Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse de Doctorat. Université Mentouri, Constantine1, Algérie. p. 3-11.

**Kanoun k , Abbounni B. , Benine M.L Benmahdi F.Z , Marouf B .(2014) .** Etude de l'efficacite de l'extrait ethanologique d'ecorces de Punica granatum linn sur deux souches phytopathogenes : Ascocyhta rabiei (pass) labr .et Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici .European scientific journal , 10(12).

**Kaper J B., Nataro J P et Mobley H L. (2004).** "Pathogenic *Escherichia coli*." Nat Rev Microbiol. N° 2. P 123-140.

**Karumi Yet Coll .(2004) .** Identification of active principales of M. balasmina (Balsam apple) leaf extract . Medical science . 4 : 179-182.

**Kassem H, Aldosri F, Elshamy A, Hegazy ME. (2020).** Phytotoxic and Antimicrobial Activities of Teucrium polium and Thymus decussatus Essential Oils Extracted Using Hydrodistillation and Microwave-Assisted.

**Kesur P, Gahlout M, Chauhan P, Prajapati HV .(2016) .** Evaluation of antimicrobiale properties of peels and juice extract of Punica granatum (Pomegranate) . International journal of Research and Scientific Innovation , vol 3, p . 11-20 .

**Kim N. D., Mehta R., Yu W., Neeman I., Livney T., Amichay A., Poirier D., Nicholls P., Kirby A., Jiang W., Mansel R., Ramachandran C., Rabi T., Kaplan B. et Lansky E. (2002).** Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer. Breast Cancer Research and Treatment, 71: 203–217.

**Koffi N et al.( 2009) .** In vitro antibacterial activity of som plant essential oils . Jornal of complementary and alternative medicine . Vol (9) : 6-39.

**Konf KW, Mat-Junit S , Aminudin N , Ismail A , Abdul-Aziz A.(2012).** Antioxidant activities and polyphenolics from the shoots of Barringtoniaracemoda (L). Spreng in a polar to apolarmediumsystem. Food Chemistry, 134 :324-332.

**Krache A .(2015).** Evaluation des effets toxiques des extraits méthanoliques de *Tamus communis* L . et *Teucrium polium* L. sur des rats blancs albino wistar

**Krache I, Boussoualim N, Ouhida S, Amraoui N, Baghiani A, Arrar L. (2017).** Acute and Chronic Effects of Methanolic Extract of *Teucrium polium* on Blood Parameters and Histopathology of Liver and Kidney in Female Rats. *Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 2 (3): 1-11.

**Kulkarni A. P., Aradhya S. M. et Divakar S. (2004).** Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant : punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit. *Food Chemistry*, 87 : 551–557

## L

**Lahlou M. (2004).** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oilsphytotherapy research. 18: 435-448.

**Lansky E. et Newman R. (2007).** *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*.109: 177–206.

**Lansky E., Shubert S. et Neeman I. (2000).** Pharmacological and therapeutic properties of pomegranate. In : **Melgarejo-Moreno P. (ed.), Martínez-Nicolás J.J. (ed.), Martínez-Tomé J. (ed.)** Production, processing and marketing of pomegranate in the Mediterranean region: Advances in research and technology, Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 2000. 253 p. ISBN 2.

**Lansky E.P. , and Newman , R A. (2007).**Punicagranatum (pomegranate ) and itspotential for prevention and treatment of inflammation and cancer . *journal of Ethno pharmacology*, 109,177-206 .

**Laraoui, H. (2007).***Etude phytochimique de l'extrait chloroformique de bupleurum atlanticum* (Doctoral dissertation, Batna, Université El Hadj Lakhdar. Faculté des Sciences).

**Le Minor L., Nicolle P., Buttiaux R., Gaudier B., Chabbert Y et Le Minor S. (1954).** Studies on *Escherichia coli* isolated in infantile gastroenteritis ». *Ann Inst Pasteur*. N°86. P 204- 187.

**Lee K.W, Kim Y.J, Lee H.J, et C.Y.(2003)** . Coca has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *journal of agricol and food chemistry* 51 : 7292-7293.

**Li Y . GuoC. Yang J , Wei J , Xu J, and Cheng S . (2007)** . Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract *food Chem* 96 :254-260 .

**Lloyd J. U. (1897)**. *Punica granatum*. The western druggist, Chicago, 9 p.

**Long H. S , Tilney , P. M et Van Wyk B . E .(2010)** . The ethnobotany and pharmacognosy of *Olea europaea* sub sp . *africana* (Oleaceae) . *South african Journal of Botany* . 76 (02) : 167-420.

**Loomis D; Croteau R. (2011)**. *Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise*. In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (Eds.). *the Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function* No. 4. pp.: 364-410. Academic Press, San Francisco.

**Lugasi, A. (2003)**. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, 47(1-4), 119-125.

**Luthria L., Mukhopadhyay S. And Krizek D.(2006)**.Content of total phenolics and phenolic acids in Tomato (*lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *Journal of Food Composition and Analysis*.19(8): 771-777.

## M

**Macheix J, Fleuriet A, Jay-allemant C. (2005)** . *Les composés phénoliques des végétaux*», Presses Polytechnique et Universitaires Romandes, Lausanne, p 6.

**Malecky, M. (2005)**. *Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins*, thèse Pour obtenir Le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de L'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.

**Malik A., Afaq F., Sarfaraz S., Adhami V. M., Syed D. N. et Mukhtar H. (2005)**. Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *PNAS*, 102 : 14813–14818

- Malki S, Yahia AL. (2014).** Evaluation Of Diuretic Activity From *Teucrium Polium L. Capitatum* Extracts (Lamiaceae) In Rats. *IJPSR*, 5: 4.
- Malne,J.F.Parve, M., Kam, A., Mckevy, A., Ahmed, I.and Bhatti, M. (1980).** « Journal of the Chemical Society ». *Pekin Transactions II*, 1683.
- Malviya S, Alok Jha A, et Hettiarachy N.(2014).** Antioxidant and Antibacterial potential of Pomegranat peel Extracts.*journal Food Science Technology* ,51(12),4132-4137.
- Mandell G. L. (1975).** Catalase, superoxide dismutase, and virulence of *Staphylococcus aureus*. *In vitro* and *in vivo* studies with emphasis on staphylococcal--leukocyte interaction. *The Journal of clinical investigation*, 561-566 p.
- Mansour A.(2009)** . Investigation photochimique de l'extrait n- butanol de l'espèce *Centaurea Fricanai* .
- Marchal ,V.(2003).**DCEM1Service bactériologie faculté de médecine Pierre et Marie Curie, .pp.35-71.
- Martin S et Andriantsitohaina R. (2002)** . Mécanismes de la protection cardiaque vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium, *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, p 304-315.
- Martinez J, Melgarejo P, Hernández F,Salazar D, Martinez R.(2006).**Seed characterisation of five new pomegranate (*Punica granatum L.*) varieties, *Scientia Horticulturae*. 110 ,241–246.
- Meguellati H, Ouafi S, Saad S, Djemouai N. (2019).**Evaluation of acute, subacute oral toxicity and wound healing activity of mother plant and callus of *Teucrium polium L.* subsp. *geyrii* Maire from Algeria. *South African Journal of Botany*, 127: 25–34.
- Mezouar D .(2013)** . Recherche d'activités biologique de *Berberisvulgaris* . Maitrise de la qualité microbologique et du Développement microbien (en ligne) . thèse magister . Tlemcen : Université Abou BekrBelkaid – Tlemcen , P 122.
- M. Johnell, G. Elgue, R. Larsson, A. Larsson, S. Thelin, and A. Siegbahn.(2002)** .“Coagulation, fibrinolysis, and cell activation in patients and shed mediastinal blood during



coronary artery bypass grafting with a new heparin-coated surface,"*The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, vol. 124, no. 2, pp. 321–332,.

**Mohammedi Zohra.(2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région. Nord et Sud Ouest de l'Algérie.

**Moreau B.(2003)** .maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.

**Morton J. (1987).** Pomegranate. In: Fruits of warm climates. Miami, Florida. p. 352–355.

**Moualkia H et Ansar K. (2015).** Pathogénicité chez *Escherichia coli*. Université des Frères Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie Animale.p33.

**Movahedi A, Basir R, Rahmat A, Charaffedine M, Othman F. (2014).** Remarkable Anticancer Activity of *Teucrium polium* on Hepatocellular Carcinogenic Rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 9 : 726-724.

## N

**Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S-M, Ghorbani A. (2005).** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical.

**Najjaa, H., Neffati, M., Zouari, S., & Ammar, E. (2007).** Essential oil composition and antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum* L., a North African endemic species. *Comptes Rendus Chimie*, 10(9), 820-826.

**Nostro, A .; Germanò, M.P .; D'Angelo, V .; Marino, A .; Cannatelli, M.A. (2000).** Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lettres en Mmicrobiologie Appliquée*. 30.

## O

**Olivier, D. O. N. N. A. T. (1994).** Les Français face à la culture. De l'exclusion à l'éclectisme. *Paris, Editions la découverte*.

**Oloyede O. I . 2005.** Chimiical Profile of unripe Pulp of carica papaya . Pakistan Journal of nutrition . 4 : 379-38

**Oukabli A. (2004).** Le Grenadier : *Des Variétés Performantes pour la Culture*. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. MADRPM/DERD, 123 : 1-4

**Ozcal ,N.and S. Dinc ,(1993).** « Evaluation of the pomegranate (punica grana tum L.) peels frome the standpoint of pharmacy ».Eczacilik Fakultesi Dergisi 22 :21-29.

## ***P***

**Pandey K B et Rizvi S I. (2009)** . Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease», Oxidative Medicine and Cellular Longevity, p 270-278.

**Paul S. (2005).** Bactériologie pour médecine, la biologie et les biotechnologies, 6ème édition, 455 p.

**Peronny, S. (2005).** *La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (Lemur catta)* (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).

**Philippon A., Arlet G. (2005).** Les bêta-lactamases chez les bacilles à Gram négatif : que de nouveautés en 15 ans ! Antibiotiques ,01-03 p.

**Planchon G et Collin E. (1875).**Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale. Librairie F. Savy. Tome I. Pages 235-236 et 307-308. In : Wald E. Le grenadier (PunicaGranatum) : Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Nancy 1 : Université Henri Poincare, p158 .

## ***R***

**Raber El Maizi . F ; Abedlali. D .(2017)** . Etude ethnobotanique et évaluation de quelques activités biologiques des l extrait aqueux et de l huile essentielle de la partie aérienne de l espèce : *Teucirm polium* L. p 69 .

**Ranade S.A., Rana T.S. et Narzary D. (2009).** SPAR profiles and genetic diversity amongst poegranate (*Punica granatum* L.) genotypes. Physiol. Mol. Biol. Plants, 15(1) : 61-70. Research, 2, 63-79.

**Ribéreau P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. 2<sup>ème</sup> Edition. *Dunod*, Paris, p. 254.

**Richard, C. et Kiredjian, M. (1995).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies strict : *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Brucella*, *Bordetella*. Ed. Institut Pasteur, Paris, 42-43 p.

**Roye.(2013)** .Les plantes exotiques dans les cosmétiques (réel intérêt ou effet marketing), Thèse de doctorat.

### S

**Saleh I, Abd-ElGawad A, El Gendy A E N, Abd El Aty A, Mohamed T, Salunkhe D. K ; Chavan J. K Kadam S . S. (1990)** . Nutritional consequences of dietary tannins : conséquences and remedies Boca Raton . Florida : CRC press . p 113 -146 .

**Sandra P. (2015).** Portage de bactéries multirésistance en structures d'accueil pour personnes âgées : évaluation d'une politique de dépistage cible en fonction des facteurs de risque, thèse en pharmacie, université de lorraine.

**Schulman R. N., Finn M. B. et Holtzman D. M. (2006).** Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 24 : 506–515.

**Schved . (2007)** . Maitrise de l'Aptitude Technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principe actifs ; Texturation par détente instantanée contrôlée DIC. Thèse de Doctorat . Université de la rochelle , France . 186p

**Schved M. (2007).** Physiologie de l'hémostase MB7Hématologie. *Journal of Natural Products*.63(12):1035-1042.

**Seenivasan P.(2006).***In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. *Journal of Complementary and Alternative Médecine*. 600(34): 6-39.

**Seeram N. P., Risa N. S. et Heber D. (2006).** Pomegranates Ancient Roots to Modern. Medicine CRC Press Taylor & Francis Group Medicinal and aromatic plants–industrial profiles, 263p, ISBN : 0-8493-9812-6.

**Seeram N, Schulman R et al. (2006).** Pomegranates. Ancient roots to modern medicine. Editions Taylor & Francis. p244.

**Singleton VL, Rossi JA. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphor molybdic phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic 16 :144-158 Spain.

**Sitzia G. (2009).** La Grenade, une bombe de jeunesse.

**Sökmen, M., Serkedjieva, J., Daferera, D., Gulluce, M., Polissiou, M., Tepe, B., ... & Sokmen, A. (2004).** In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(11), 3309-3312.

**Sosa M. E., Tonn C. E. (2006).** Plant secondary metabolites from Argentinean semiarid lands: bioactivity against insects. *Phytochem. Rev.*, 7(1):324

**Sreekumar S, Sithul H, Muraleedharan P, Azeez J. M, Sreeharshan S. (2014).** Pomegranate fruit as a Rich Source of Biologically Active Compounds .*BioMed Research international* ,vol 2014 ,p.1-12 .doi :10 .1155/2014/686921.

**Stöckigt J., Sheludk Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. & Stöckigt D. (2002).** High performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and Capillary electrophoretic electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected Alkaloid groups. *Journal of Chromatography A*, 967(1), pp.: 85-113.

**Stover E, Mercure E.W. (2007).** The pomegranate: a new look at the fruit of paradise, *HortScience*. 42 ,1088–1092.

**Suhr K.I. et Nielson P.V. (2003).** Antifungal activity of essential oil evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi . **Journal of Applied Microbiology**. 94: 665-674.

**Syed D. N., Afaq F. et Mukhtar H. (2007).** Pomegranate derived products for cancer chemoprevention. *Seminars in Cancer Biology*, 17 : 377–385.

**Talbi.H, Boumaza A, El-mostafa.K, Talbi. J, et Hilali A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Journal of Materials and Environmental Science*, 6 (4): 1111-1117. *Techniques. Plants*, 9 (716) : 1-15.

**Teixeira da silva .(2004)** .Méthode rapide d evaluation du contenu en composés phénolique des organes d'un arbre foustier .Le cahier des techniques de l Inra Pp79-82.

**Thorene G. (1994).** Hurmonal immune responses to shiga-like toxins and *Escherichia coli*. 43 p.

**Trease E . et Evans W. C. (1987)** . *Pharmacognosie* , Billiaire Tindall . london 13th ed.

### U

**Uma C , Gomathi D , Ravikumar G , Kalaiselvi M , Palaniswamy M . (2012).** Production and properties of invertase from a *Cladosporium cladosporioides* in SmF using pomegranate peel waste as a substrate *Asian pacific journal of Tropical biomedicine*, vol 2, no 2 , p. S605-S611.

### V

**Vogler A. and Siedlecki A.(2009).** Contact activation of blood-plasma coagulation. *Biomaterials*.30 (1):1857-1869.

### W

**Wald E. (2009).**Le grenadier (*Punica granatum*) : plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en pharmacie. Nancy 1 : université HENRI POINCARÉ -Nancy 1, 158 pages.

### Y

**Yeza, S., & Bouchama, S. (2014).** index des métabolites secondaires végétaux., projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de licence. *Université Kasdi Merbah, Ouargla*, 47.

**Yves D. (2009).** Antimicrobial Chemotherapy, Fourth ed. Oxford University Press, (Ed.). New York, NY.

### Z

**Zeghad Nadia (2009).** Etude des contenus polyphénoliques de deux plantes m'édicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse : université Mentouri. Constantine.

#### Site web:



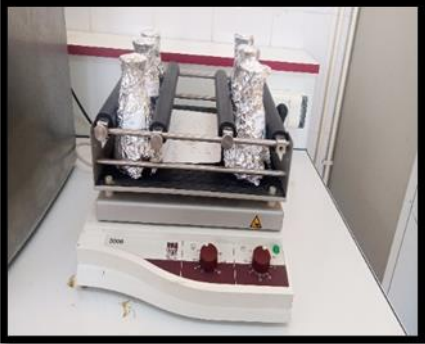
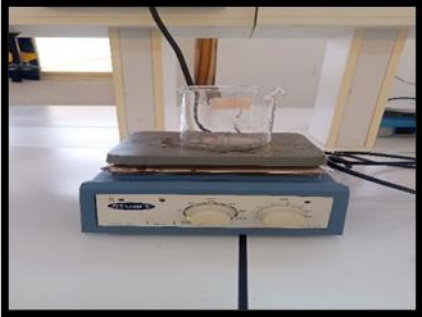
1. Creapharma. Histoire de la phytothérapie. [en ligne]. [consulte-le: Déc. 2017].Disponiblesur:<http://www.creapharma.ch/phytotherapie.htm>
2. Guide phytosante. Histoire de la phytothérapie. [en ligne]. [consulté Déc. 2017].Disponible sur: [www.guide-phytosante.org](http://www.guide-phytosante.org) > Démarrer sur le guide.+<http://www.naturo-therapeute.ch/histoire-et-champs-d-application-de-la-phytotherapie-.php>)/histoire de laphytothérapie
3. Histoire. Histoire de la médecine arabe. [en ligne]. [consultée: fév. 2018]. Disponible sur : [www.lhistoire.fr/lâge-dor-de-la-médecine-arabe/histoire](http://www.lhistoire.fr/lâge-dor-de-la-médecine-arabe/histoire)
4. 4. Naturothérapeute. Histoire de la phytothérapie. [en ligne]. [consulte: Jan 2018].Disponible sur:<http://www.naturo-therapeute.ch/histoire-et-champs-d-application-de-la-phytotherapie-.php>)[en







# *Annexes*





## Annexe 01 : Matériel de laboratoire



## ➤ Appareillage

Nom	Photo
<b>Balance</b>	
<b>Balance de précision</b>	
<b>Agitation mécanique</b>	
<b>Agitation magnétique</b>	



<p><b>plaque chauffante</b></p>	
<p><b>Vortex</b></p>	
<p><b>Etuve</b></p>	
<p><b>Rotavapeur</b></p>	

<p><b>Bain marie</b></p>	
<p><b>Spectrophotomètre</b></p>	
<p><b>Centrifugeuse</b></p>	
<p><b>Bec bunsen</b></p>	

<b>Autoclave</b>	
<b>Densitchek</b>	

➤ **Verreries**

Flacons ; bécher ; fiole ; entonnoirs ; tubes à essai ; papier filtre ; barreau magnétique ; spatules ; pipettes graduée ; portoirs ; verres de montre ; micropipettes ; boîtes de pétri en verre et plastique ; flacons en verres ; Eprouvette ; papier film ; papier aluminium ; papier para film ; tubes secs à bouchons ; pince ; verres de montre ; Micropipette (Gram positif 280ul et Gram négatif 145ul) .

➤ **Produits chimiques et réactifs utilisé**

Méthanol ; Ethanol ; Chloroforme ; éther de pétrole ; Acide chlorhydrique (HCl) ; Iodure de potassium ; Copeaux de magnésium ; eau distillé ; Chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) ; Ammoniaque (NH<sub>4</sub>OH) ; Acide Sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ; Hydroxyde de sodium (NaOH) ; Liqueur de Fehling ; Anhydride acétique ; Hydroxyde de potassium (KOH) ; Folin Ciacaltea ; Carbonate de sodium ; Acide gallique ; DMSO ; l'eau physiologie ; MH .

**Annexe 02 : Préparation des solutions pour le screening phytochimiques**

▶▶ **Ethanol 70 %**

Ethanol.....70ml

Eau distillé.....30ml

▶▶**Méthanol 80%**

Méthanol .....80ml

Eau distillé ..... 9ml

▶▶ **Carbonate de sodium**

Carbonate de sodium .....7,5 g

Eau distillé..... 100ml

▶▶**Folin –Ciocalteu**

Folin – Ciocalteu .....1ml

Eau distillé .....9ml

▶▶**Réactif de wagner**

Iodure de potassuim .....2g

Iode.....1,27g

Eau distillé.....100ml

▶▶**HCL (10%)**

10ml HCl      —————>      90ml d'eau distillé

0,5 ml HCl    —————>      4,5ml d'eau distillé

▶▶**HCL (1%)**

1ml HCl       —————>      99ml d'eau distillé

0,1 ml HCl    —————>      9,9ml d'eau distillé

▶▶**KOH (10%)**

10g KOH      —————>      100ml d'eau distillé

0,5g KOH     —————>      5ml d'eau distillé

▶▶FeCl<sub>3</sub> (1%)1g FeCl<sub>3</sub> → 100ml d'eau distillé0,5 g FeCl<sub>3</sub> → 50ml d'eau distillé

## ▶▶NaOH (1%)

1gNaOH → 100ml d'eau distillé

0,5 g NaOH → 50 ml d'eau distillé

▶▶NH<sub>4</sub>OH (10%)10ml NH<sub>4</sub>OH → 90ml d'eau distillé0,5ml NH<sub>4</sub>OH → 4,5ml d'eau distillé**Annexe 03 : Résultats**

## ➤ Dosage des polyphénols

Teneur en polyphénols totaux pour l'écorce du *Punica granatum* L.

Extrait	Moyenne (mg EAG /g)	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG /g)
EM	0,44 ± 0,06	0,88
EA	0,37 ± 0,047	0,75

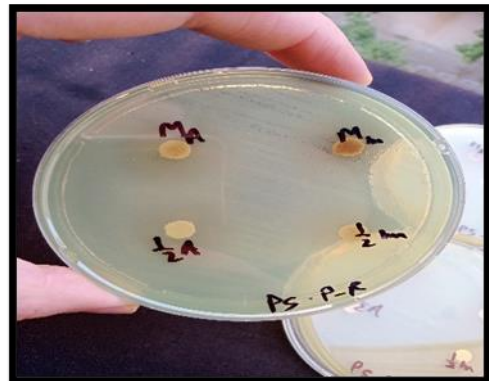
Teneur en polyphénols totaux de *Teucrium polium* L.

Extrait	Moyenne (mg EAG /g)	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG /g)
EM	0,53 ± 0,023	1,06
EA	0,36 ± 0,015	0,72

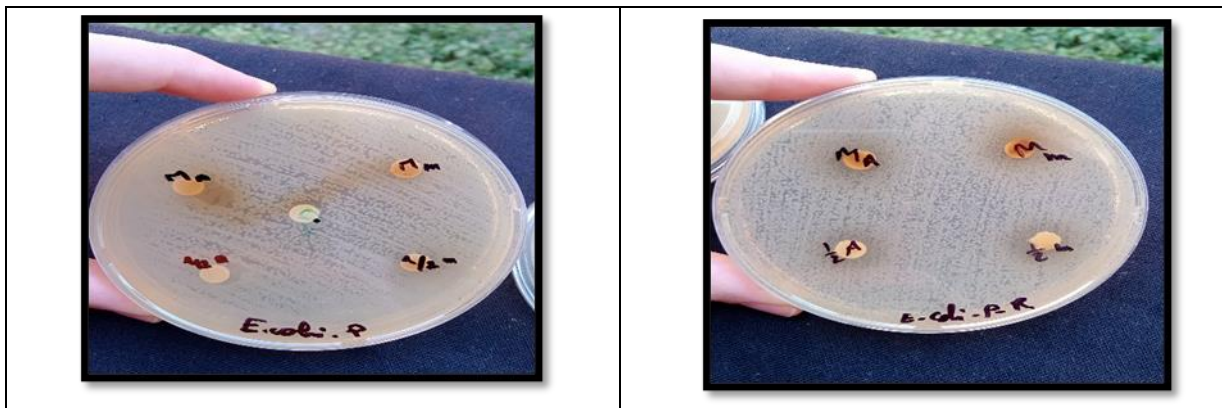
## ➤ L'activité antibactérienne des deux espèces étudiées



*Bacillus Cereus ( Punica granatum L. )*



*Pseudomonas aeruginosa ( Punica granatum L. )*

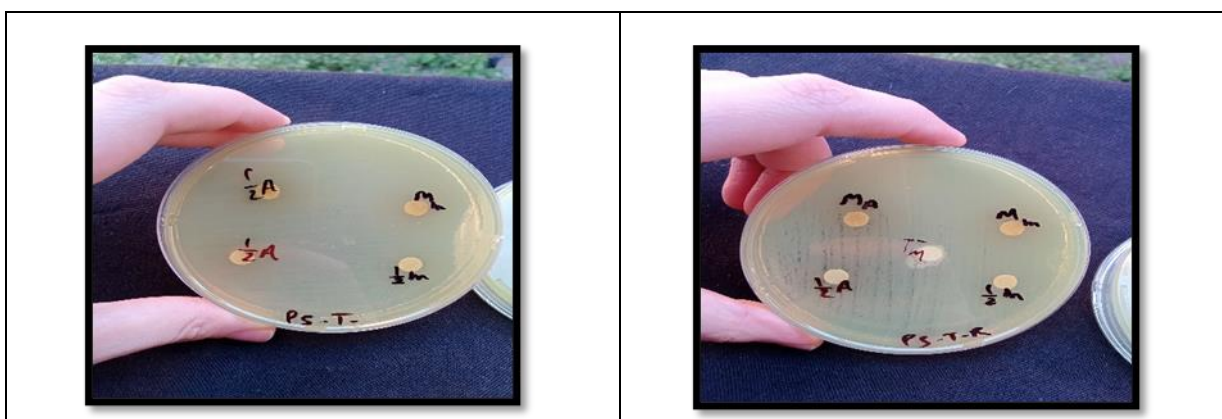


*E. coli* ( *Punica granatum L.* )

A) L'espèce *Teucrium polium L.*



*Bacillus Cereus* (*Teucrium polium L.* )



*Pseudomonas aeruginosa* (*Teucrium polium L.* )



*E. coli* ( *Teucrium polium* L. )