

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° Réf :

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 :

Screening phytochimique et évaluation des activités biologiques d'une plante à usage thérapeutique

Présenté par :

- **Asma FARA**
- **Ikram GUENDOZ**
- **Rania KEROUAZ**

Devant le jury :

- **Présidente : Fatima BOUKEZZOULA (MCA) Centre universitaire de Mila**
- **Examinatrice : Ouahiba HARRIECHE (MAA) Centre universitaire de Mila**
- **Promotrice : Hassiba BOUGUERIA (MCA) Centre universitaire de Mila**

Année Universitaire : 2022/2023



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ





Remerciement

*Avant tout. Louange à **DIEU** le tout puissant, le miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser se travail dans de meilleurs conditions.*

*Nous tenons à remercier notre promotrice M^{elle} **BOUGUERIA HASSIBA**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en proposant et en dirigeant ce travail, pour ses aides ,ses conseils et s'est toujours montré à l'écoute.*

*Nous remerciments vont à les membres du jury **FATIMA BOUKEZZOULA** et **OUAHIBA HARRIECHE** d'avoir accepter de juger ce modeste travail.*

Nous remercions respectivement les techniciens de laboratoire du centre universitaire mila à l'aide, et le temps qu'ils ont eu la gentillesse de nous consacrer. nous exprimons également notre gratitude à qui leurs innombrables efforts nous ont permis de mener à la fin de nos études grâce à ce travail.

*Nous remercions particulièrement Docteur **MIROUH HABIB** propriétaire du laboratoire d'analyse médicale ; pour avoir autorisé d'effectuer quelques manipulations dans son laboratoire sur la region Ferdjioua et pour tout ses aides.*

Finalement , nous remercions tous ceux de près ou de loin qu'ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

A l'aide de **DIEU** tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

♥ *À* la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère **SAMIA** merci pour ton amour et ta présence rassurante à mes côtés, aujourd'hui je regarde ma vie et je réalise que j'ai accompli de grandes choses grâce à toi.

♥ *À* mes grand arents **ABD ELSLAM** et **RAHOAJA** vous êtes ma raison de vivre que ALLAH vous donne une longue vie.

♥ *À* ma plus chère tante **NADIA** , de m'avoir soutenu mon rêve durant tout ce temps merci ma deuxième mère .

♥ *À* mes belles tantes **KARIMA** et **HADDA** qui m'ont donné l'amour et la force, merci pour tout l'aide et le soutien. Je vous aime.

♥ *À* mes chers oncles **ABDELMALEK** , **RIAD** , et **DJAMEL** qui ont accordé leur soutien dans toutes les instants les plus difficiles. Aucun mot ne peut exprimer ma gratitude pour le soutien que j'ai reçu de vous. Prenez juste mon plus sincère merci.

♥ *À* ma chère sœur **BESMA** et sa petite famille pour leur amour; et leur soutien inconditionnel. Merci d'avoir illuminé ma vie par ta présence je me sens béni de vous avoir dans ma vie; Je t'aime tellement!

♥ *À* mes plus fidèles copines **Ines, Ikram, Iman Rania, Amani** , **Oulfa, Hadjer ,Rayen, Foufa, Hana, Bouchra** et **oumaima** ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour. Je vous remercie du fond du cœur.

♥ *À* ma collègue **RANIA** qui je souhaite tout le bonheur du monde et de la réussite.

♥ *À* mes cousins et cousines: **Farouk, Fouzi, Moukim, Anis, Doua, Raouf, Sofian, Tasnim, Raoune, Mouad, yahia, Ziad, Khadidja, Dhikra, ishak, abd elsamed, Rahma** et la petite princesse **Razan**.

Asma

Dédicaces

En préambule à ce travail, Je rends grâce à **DIEU**, qui nous a gratifié force et courage pour l'accomplissement de cette mémoire. J'ai L'honneur de dédier ce travail :

♥ *À* mes très chers parents :

Ma mère **NAIMA** qui que je fasse ou que je dise ton , je ne saurais point te remercier comme il se doit , ton affection me couvre , ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés à toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

Mon père **TAHER** pour son sacrifices et son soutien tout au long de mes études, Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

♥ *À* ma sœur adorés **KHAWLA** et Mon petits frère **MAROUANE** merci pour l'amour qui me réservent je leur souhaite une vie pleine du bonheur et du succès.

♥ *À* ma grand-mère **LOUISA** je te souhaite une longue vie et une bonne santé.

♥ *À* toutes ma famille , mes oncles et tantes , mes cousins et cousines ainsi qu'as les petites enfants , et à tous ceux qui m'ont soutenus et me soutiennent encore. Du fond du cœur Merci, et que Dieu vous protège.

♥ *À* mes amis **FOUFA,BOUCHRA, HANA, OMYMA** et **RANIA** au nom de l'amitié qui nous réunit et au nom de nos souvenirs inoubliables.

♥ *À* ma plus belle copine **ASMA** qui a partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Elle m'a chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

Ikram

Dédicaces

Louange à **DIEU**, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail. On dit « les mots s'envolent, seuls les écrits restent » c'est pour cela que je vous écris ces petits mots.

C'est avec un très grand Honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus Chères au monde :

♥ *À* la chose la plus précieuse que j'ai, la lumière de mes yeux, au bonheur de ma vie ma mère **RACHIDA**. Qui m'a soutenu durant toutes mes années d'étude, pour ses sacrifices et soutien qui m'ont donné la confiance et le courage.

♥ *À* toi mon cher père **DJAMEL** qui m'a élevé, qui m'a appris tout de chose et qui a tout fait pour que je ne manque de rien. Dieu vous accorder longue vie pleine de santé et de bonheur.

♥ *À* mes chers frères : **FADI**, **YASSER** et **MOUSSA**. Mon soutien dans la vie Je vous souhaite à tous bonheur et succès.

♥ *À* ma très chère grand-mère **FATMA**.

♥ *À* tous mes grandes familles : **KEROUAZ** et **BOUCHAIR**

♥ *À* mon fidèle amie **KHADIDJA** pour chaque moment joli, j'ai vécu avec toi.

♥ *À* mes binômes : **ASMA** et **IKRAM**.

♥ *À* toutes les personnes chères à mon cœur qui se reconnaîtront sûrement.

Rania

Résumé

Dans le cadre de la contribution, afin de valoriser les plantes médicinales connues pour leurs propriétés thérapeutiques, nous avons choisi *Teucrium polium* L. et *Rubia tinctorum* L. qui appartiennent respectivement aux familles de Rubiaceae et Lamiaceae. Sont deux espèces largement utilisées en médecine traditionnelle pour de nombreuses pathologies. L'objectif de notre travail est réalisé une étude phytochimique, le dosage du polyphénol total ainsi que d'évaluer les activités antioxydante, antibactérienne et anticoagulante. Les résultats obtenus ont montré l'existence de différentes familles de composés chimiques du métabolisme secondaire chez les deux espèces étudiées. L'étude de la teneur en composés phénoliques de l'extrait méthanolique, obtenu par macération, a été réalisée par des méthodes colorimétriques au réactif de Folin-Ciocalteu pour les polyphénols totaux, l'activité antioxydante a été testée par la méthode de la mesure de la capacité de piégeage du radical libre DPPH, en utilisant l'acide ascorbique comme standard. L'évaluation de l'activité anticoagulante de l'extraits méthanoliques *in vitro* a été effectuée en utilisant le test de (TQ) et test de (TCK), le temps de coagulation obtenu du plasma naturel nous a montré que les deux plantes étudiées possèdent une activité anticoagulante très remarquable qui se traduit par l'absence de la coagulation sur le plasma quel que soit le temps. L'activité antibactérienne a été testée sur trois souches « *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas Aeruginosa* » avec les extraits méthanoliques et éthanoliques à différentes concentrations par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé, les résultats obtenues montre que l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* L. et *Rubia tinctorum* L. possède une activité antibactérienne seulement *vis à vis* la souche *Staphylococcus aureus*, tandis que l'extrait éthanolique des deux espèces ont montré un effet négatif avec tous les sortes de bactéries.

Mots clé : *Rubia tinctorum* L., *Teucrium polium* L., Tests phytochimiques, Polyphénols totaux, Activité antioxydante, Activité anticoagulante, Activité antibactérienne.

Abstract

As part of the contribution, in order to value the medicinal plants known for their therapeutic properties, we have chosen *Teucrium polium* L. and *Rubia tinctorum* L. that belong respectively to the families of Rubiaceae and Lamiaceae. Are two species widely used in traditional medicine for many pathologies. The objective of our work is to achieve phytochemical studies, the dosage of total polyphenols as well as to evaluating the antioxidant, antibacterial and anticoagulant activities. The results obtained showed the existence of different families of chemical compounds of secondary metabolism in the two species studied. The study of the phenolic compounds content in the methanolic extract, obtained by maceration, has carried out by colorimetric methods with the Folin-Ciocalteu reagent for total polyphenols. The antioxidant activity has tested by the method of measuring DPPH free radical scavenging ability, using ascorbic acid as a standard. The evaluation of the anticoagulant activity of the methanolic extracts *in vitro* has carried out using the test TQ and TCK test. The coagulation time got natural plasma showed us. That our two plants studied have a very remarkable anticoagulant activity, which results in the absence of coagulation on the plasma whatever the time. The antibacterial activity has tested on three strains « *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas Aeruginosa* » with methanolic and ethanolic extracts at different concentrations by the method of diffusion of discs on agar medium. The results obtained show that the methanolic extract of *Teucrium polium* L. and *Rubia tinctorum* L. has antibacterial activity, only against the *Staphylococcus aureus*, while the ethanolic extract of both species showed a negative effect with all kinds of bacteria.

Keywords: *Rubia tinctorum* L., *Teucrium polium* L., Phytochemical tests, Total polyphenols, Antioxidant activity, Anticoagulant activity, Antibacterial activity.

ملخص

كجزء من المساهمة من أجل تعزيز النباتات الطبية المعروفة بخصائصها العلاجية، اخترنا *Rubiaceae* و *Teucrium polium* L. التي تنتمي على التوالي إلى عائلات *Rubiaceae* و *Lamiaceae*. حيث يهدف دراستنا إلى إجراء دراسة كيميائية نباتية، ومعايرة البوليفينول الكلي بالإضافة إلى تقييم الأنشطة المضادة للأوكسدة والمضادة للبكتيريا ومضادات التخثر. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود عائلات مختلفة من المركبات الكيميائية الأيض الثانوي في النوعين المدروسين. وقد تم إجراء تقييم محتوى المركبات الفينولية في المستخلص الميثانولي الناتج عن النقع بالطرق اللونية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu من أجل البوليفينول الكلي، وتم اختبار الفعالية المضادة للأوكسدة بطريقة القياس باستعمال حمض الاسكوربيك كمعيار. كذلك تم إجراء تقييم النشاط المضاد للتخثر للمستخلصات الميثانولية في المختبر باستخدام اختبار TQ واختبار TCK. أظهر لنا وقت التخثر الذي تم الحصول عليه من البلازما الطبيعية. أن النباتات المدروسة لها نشاط رائع للغاية مضاد للتخثر مما يؤدي إلى عدم وجود تجلط في البلازما مهما كان الوقت. وأخيرا تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا على ثلاث سلالات «*Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas Aeruginosa*» مع المستخلصات الميثانولية والإيثانولية بتركيزات مختلفة عن طريق طريقة انتشار الأقراص على وسط أجار. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلص الميثانولي لـ *Teucrium polium* L. و *Rubia tinctorum* L. له نشاط مضاد للجراثيم، فقط ضد سلالة *Staphylococcus aureus*، بينما المستخلص الإيثانولي لكلا النوعين أظهرت تأثيرًا سلبيًا على جميع أنواع البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: القوة، الخياطة، اختبارات كيميائية نباتية، البوليفينول الكلي، نشاط مضاد للأوكسدة، نشاط المضاد للتخثر، نشاط مضاد للبكتيريا.

Liste des abréviations

%	Pourcentage
A.A%	Activité anti radical
ABS	Absorbance
°	Degré
°C	Degré Celsius
C	Concentration
CaCl ₂	Calcium Chloride
Dr	Docteur
DO	Densité optique
DMSO	Diméthyle sulfoxyde
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
E. Coli	<i>Escherichia coli</i>
EAG	Equivalent d'acide gallique
FeCl ₃	Chlorure ferrique
G	Gramme
H	heures
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀	Acide phosphomolybdique
H ₃ PW ₁₂ O ₄₀	Acide phosphotungstique
HCl	Acide chlorhydrique
KOH	Hydroxyde de potassium
Mg	Milli gramme
min	Minutes
ml	Millilitre
Mm	Millimètre
OMS	Organisation mondiale de la Santé
NaOH	Hydroxyde de sodium
Na ₂ CO ₃	Carbonate de sodium
NH ₄ OH	Hydroxyde d'ammonium

Liste des abréviations

Nm	Nanomètre
Ps	Poids sec
PPT	Polyphénols totaux
<i>R.tinctorum</i> L.	<i>Rubia tinctorum</i> L.
R	Rendement
rpm	Rotation par minute
S	Seconde
Sm	Solution mère
<i>T. polium</i> L.	<i>Teucrium polium</i> L.
TCK	Test de céphaline Kaolin
TP	Taux de prothrombine
TQ	Temps de Quick
μl	Microlitre
UV	Ultra-violet
μg	Microgramme
V/V	Rapport volume par volume
W ₈ O ₂₃	Oxyde de tungstène
λ	La longueur d'onde
Cm	Centimètres
EAG/g.ms	Équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche
ERO	L'espèces réactives de l'oxygène
ROS	reactive oxygen species
FXIIa	Activated factor XIIa
FVIIa	Facteur Proconvertine A
Kh	El khiyata
Gr	La garance
E.MeOH	L'extrait méthanolique
<i>S.a</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>P.a</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>

Liste des figures

Figure 01: L'acide phénolique.	4
Figure 02 : Stérol.	9
Figure 03 : Le saponoside.	9
Figure 04 : L'alcaloïde	10
Figure 05 : La cascade de la coagulation (Gentry,2004 ; Vogler et Siedlecki., 2009)	15
Figure 06 : <i>Rubia tinctorum</i> L. (Kohler, 1897).	18
Figure 07 : <i>Rubia tinctorum</i> L. (Bonnier et Layens., 1894)	19
Figure 08: Racines de <i>Rubia tinctorum</i> L. (Odounga, 2011).	20
Figure 09: Structures des principales anthraquinones aglycones rencontrées dans les racines de garance (Derksen et al., 1998).	21
Figure 10 : <i>Teucrium polium</i> L. (Boulard, 2003)	23
Figure 11 : Les Fleurs et les feuilles des <i>Teucrium polium</i> L. (Boulard, 2003)	25
Figure 12 : Racines sèches de <i>Rubia tinctorum</i> L.	28
Figure 13: Les feuilles sèche de <i>Teucrium polium</i> L.	28
Figure 14 : Broyage et tamisage du <i>Rubia tinctorum</i> L. (Photo personnelle ,2023).	29
Figure 15 : Broyage et tamisage du <i>Teucrium polium</i> L. (Photo personnelle ,2023).	29
Figure 16: Etape de la macération éthanolique (photo personnelle,2023)	30
Figure 17 : Etape de préparations d'extrait Méthanolique (photo personnelle,2023)	31
Figure 18 : préparations de l'extrait aqueux (photo personnelle,2023)	31
Figure 19 : Dilution de la solution mère de l'acide gallique	35
Figure 20: Protocole de dosage des polyphénols totaux.	36
Figure 21 : Mécanisme de réduction du radical DPPH par un antioxydant AH (Lemjallad, 2015).	37
Figure 22 : Préparation de la solution DPPH (photo personnelle, 2023)	37
Figure 23: Dilution de la solution mère de l'extrait	37
Figure 24 : Dilution de la solution mère de l'acide ascorbique.	38
Figure 25 : Etapes de préparation d'un pool plasmique (Photo personnelle, 2023)	40
Figure 26 : Réactif de thromboplastine (TP) (Photo personnelle,2023).	40
Figure 27 : coagulomètre (Photo personnelle,2023).	40
Figure 28 : Représentation schématique des étapes d'étude de l'activité anticoagulante (TQ)	41
Figure 29: coagulomètre (Photo personnelle,2023).	42
Figure 30 : Réactif de céphaline kaolin (BIO-CK) (Photo personnelle,2023).	42
Figure 31 : Représentation schématique des étapes d'étude de l'activité	42
Figure 32: Différentes concentrations des extraits.	43
Figure 33 : Préparation du milieu de culture.	44
Figure 34: Préparation des suspensions	44
Figure 35 : Ensemencement des bactéries et dépôt des disques.	45
Figure 36 : Incubation et Lecture.	45
Figure 37: Rendement des extraits bruts de <i>Teucrium polium</i> L.	54
Figure 38 : Rendement des extraits bruts de <i>Rubia tinctorum</i> L.	54
Figure 39: la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	56
Figure 40: Effet de l'extrait méthanolique sur <i>Staphylococcus aureus</i>	61

Liste des tableaux

Tableau 01: Facteurs et protéines de la coagulation (Elalamy et Samama, 2001).	14
Tableau 02: Classification du <i>Rubia Tinctorum</i> L.	19
Tableau 03 : Classification botanique du <i>Teucrium polium</i> L.	24
Tableau 04 : Liste des matériels utilisés pendant la manipulation.....	28
Tableau 05 : Résultat de screening phytochimique.	47
Tableau 06 : Résultat d'analyse phytochimique des métabolites secondaires	48
Tableau 07 : Teneur en polyphénols totaux.	56
Tableau 08: Teneur en polyphénols totaux.	57
Tableau 09: Effet extrait méthanolique sur l'IC50.	58
Tableau 10 : Résultat de l'activité anticoagulante (TCK).	60
Tableau 11 : Les zones d'inhibition testés par Les deux extraits de <i>Rubia tinctorum</i> L	62
Tableau 12: Les zones d'inhibition testés par Les deux extraits de <i>Teucrium polium</i> L.	62

Table de matière

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	

Chapitre 01: Etude bibliographique

INTRODUCTION GENERALE	1
I. METABOLISME DES PLANTES MEDICINALES	3
I.1. INTRODUCTION.....	3
I.2. METABOLITES SECONDAIRES.....	3
I.2.1. Les composés phénoliques.....	3
I.2.2. Les composés terpénique (terpénoïdes, stéroïdes, stérols)	7
I.2.2.4. Les saponosides.....	9
.....	9
I.2.3. Les composés azotés (les alcaloïdes)	10
II. LES ACTIVITES BIOLOGIQUES.....	11
II.1. ANTIOXYDANTS.....	11
II.1.1. Historique	11
IV.1.2. Définition	11
II.1.3. Les antioxydants.....	11
II.1.4. Propriétés antioxydants.....	12
II.1.5. Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène.....	12
II.2. ACTIVITE ANTICOAGULANTE	13
II.2.1. L'hémostase.....	13
II.2.2. L'hémostase primaire.....	13
II.2.3. Coagulation (l'hémostase secondaire).....	13
II.2.4. Les facteurs de la coagulation	14
II.2.5. Voies de la coagulation.....	14
II.3. L'ACTIVITE ANTI BACTERIENNE :	15
II.3.1. Définition des bactéries.....	15
II.3.2. Les antibiotiques.....	16
II.3.3. Généralités sur les souches bactériennes testées.....	16
III. PRESENTATION DU <i>RUBIA TINCTORUM</i> L.	17

III.1. GENERALITE.....	17
III.2. HISTORIQUE	18
III.3. CLASSIFICATION BOTANIQUE.....	19
III.4. NOMENCLATURE	19
III.5. DESCRIPTION BOTANIQUE.....	19
III.6. CONSTITUANTS CHIMIQUES	20
III.7. UTILISATIONS	21
III.7.1. Dans le domaine de la teinture.....	21
III.7.2. Dans le domaine médical.....	22
III.7.3. Dans le domaine agroalimentaire.....	22
IV. PRESENTATION DU <i>TEUCRIUM POLIUM</i> L.	23
IV.1. GENERALITE	23
IV.2. HISTORIQUE	23
IV.3. CLASSIFICATION BOTANIQUE	24
IV.4. NOMENCLATURE	24
IV.5. DESCRIPTION BOTANIQUE	25
IV.5. CONSTITUANTS CHIMIQUES.....	25
IV.6. UTILISATION EN MEDECINE TRADITIONNELLE	26
<i>Chapitre 02: Matériels et méthodes</i>	
I. MATERIELS ET METHODES	28
I.1. MATERIEL VEGETAL.....	28
I.1.1. Matériel.....	28
I.2. METHODES	29
I.2.1. Préparation de matériel végétal.....	29
I.2.2. Analyse qualitative.....	32
I.2.3. Analyse quantitative.....	34
I.2.4. Activités biologiques :	36
<i>Chapitre 03: Résultats et discussion</i>	
I. RESULTATS ET DISCUSSION	47
I.1. ANALYSE QUALITATIVE	47
I.1.1. Etude phytochimiques	47
I.2. ANALYSE QUANTITATIVE.....	53
I.2.1. Extraction et dosage des polyphénols totaux	53
I.2.2. Dosage des polyphénols totaux.....	55
I.2.3. Activité antioxydantes	57
I.2.1.4. Activité anti coagulante	59
I.2.5. Activité anti bactérienne	61

CONCLUSION	65
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	
ANNEXE	

Chapitre I

Etude bibliographique

Introduction générale

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. Bien qu'une grande partie du XXème siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a conduit à la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines (**Gurib, 2006**).

L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour le traitement ou la prévention des maladies est originaires des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, Indienne et du Proche-Orient. Elle est devenue certainement un art (**Hamburger et Hostettmann., 1991**). L'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans phytochimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents (**Hostettmann et al., 1998**).

Les plantes médicinales représentent une des sources de médicaments pour environ 80 % des populations africaines. Le savoir-faire des guérisseurs traditionnels, d'une valeur inestimable, est un point de départ pour l'investigation pharmacologique et phytochimique de ces médicaments naturels (**Obame-Engonga, 2009**).

Il n'existe aucun renseignement exact qui permette de déterminer l'intérêt des plantes ou des principes actifs qui en dérivent, ni dans quelle mesure ils sont utilisés dans les systèmes de soins de santé nationaux. D'après une estimation de l'OMS, sur la population du globe qui dépasse 4 milliards d'habitants, il y en a peut-être 80% qui ont essentiellement recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire leurs besoins en soins de santé primaires et l'on peut présumer sans grand risque d'erreur que la majeure partie du traitement traditionnel consiste à utiliser des extraits de plantes ou leurs principes actifs. Dans les pays développés également, les médicaments d'origine végétale ont parfois de l'importance (**Norman et al. 1986**). Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits synthétisés par les plantes elles même appelés métabolites secondaires donc d'un point de vue pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques présents chez les végétaux

et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une telle substance végétale. Cette efficacité pharmacologique des métabolites secondaires s'est traduite par le développement de médicaments majeurs sur les 30 dernières années, tel que le Taxotère ou la Vinorelbine, utilisés dans le traitement de certains cancers (**Bourgaud, 2013**).

Les plantes choisies dans notre travail sont *Rubia tinctorum* L. et *Teucrium polium* L. En médecine traditionnelle, elles ont une place importante en raison de ses indications thérapeutiques.

L'étude présentée ici, porte sur une étude phytochimique permettant d'identifier certains groupes chimiques bioactifs contenus dans quatre différentes préparations des extraits aqueux, méthanoïques, éthanoïques, chloroformiques et le dosage d'une de métabolites secondaires : les polyphénols et une contribution à la mise en évidence de leurs activités biologiques.

Le plan de notre travail est structuré comme suit Dans un premier temps, nous procéderons à une introduction générale suivie d'une revue bibliographie sur les plantes médicinales en général et étudiées en particulier, le métabolisme secondaire et les activités biologiques.

Dans un deuxième temps, nous envisagerons la partie expérimentale. Cette partie vise à dégager une compréhension de certaines méthodes et matériels utilisés

Finalement, nous consacrerons la dernière partie à analyser et interpréter les résultats obtenus suivi e d'une conclusion générale.

I. Métabolisme des plantes médicinales

I.1. Introduction

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent (**Krief, 2003**).

I.2. Métabolites secondaires

Le métabolisme secondaire regroupe les voies de synthèse de composés qui ne sont pas directement impliqués dans la croissance de la plante. Ils interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement (soutien, protection contre les UV, défense, mise en place de symbiose, attraction d'insectes utiles pour la pollinisation...). Certains de ces composés participent à la défense contre les bio-agresseurs. Les produits des métabolismes secondaires sont très nombreux, plus de 200.000 structures ont été identifiées. Classiquement il y a quatre grandes catégories de métabolites secondaires chez les plantes : les composés phénoliques, les saponines, les composés azotés et les composés terpéniques (**Hermis et Mattson., 1992**).

I.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques classiquement considérés comme des métabolites secondaires, ils sont présents chez tous les végétaux supérieurs (**Li et al., 1993 ; Lois et Buchanan, 1994**), constitués d'au moins un noyau aromatique de type benzène, possédant un ou plusieurs groupements hydroxyles. Ils peuvent avoir des structures simples, comme les acides phénoliques, ou hautement polymérisées dans le cas des tanins condensés (**Lin et al., 2016**). Ils correspondent à une très large gamme de structures chimiques et sont caractérisés par une répartition qualitative et quantitative très inégale selon les espèces considérées mais aussi les organes, les tissus et les stades physiologiques (**Li et al., 1993 ; Lois et Buchanan., 1994**).

Dans les plantes, les composés phénoliques sont principalement impliqués dans des mécanismes de défense mais aussi pour accélérer la pollinisation, comme agents de pigmentation ou comme antioxydants ou antimicrobiens (**Alasalvar et al., 2001**).

Par ailleurs, ils peuvent s'oxyder, par voie enzymatique ou en milieu alcalin, et former des quinones. Ces produits d'oxydation peuvent ensuite réagir avec les acides

aminés des protéines, contenant des fonctions thiols ou amines, et provoquer un brunissement et des modifications de leurs caractéristiques organoleptiques (Ozidal et al., 2013).

I.2.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont rares dans la nature. Ces composés sont formés de deux catégories : la première catégorie contient les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque qui par mono hydroxylation et/ou polyhydroxylation forme des acides phénoliques et des acides polyphénoliques respectivement l'acide gallique et l'acide protocatéchuique.

La deuxième catégorie regroupe les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique. De même avec l'acide cinnamique, l'hydroxylation conduit à l'acide p-coumarique et à l'acide caféique (Haslam, 1994).

Les acides phénoliques influent également sur l'absorption des ions et sur le transport du succinate et malate à travers la membrane mitochondriale (Brzowska et Hanower., 1976). (Figure 01)

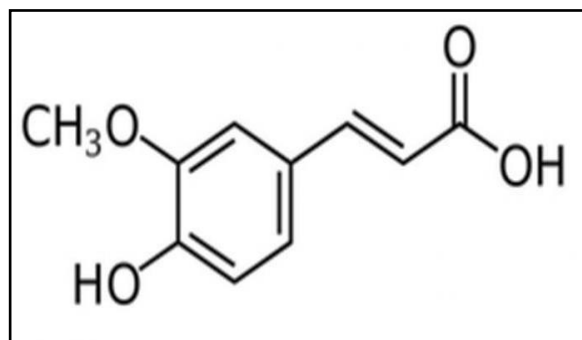


Figure 01: L'acide phénolique.

I.2.1.2. Les tanins

On peut indiquer d'un point de vue général que les tanins sont des composés phénoliques présents dans la nature sous forme polymérisée ayant des poids moléculaires compris entre 500 et 3.000 (Doat, 1978) qui ont la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre dure et résistante aux moisissures, en se fixant sur des protéines (Mamadou, 2002).

Chimiquement il existe deux grands types de tanins qui diffèrent par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique, les tanins condensés et les tanins hydrolysables :

- **Les tanins condensés (ou proanthocyanidines)**

Ils se rencontrent dans l'écorce, les racines et les feuilles de la plupart des espèces végétales et aussi dans les fruits et les graines. Les tanins condensés sont des dimères, des oligomères ou des polymères de flavonoïdes, spécifiquement des flavan-3-ols (catéchine et épicatechine) et flavan-3,4 diols. Cette classe de tanins est la plus représentée dans le monde végétal, aussi bien chez les Angiospermes que les Gymnospermes et les Ptéridophytes (Cordesse et Zimmer., 1996).

- **Les tanins hydrolysables**

Ils ont une distribution taxonomique plus restreinte ; principalement dans les arbres et les plantes herbacées dicotylédones et dans de nombreux aliments comme les grenades, les fraises, les framboises, les mûres, les noix et les vins.

Les tanins hydrolysables proviennent principalement des acides phénoliques, tels que l'acide gallique ou l'acide ellagique d'où leur subdivision en gallotanins ou tanins galliques et ellagitanins ou tanins ellagiques. Associé au D-glucose, l'acide gallique constitue un ester, le pentagalloylglucose, précurseur des tanins hydrolysables. On les rencontre également dans le vin, car ils sont présents dans les raisins mais aussi dans le bois de chêne composant les tonneaux que l'on utilise pour laisser vieillir le vin. Les tanins condensés (polymères de flavanols) proviennent du raisin (Brillouet et al., 2013).

III.2.1.3. Les coumarines

Les coumarines présentent toutes une structure composée d'un cycle benzène et d'un noyau lactone (benzo- α -pyrone) formant alors un noyau coumarine simple. À ce noyau peuvent s'ajouter différents groupements chimiques à l'origine de quatre types de coumarines différentes rencontrées chez les plantes supérieures (Bourgaud et al., 2006):

1. Les coumarines simples
2. Les furocoumarines
3. Les pyranocoumarines
4. Les phénylcoumarines

Aujourd'hui, on recense plus de 1300 coumarines différentes (Iranshahi et al., 2009) décrites chez les plantes, mais aussi chez les champignons et les bactéries. À l'origine, elles ont été découvertes dans la fève de tonka (*Dipteryx odorata*, famille des

Fabacées) qui en contient beaucoup. Des coumarines ont été répertoriées chez près de 30 familles de plantes différentes comprenant environ 150 espèces.

La grande diversité des coumarines résulte dans l'ajout de groupements chimiques à ces quatre structures de base, telles que des hydroxylations, des méthoxylations, des prénylations, des géranylations ou encore des époxydations. (Miller *et al.*, 1996).

La coumarine a été utilisée comme agent aromatisant dans l'industrie alimentaire et des parfums pendant de nombreuses années jusqu'à ce que des preuves confirmant ses propriétés toxicologiques et ses effets nocifs sur le foie entraînent l'arrêt de son utilisation dans les aliments (Abraham *et al.*, 2010 ; Lake, 1999).

III.2.1.4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin flavus, jaune) sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement sous forme de fruits, légumes et boissons telles que le vin et le thé. On les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants des chromo-plastes. Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices, anti-hépatotoxiques, anti-allergiques, anti-inflammatoires, anti-ulcéreuses et même anti-tumorales significatives (Ghedira, 2005).

Le terme flavonoïdes rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes) (Chevallier, 2008). Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles. Ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV (Riberau-Gayon, 1968). Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-Phényl Chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (Heller *et al.*, 1998)

III.2.1.5. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos = fleur et du kianos = bleu) constituent le plus grand groupe de pigments hydrosolubles du règne végétal et appartiennent au sous-groupe flavonoïde des polyphénols. Elles sont responsables des couleurs roses, rouges,

violettes et bleues dans les fleurs, les fruits et autres tissus végétaux. Chimiquement, il s'agit de glycosides ou d'acylglycosides polyhydroxylés ou polyméthoxylés de leurs chromophores d'anthocyanidine respectifs (**Han et al., 2007; Castaneda-Ovando et al., 2009**). Ils ont une structure de base commune, le cation flavylum ou 2-phényl-1-benzopyrilium. L'aglycone de l'anthocyane est appelé anthocyanidine. (**Harborne et Williams., 2001**). Ont rapporté 18 structures d'anthocyanidines, cependant on en retrouve principalement six, pélargonidine, delphinidine, cyanidine, péonidine, pétunidine et malvidine. Leurs structures se différencient par le nombre et la position de groupes hydroxyls et méthyls sur le noyau B. Les anthocyanidines sont le plus souvent glycosylées en position 3 et 5 avec le plus fréquemment des monosaccharides (glucose, galactose, rhamnose et arabinose) et des di- et tri-saccharides formés par la combinaison des monosaccharides précédents. Ceci augmente leur solubilité et leur stabilité. Les sucres peuvent aussi être acylés par l'acide cinnamique, coumarique, acétique, caféique, ferulique, sinapique et malonique, augmentant ainsi la diversité de ces molécules (**Brouillard, 1993**).

I.2.2. Les composés terpénique (terpénoïdes, stéroïdes, stérols)

I.2.2.1. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes, également connus sous le nom d'isoprénoïdes, sont les produits naturels les plus diversifiés et les plus abondants sur le plan structurel. Le nom générique "terpène" était à l'origine appliqué aux hydrocarbures de la térébenthine. Ils sont classés en fonction du nombre et de l'organisation structurelle du carbone formé par un arrangement linéaire d'unités d'isoprène suivi d'une rotation et d'un réarrangement de la charpente carbonée avec une propriété expérimentale connue sous le nom de base d'isoprène. Ils nous sont peut-être plus familiers en tant que constituants majeurs des huiles essentielles, constitués de fractions pouvant être distillées à la vapeur, aqueuses ou sèches, ou de fractions obtenues par traitement mécanique scientifique, responsables de l'arôme caractéristique. De nombreuses espèces végétales. Chimiquement, les huiles essentielles terpéniques peuvent être divisées en deux catégories, les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes, qui diffèrent par leurs plages de points d'ébullition.

L'isomérisation est courante chez les terpénoïdes et des paires d'isomères peuvent être isolées à partir de plantes. Les isomères sont des molécules qui ont la même formule empirique, mais diffèrent par leur liaison ou leur disposition spatiale des atomes. Il existe

cinq formes principales d'isoformes de terpénoïdes : la structure, la position, la géométrie, la conformation et la stéréosélectivité (**Ludwiczuk., 1992**). (**Figure 02**)

I.2.2.2. Les stéroïdes

Les stéroïdes sont des composés très utiles et essentiels pour les organismes vivants. On les trouve aussi bien dans les plantes que dans le règne animal. Les stéroïdes génériques contiennent des cycles 17-H partiellement ou totalement hydrogénés. Ils sont très puissants et exercent leurs effets pharmacologiques à de très faibles concentrations. Dans les stéroïdes, le groupe méthyle se trouve généralement en C-10 et C-13 et la chaîne latérale alkyle se trouve en C-17. Lorsque le groupe hydroxyle est en C-3, ils appellent les stérols une activité légèrement différente de celle des stéroïdes. Ces composés (stéroïdes et stérols) sont impliqués dans plusieurs activités dans le corps et sont également utilisés à des fins médicales telles que les glycosides cardiaques, les contraceptifs oraux, l'hormonothérapie substitutive, et le traitement du cancer. (**Patadiya, 2020**). (**Figure 02**)

I.2.2.3. Les stérols

Les stérols d'origine végétale, appelés aussi phytostérols, sont des molécules présentes chez tous les végétaux dans la nature. Ils possèdent des structures et des propriétés qui leur sont propres et qui déterminent leur activité biologique dans le monde du vivant (**Milettinen et al 1990 ; Bosner et al., 1999 ; Berger et al., 2004**). Ils sont des lipides neutres possédant une structure rigide. Ils sont composés de 4 cycles hydrocarbonés nommés A, B, C et D qui forment une structure plane et rigide de nature apolaire.

Le rôle principal des stérols est de renforcer les membranes cellulaires. Grâce à leurs propriétés amphotères, les stérols s'intègrent dans la bicouche lipidique. L'ajout de stérols à la bicouche phospholipidique provoque la condensation et donc le renforcement de la membrane. Par exemple, l'ajout de cholestérol augmente la viscosité microscopique de la membrane, ce qui signifie que les chaînes d'acides gras des phospholipides sont mieux organisées et plus serrées en présence de cholestérol (**Bloch, 1983**) (**Figure 02**)

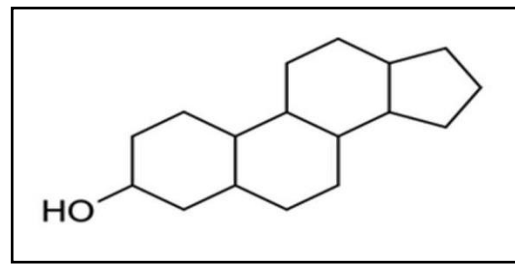


Figure 02 : Stérol.

I.2.2.4. Les saponosides

Le saponoside (ou saponine) est un glycoside généralement d'origine végétale formé à partir d'une génine de type triterpène ou stéroïde appelée sapogénine, possédant un ou plusieurs groupements osidiques. Les saponosides sont un grand groupe d'hétérosides, largement distribués dans les plantes supérieures, leurs propriétés tensioactives les distinguent des autres glycosides. Ils se dissolvent dans l'eau pour former une solution de mousse colloïdale lorsqu'ils sont agités (Tyler *et al.*, 1981). (Figure 03). Ils sont communément appelés composés tensioactifs non volatils, ils sont largement distribués dans la nature, se produisant principalement dans le règne végétal (Lasztity *et al.*, 1998 ; Oleszek, 2002 ; Hostettmann *et Marston*, 2005). Structuellement et chimiquement, ce sont des molécules de glycosides triterpéniques et stéroïdiens. Cette combinaison structurale d'éléments polaires et apolaires (propriétés amphotères), explique leur comportement savonneux en solution aqueuse (Oleszek, 2002).

- **Classification des saponosides**

Les saponosides peuvent être classés en deux groupes en fonction de la nature de leur squelette aglycone. Le premier groupe comprend les saponosides stéroïdiens, que l'on trouve presque exclusivement dans les angiospermes monocotylédones. Le deuxième groupe comprend les saponosides triterpéniques (Chomsky, 2012), qui sont les plus courants et se produisent principalement dans les angiospermes dicotylédones (Bährle-Rapp, 2007).

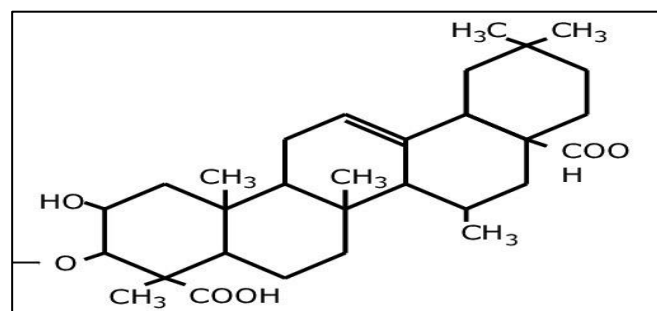


Figure 03 : Le saponoside.

I.2.3. Les composés azotés (les alcaloïdes)

Au cours de l'évolution, le règne végétal a développé une large variété de métabolites secondaires pour se défendre des herbivores, des microorganismes, des virus et des champignons. Parmi plus de ces 100 000 produits naturels connus aujourd'hui, environ 12000 sont des alcaloïdes. Une définition simple et générale des alcaloïdes a été proposée par **pelletier (1983)** : « un alcaloïde est un composé cyclique contenant un azote réduit et de distribution restreinte parmi les organismes vivants ».

Les structures chimiques complexes des alcaloïdes rendent l'élucidation de leur structure et les études sur leur biosynthèse très difficile. Des études établissent clairement que les alcaloïdes sont principalement formés des acides aminés tryptophane, tyrosine, phénylalanine, lysine et arginine. Ils peuvent être isolés ou liés à une autre fraction (de type stéroïde, sécoiridoïde, terpénoïde). Il a été montré qu'une ou deux transformations seulement sont nécessaires pour convertir ces acides aminés en substrat pour le métabolisme des alcaloïdes, fortement spécifique à chaque espèce de plante. Ces transformations nécessaires pour la biosynthèse des alcaloïdes sont catalysées par des enzymes fortement stéréo, régio et substrat spécifiques (**Croteau et al., 2000**) Les alcaloïdes sont considérés comme faisant partie du système de défense chimique constitutif de nombreuses plantes. Leur rôle dans la défense chimique est supporté par leur large gamme d'effets physiologiques sur les animaux et par leur activité antibiotique et répulsive contre les insectes. Par exemple, la nicotine, alcaloïde trouvé dans le tabac, a été le premier insecticide utilisé par l'homme. Un autre alcaloïde efficace contre les insectes est la caféine trouvée dans les graines et les feuilles de cacao, café et thé. Outre leur rôle dans la défense des plantes, les alcaloïdes sont utilisés en médecine. Par exemple, l'un des alcaloïdes prescrits le plus connu est un antitussif et analgésique : la codéine faisant partie du groupe des alcaloïdes isoquinoliniques (issus de la tyrosine), un autre alcaloïde isoquinolinique est très utilisé en médecine pour ses propriétés analgésiques : la morphine (**Croteau et al., 2000; Verpoorte et Memelink, 2002**). (**Figure 04**)

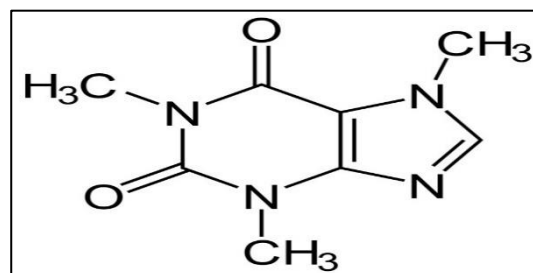


Figure 04 : L'alcaloïde

II. Les activités biologiques

II.1. Antioxydants

II.1.1. Historique

Depuis le début du 20^{ème} siècle, l'industrie s'est beaucoup intéressée aux antioxydants, tels que des molécules capables de réduire les effets de l'oxygène sur la corrosion des métaux. En biologie, la première étude des antioxydants a montré leur capacité à réduire l'oxydation des acides gras insaturés et ainsi réduire leur odeur de rance. Cependant, plus tard avec l'identification des vitamines C (Szent-Gyorgyi, 1928) et E (Evans et Bishop, 1922) dans l'entre-deux-guerres, l'importance des antioxydants en biochimie est apparue (Cillard *et al.*, 1975).

IV.1.2. Définition

Un antioxydant est par définition un produit chimique plus ou moins complexe qui réduit le stress oxydatif dans l'organisme. Ainsi, un antioxydant peut : (i) empêcher la synthèse des radicaux libres en inhibant l'initiation de la réaction en chaîne. Les antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydants, chélateurs ferriques, piègeurs de radicaux libres. L'organisme possède ses propres systèmes endogènes dédiés à cette action protectrice.

Cependant, de nombreux antioxydants exogènes également présents dans l'alimentation aident significativement à lutter contre l'oxydation. On les retrouve dans les fruits (pommes, poires, fruits rouges...), les légumes (brocolis, oignons...), les boissons (café, thé, vin...) ainsi que dans les épices, les céréales. Ces antioxydants sont surtout connus pour leur capacité à réagir directement avec les radicaux libres en les « neutralisant » par une réaction de réduction (Desmier, 2016).

II.1.3. Les antioxydants

Il existe deux types d'antioxydants :

- **Les antioxydants primaires**

Les antioxydants primaires ou radicalaires ou vrais, qui permettent l'interruption de la chaîne auto-catalytique.

- **Les antioxydants secondaires**

Les antioxydants secondaires ou préventifs inhibent la production de radicaux libres. Ce sont des substances qui décomposent les hydro peroxydes en alcools, thiols

(glutathion, acides aminés soufrés) ou disulfure, protecteurs UV comme les carotènes, chélateurs de métaux oxydants comme le fer et le cuivre comme l'acide citrique et la lécithine) ou enfin séquestrant d'oxygène comme l'acide ascorbique (**Rolland, 2004**).

II.1.4. Propriétés antioxydants

L'activité antioxydante des polyphénols est liée à leur structure et il existe une corrélation entre celle-ci et la disposition spatiale des substituants. En effet, le site et le degré d'hydroxylation influencent fortement cette activité (**Heim et al., 2002 ; González et al., 2020**). Les polyphénols sont de puissants antioxydants. Grâce à leur diversité structurale, ils participent à cette activité par de nombreux mécanismes en agissant à différents degrés de réactivité radicalaire ; Élimine les radicaux libres, libère des ions Les métaux de transition inhibent les enzymes génératrices d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), induisent des enzymes antioxydantes endogènes et empêchent la peroxydation des lipides (**Sánchez-Rodríguez et al., 2020**).

Les plantes contiennent également des concentrations élevées d'un certain nombre d'antioxydants actifs sur le plan redox et d'enzymes à activité antioxydante, qui aident à contrer les dommages oxydatifs graves aux composants cellulaires (**Pisoschi et al., 2009**).

- **Le stress oxydant**

Les ERO sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables : leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants (**Halliwell et gutteridge., 1989**).

II.1.5. Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) possédant un nombre impair d'électrons sur sa couche périphérique. Ces molécules sont caractérisées par leur instabilité et leur réaction rapide avec d'autres composants, afin de capturer l'électron nécessaire pour acquérir leur stabilité. Une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical attaque la molécule stable la plus proche, en lui arrachant son électron ; la molécule attaquée devient alors elle-même une molécule instable (**Bakli, 2020**).

En effet la formation de radicaux libres dans l'organisme est constante et nécessaire à la vie, mais les excès dépendent des facteurs extérieurs tels que le stress, la fatigue et les exercices physiques intensifs (**Bakasso, 2009**).

Ils sont également générés sous l'effet d'oxydants environnementaux, tels que, le tabac, la pollution, le soleil, les rayons ultra-violet, les radiations ionisantes, un effort

physique intense, le stress, une mauvaise alimentation, la consommation d'alcool, les fibres d'amiante, les pesticides, etc. (Afonso et al., 2007).

II.2. Activité anticoagulante

II.2.1. L'hémostase

C'est un processus physiologique pour limiter les pertes sang au niveau de la rupture vasculaire (Bezeaud et al., 2007). Elle représente l'ensemble des mécanismes biochimiques responsables de l'arrêt des hémorragies internes ou externes. Elle débute par la formation d'un clou plaquettaire pour aboutir à la réparation complète de la lésion vasculaire. Ce processus est composé de multiples mécanismes intracellulaires et extracellulaires regroupés en trois étapes clés : hémostase primaire, coagulation et fibrinolyse (Davido et al., 2014 ; Niwamaldin et al., 2012 ; Kumar et al., 2016).

II.2.2. L'hémostase primaire

L'hémostase primaire s'agit de l'ensemble des mécanismes physiologiques conduisant à l'obturation initiale de la brèche vasculaire et aux premières étapes de sa réparation (De Revel et al., 2004). Il peut se définir en deux phases distinctes : le temps vasculaire et le temps plaquettaire. Les plaquettes constituent la composante clé de l'hémostase primaire. Il est déclenché par une lésion de la paroi vasculaire qui expose le collagène sous-endothélial. Il y aussi une vasoconstriction se produit au site de la lésion pour diminuer le flux sanguin (Lin et al., 2019). Il intervient au cours de ces phases : des éléments circulants : les plaquettes, le fibrinogène et les cellules de l'intima : la monocouche de cellules endothéliales et lié à la brèche vasculaire, l'exposition des éléments constitutif du sous endothélium : collagènes, facteurs de Von Will brand (Denizot, 2020).

II.2.3. Coagulation (l'hémostase secondaire)

La coagulation plasmatique est le processus qui conduit à la transformation du fibrinogène plasmatique circulant soluble en fibrine insoluble enserrant le clou plaquettaire par le biais d'une série de réactions enzymatiques dont le contrôle continu permet une restriction locale sans diffusion à distance de la zone lésionnelle.

Des molécules de thrombine sont produites, enzyme clé de la coagulation, permettant la transformation du fibrinogène en fibrine et assurant la rétro-activation et l'amplification des différentes étapes tant de la coagulation que de l'hémostase primaire (De Revel et al., 2004).

II.2.4. Les facteurs de la coagulation

Les facteurs de coagulation sont des glycoprotéines participées au processus de coagulation qui sont synthétisées par le foie, avec ou sans intervention de la vitamine K, (Elalamy et Samama, 2001). Parmi lesquelles on peut distinguer trois groupes différents : les protéines à activité enzymatique, les protéines dénuées d'activité enzymatique mais servant de cofacteurs et les protéines ayant un rôle de substrat (Tableau01) (De Revel et al., 2004). Les facteurs (F) de la coagulation sont indiqués en chiffres romains, accompagnés d'un "a" lorsqu'ils sont activés.

Tableau 01: Facteurs et protéines de la coagulation (Elalamy et Samama, 2001).

Facteur	Nom	Fonction	Lieu de synthèse	Vitamine K dépendance
I	Fibrinogène	Substrat	Foie	-
II	Prothrombine	Zymogène	Foie	+
V	Proaccélélerine	Cofacteur	Foie	-
VII	Proconvertine	Zymogène	Foie	+
VIII	Facteur antihémophilique A	Cofacteur	Foie	-
IX	Facteur antihémophilique B	Zymogène	Foie	+
X	Facteur Stuart	Zymogène	Foie	+
XI	Facteur Rosenthal	Zymogène	Foie	-
XII	Facteur Hageman	Zymogène	Foie	-
XIII	Facteur stabilisant la fibrine	Zymogène	Foie	-

II.2.5. Voies de la coagulation

- **Voie endogène ou voie cellulaire**

La voie intrinsèque ou de contact, endogène, est une voie d'amplification. Elle est déclenchée principalement par la prékallitréine (PK) et le facteur XII (Hageman) présents lors de l'exposition du collagène dans une lésion vasculaire. Le FXIIa active la voie du complément et son principal inhibiteur C1 (Kumar, 2016; Michael, 2012 ; Chelle, 2017) (Figure 05).

- **Voie exogène :**

Première à intervenir, la voie extrinsèque est déclenchée dès l'apparition de la brèche vasculaire. Cela provoque la libération de facteur tissulaire. Ce dernier va se lier avec une grande affinité avec le facteur FVII pour former le complexe FT-FVII provoquant l'activation du FVII en FVIIa. Le complexe FT-FVIIa initie la voie extrinsèque.

La présence de FVIIa contribue à son autoactivation avec la formation de nouveaux complexes FT-FVIIa. Le facteur tissulaire peut également agir directement avec le facteur VIIa qui existe sous forme de trace dans le sang. La voie extrinsèque est courte, implique peu de facteurs de coagulation et est peu efficace à elle seule pour arrêter les saignements. Le complexe FT-FVIIa activera le facteur FX et initiera la voie commune (**Green, 2006**). (**Figure 05**).

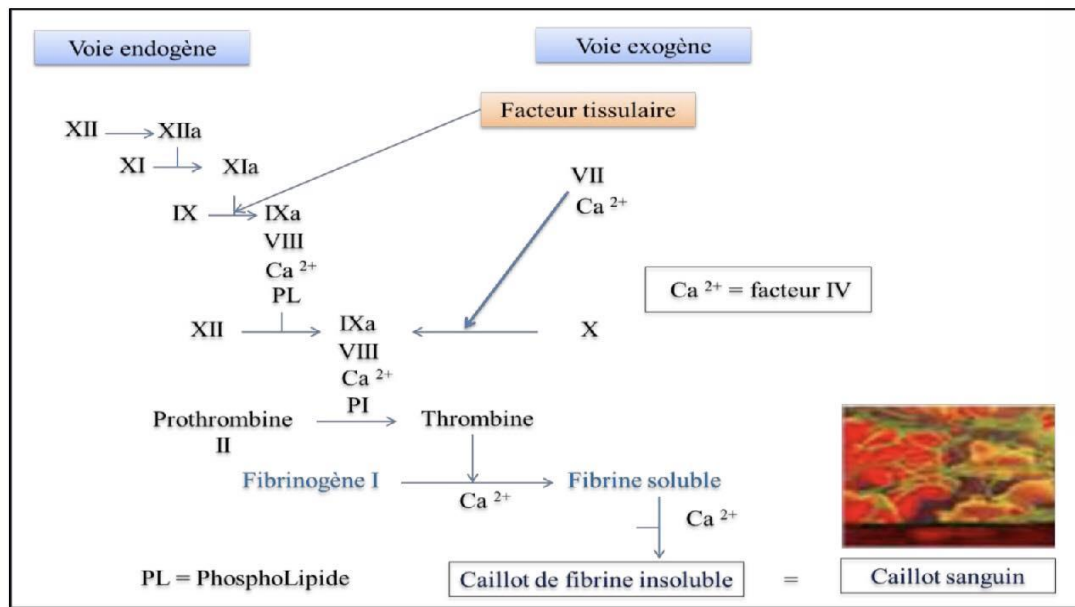


Figure 05 : La cascade de la coagulation (**Gentry,2004 ; Vogler et Siedlecki., 2009**)

II.3. L'activité anti bactérienne :

II.3.1. Définition des bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés comme procaryotes car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Cette caractéristique les distingue des autres organismes unicellulaires, qui sont classés parmi les eucaryotes (champignons, algues et protozoaires). Elles sont divisées en bactéries de niche (Bactéries) et en bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées dans la pathologie appartiennent à la Bactériologie. Ce dernier a généralement moins de $1 \mu m$ de diamètre. Ils peuvent être vus au microscope optique, frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (Cocci), en forme de bâtonnet (Bacilles), courbée (Vibrio) ou en spirale (Spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (**Ricci et al., 2005**).

II.3.2. Les antibiotiques

Un antibiotique est une substance antibactérienne produite par des micro-organismes (champignons et bactéries) (Yala et al., 2001) ou par définition par Turpin et Velu comme : « tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimio-thérapeutique élevé Son activité thérapeutique est se manifeste à très faibles doses et de manière spécifique, par « l'inhibition de certains processus vitaux, en relation avec des virus, des micro-organismes ou encore des cellules spécifiques d'organismes multicellulaires ». (Subhasree et al., 2009) Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), soit d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (Hanson et al., 2004).

II.3.3. Généralités sur les souches bactériennes testées

II.3.3.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli est bacille Gram négatif, assez grand (2 à 3 µm de long sur 0,5 µm de large), généralement mobile grâce à une ciliature péritriche. Appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Il a été découvert en 1885 par Theodor Escherich.

On trouve *E. coli* de façon commensale dans la flore intestinale et fécale, tant chez les humains que chez certains animaux. La flore intestinale est colonisée peu après la naissance. La bactérie et l'hôte coexistent sans impact sur leur santé respective. Cette coexistence entraîne des bénéfices mutuels (Kaper et al., 2004). La plupart des souches sont inoffensives, mais certaines souches acquièrent des bactériophages ou des entérotoxines codant pour l'ADN plasmidique ou des facteurs d'invasion et deviennent pathogènes. Ces souches virulentes sont responsables d'infections diarrhéiques dans le monde entier, ainsi que de méningites néonatales, de septicémies et d'infections des voies urinaires (IVU) (Sejal Makvana et al., 2015).

II.3.3.2. *Les staphylocoques*

De nombreuses études portant sur *les staphylocoques* qui a la grande place en pathologie infectieuse vétérinaire et humaine, tant par leur fréquence de diffusion que par la gravité des infections dont ils sont responsables.

Les staphylocoques sont des Cocci à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques, en courtes chaînettes ou en amas, ayant la forme de grappe de raisin, immobiles, non sporulés mais parfois encapsulés. Ils mesurent 0,8 à 1 µm de diamètre (Couture ,1990 ; Fauchere et Avril, 2002).

Ils appartiennent à la famille des Micrococcaceae et au genre *Staphylococcus*. La classification du genre *Staphylococcus* ne cesse d'évoluer jusqu'à nos jours.

Le critère de base est la production de coagulase. C'est ainsi que l'on distingue deux grands groupes de *staphylocoques* :

- *Les staphylocoques* à coagulase positive (SCP), généralement considérés comme les plus pathogènes dont le chef de file est *Staphylococcus aureus*, mais qui comprennent aussi d'autres espèces (**Bourgeois et al., 1996**).
- *Les staphylocoques* à coagulase négative (SCN), qui sont incapables de produire de la coagulase, réputés moins dangereux regroupant une vingtaine d'espèces (**Cainaud, 2005**). La majorité sont des bactéries opportunistes responsables d'infections nosocomiales. Trois facteurs favorisent ces infections : l'immunodépression, la présence de cathéters veineux ou de matériaux prothétiques, la multi résistance aux antibiotiques. *S. Epidermidis* est l'espèce la plus fréquemment isolée en milieu hospitalier (**Cuny et al., 2010**).

II.3.3.3. Pseudomonas

P. aeruginosa est une espèce bactérienne ubiquitaire, comme toutes les espèces du genre *Pseudomonas* ou apparenté. Ils sont des bacilles fins à Gram négatif, non capsulés, mobiles. Au contraste de phase le déplacement des bacilles s'effectue plutôt en ligne droite. Ces bactéries ont des exigences nutritives peu importantes et sont capables de survivre dans l'environnement (eaux, surface, air, aliments) et particulièrement en milieu humide.

En milieu hospitalier *P. aeruginosa* peut être rencontré dans l'environnement proche du malade. Cette bactérie peut faire partie de la flore transitoire de l'homme : flore digestive, cutanée, pharyngée ; il est montré que le portage augmente avec la durée d'hospitalisation (**Clave, 2011**).

III. Présentation du *Rubia tinctorum* L.

III.1. Généralité

C'est une plante, aux fleurs vert jaune, dont le rhizome fournit un colorant rouge. Elle est remplacée aujourd'hui par l'alizarine de synthèse. C'est l'une des plus anciennes plantes tinctoriales. La racine fournit un rouge orangé qui peut tirer sur un rouge franc avec l'utilisation de divers mordants ou vers le rouge brique si le bain est en ébullition (**Goodarzian et Ekrami., 2010**) (**Figure 06**).



Figure 06 : *Rubia tinctorum* L. (Kohler, 1897).

III.2.

Historique

Depuis environ quatre mille ans, les racines pulvérisées de la garance cultivée (*Rubia tinctorum* L.) sont utilisées en Asie, en Afrique du nord et en Europe comme teinture rouge. L'habitat naturel d'origine de la garance s'étendait de l'Iran à la Méditerranée et les racines de la garance étaient récoltées, transformées et utilisées bien avant que la plante ne soit systématiquement cultivée (Potts, 2022).

Dans ce but, Colbert avait promulgué une instruction sur la culture et l'emploi de la garance. Un édit royal exonérait de l'impôt toute personne qui la cultiverait dans les anciens marais asséchés. En 1754, Jean althen commença des essais de culture à Saint-Chamond, puis les renouvela à partir de 1763 avec plus de réussite dans le Comtat avec l'appui du marquis de Caumont, premier consul d'Avignon. Il n'y eut cependant aucun essor significatif à cause des importations du Levant. Mais les guerres de la Révolution ayant entravé le commerce, les cultivateurs se lancèrent dans cette culture qui se développa pour atteindre son maximum vers 1860. Au XVIIIe siècle, le Vaucluse devient alors le principal producteur de garance (la moitié de la production mondiale).

Au XIXe siècle, la demande en Inde et en Russie était grande, ce qui a motivé des investissements importants en espèces. Là où garance tient une place particulière car elle est la principale source de « vrai rouge » (Sophie et al., 2012), il a été utilisé pour teindre les beaux tissus de couleur où la couleur rouge était souvent obtenue par aluminium (aluminium) qui se forme avec des colorants complexes qui collent à la fibre ou dépôts et sédiments Au fond de la salle de bain, ces sédiments offrent des qualités esthétiques et fournit également un colorant de l'espace comme une caractéristique de solubilité et la capacité d'utilisée comme colorant organique (Caniparius, 1718).

III.3. Classification botanique

Selon **Bonnier et Layens** en **1894** la plante *Rubia tinctorum* L. (**Figure 07**) est classée comme suit :

Tableau 02: Classification du *Rubia Tinctorum* L.

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Astérides
Ordre	Rubiales
Famille	Rubiaceés
Genre	<i>Rubia</i>
Espèce	<i>Rubia tinctorum</i> Linné
Nom binominal	<i>Rubia tinctorum</i> L.



Figure 07 : *Rubia tinctorum* L. (**Bonnier et Layens., 1894**)

III.4. Nomenclature

- **Noms communs :** Garance des teinturiers, garance, rouge des teinturiers.
- **Nom anglais :** Dyer's madder.
- **Nom allemand :** Färberröte, krapp.
- **Nom espagnol :** Granza, *Rubia* de teintes.
- **Nom italien :** Robbia salvatica.
- **Nom chinois :** Ba Ji Tian.
- **Nom arabe :** El foua, الفوة. (**Bonnier et Layens., 1894**)

III.5. Description botanique

Les différentes espèces de garance (genre *Rubia*) comprend plus de 10 000 espèces et 637 genres. Elle se compose d'arbres, d'arbustes, de lianes et de plantes herbacées répandues dans les régions tempérées, tropicales et subtropicales. (**Mongrand, 2005 ; Derksen, 2001**).

Les petites fleurs vertes jaunâtre sont en cymes terminales ou axillaires lâches, feuillées, à long pédoncule. La marge du calice est indistincte, de 4 à 5 sections et a une pointe incurvée vers l'intérieur. Il y a cinq étamines et un ovaire infère. Le fruit est une drupe lisse, glabre et noire de la taille d'un pois contenant deux graines. La plante vivace

atteint une hauteur de 60 à 100 cm. Le rhizome épais comme un crayon rampe largement sous terre. La tige est quadrangulaire avec des aiguillons tournant vers l'arrière sur les bords. Les tiges sont parfois si fines qu'elles sont plus descendantes que dressées. Les feuilles sont en verticilles, par quatre en bas, par six en haut. Ils sont oblongs à lancéolés avec une côte et réticulés en saillie en dessous (Medical Economics Co, 2000).

Les racines grossissent et s'allongent d'année en année. La matière tinctoriale est présente dans ces racines. Le producteur du pigment colorant doit donc décider de l'année où il récolte cette racine après deux, trois ou quatre ans en fonction du climat et du sol (Wiethold, 2008) (Figure 08).



Figure 08: Racines de *Rubia tinctorum* L. (Odounga, 2011).

III.6. Constituants chimiques

Les composés trouvés dans *Rubia tinctorum* L. comprennent la purpurine, la mollugine), anthraquinone ; rubiadine, lucidine, alizarine 3-glucoside, acide rubérythrique (alizarine primeveroside ; alizarine glycoside), quinizarine et aspérulosideiridoïde (Schneider et al., 1979; Kawasaki et al., 1992; Derksen et coll., 1998 ; El-Emary et Backheet, 1998 ; Marczylo et al., 2000). Un certain nombre de composés ont été caractérisés à partir des racines de *R. tinctorum* L. (la source de la couleur commerciale de la garance) par diverses méthodes analytiques. Parmi ces composés figurent l'alizarine, l'acide rubérythrique, la purpurine, la lucidine, la rubiadine, la mollugine, la tectoquinone ; le nordamnacanthal ; et les glucosides et/ou les primvérosides de ces composés (Kawasaki et al.,1992; Westendorf et al., 1998 ; MedicalEconomics Co., 2000). La majorité des anthraquinones présentes dans la plante

elle-même ou dans des extraits de plantes sont des glycosides (Blömek et al., 1992 ; Westendorf et al., 1998). (Figure 09).

III.7. Utilisations

III.7.1. Dans le domaine de la teinture

Les colorants sont source très couramment utilisée en Europe, il existe plus d'une vingtaine (Cardon, 2014). La garance a été utilisée à travers les siècles dans l'art des teinturiers, ce dont témoignent les sources historiques (Chenciner, 2000). Cette opération est basée sur l'utilisation d'un sel métallique appelé "mordant", augmentant l'affinité des fibres textiles pour les colorants et donc la capacité des matériaux fibreux à fixer les

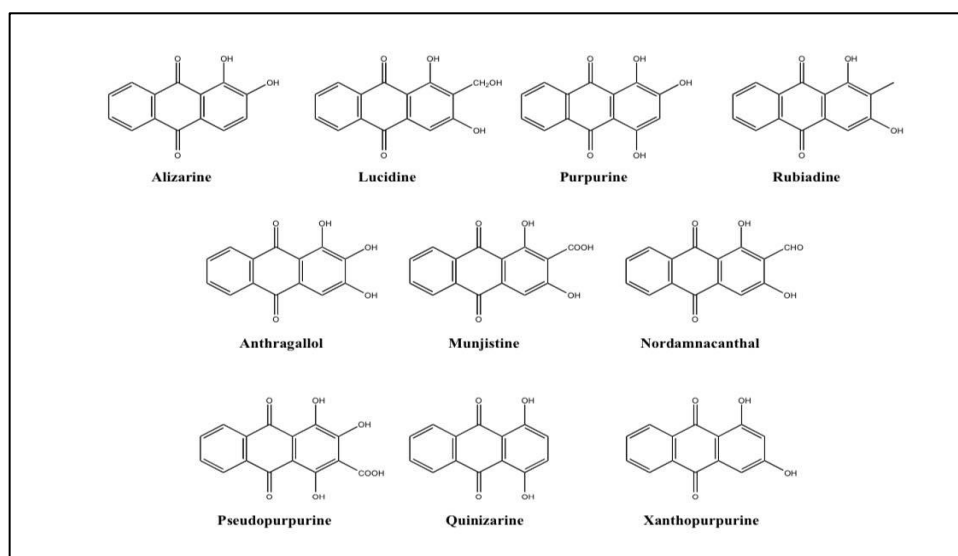


Figure 09: Structures des principales anthraquinones aglycones rencontrées dans les racines de garance (Derksen et al., 1998).

molécules colorantes. Enfin, on peut noter que des protocoles de teinture assistés par ultrasons ont été mis en place principalement dans le but de réduire le temps de traitement ainsi que d'augmenter la qualité de la teinture (Sivakurma et Rao., 2003 ; Kamel et al., 2007).

Les colorants anthraquinones de la garance, comme de nombreuses molécules colorantes extraites à partir de matières végétales et animales, ont fait l'objet d'un emploi extrêmement ancien en teinture notamment pour le coton, la laine et la soie (Wouters et Rosario-Chirinos, 1992 ; Trojanowicz et al., 2004 ; Surowiec et al., 2006 ; Clementi et al., 2007), ainsi qu'en peinture. Néanmoins, l'utilisation de tels matériaux nécessitait des savoir-faire particuliers, permettant l'obtention d'une couleur rouge, stable et durable dans le temps (Miliani et al., 1998 ; Cuoco et al., 2008).

III.7.2. Dans le domaine médical

Durant ces dernières années, les recherches scientifiques se sont orientées vers les composés des plantes médicinales destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique dans le but d'avoir de nouveaux composés pourvus de propriétés inédites. 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont appliqués selon leur usage traditionnel. Ce qui explique qu'aujourd'hui la phytothérapie dite naturelle semble gagner du terrain en évoluant en parallèle avec la médecine moderne (**Hadria, 2017**).

Les extraits de racine de garance ont été utilisés dans le traitement des calculs vésicaux et rénaux, en particulier ceux de l'oxalate de calcium et du phosphate de calcium dans les voies urinaires.

L'alizarine peut être utilisée pour colorer les dépôts de calcium dans les tissus mous. Les dermatologues l'utilisent pour dépister le calcium cutané dans des troubles tels que le *pseudoma elasticum* et la calcification cutanée. Il colore également sans danger les tissus vivants. Elle est également utilisée pour le diagnostic en tant que marqueur pour l'étude de la croissance osseuse. L'alizarine et le calcium radioactif se déposent de la même manière dans les os en développement, y compris les os du crâne. De même, le calcium radioactif et l'alizarine se déposent dans la croissance osseuse (**Derksen, 1970**).

En médecine, la garance est utilisée comme un traitement des affections rénales et vésicales car ses composants présentent diverses activités pharmacologiques et biologiques, notamment anticancéreuses (**Holley et al., 1974**).

III.7.3. Dans le domaine agroalimentaire

L'extrait de racine de garance a été utilisé comme colorant alimentaire naturel pour les aliments, par exemple, dans la fabrication de confiseries, de poisson bouilli et de boissons non alcoolisées, en particulier au Japon en raison de ses couleurs, qui ont d'excellentes propriétés de résistance à la chaleur et à la lumière (**Lodhi et al., 1994 ; Ino et al., 1995**). L'alizarine est aussi utilisée car elle vire au violet après réaction avec les protéines alimentaires (**Kawasaki et al., 1992**).

Les colorants alimentaires naturels sont utilisés à la place des colorants artificiels, en raison de la préférence des consommateurs pour les produits naturels (**Krizsan et al., 1996**).

IV. Présentation du *Teucrium polium* L.

IV.1. Généralité

Teucrium polium L. « famille des Lamiacées » est une herbe à fleurs à croissance sauvage (**Figure 10**), que l'on trouve en abondance dans diverses régions telles que l'Europe, l'Afrique du nord et l'Asie du Sud-Ouest (**Bahramikia et al., 2012 ; Rafieian-Kopaie., 2013 ; Nasri et al., 2013**). Il appartient à la famille des Lamiacées, une importante famille de plantes dicotylédones qui compte 258 genres et 6970 espèces. Elle comporte de nombreuses plantes exploitées pour leurs essences ou cultivées pour l'ornementation et de nombreuses espèces sont aussi bien utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne (**Judd et al., 2002**).

En Algérie, il n'existe pas moins de douze sous-espèces de *Teucrium polium* L., parmi lesquelles la sous-espèce *polium* est la plus répandue. Signalons que dans l'ouest algérien, les fleurs de sous espèce *polium* présentent la particularité d'avoir une variabilité chromatique corrélée à une fréquence de présence : on distingue des spécimens à fleurs mauves très répandus et des spécimens à fleurs blanches beaucoup plus localisés (**Quézel et Santa., 1963**).



Figure 10 : *Teucrium polium* L. (Boulard, 2003)

IV.2. Historique

Le nom scientifique du genre, *Teucrium*, est dérivé du grec : Teucros, nom d'un Prince de Troie, qui a découvert les propriétés curatives de cette plante. Nom français Germandrée est une variante du latin médiéval calamendria, possible croisement de alamentum, un type de menthe, avec camedria, romanisé du grec chamaedrys signifiant littéralement (chêne moulu) (**couplan, 2012**).

IV.3. Classification botanique

Selon Quezel et santa en (1963) la plante *T. polium* L. est classée comme suit :

Tableau 03 : Classification botanique du *Teucrium polium* L.

Règne	Végétal
Embranchements	Phanérogames
Sous-embranchements	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales Bromhead
Super-ordre	Asteranae Takht
Famille	Lamiaceae
Sous-Famille	Ajugoideae Luer. & S. Wats.
Genre	<i>Teucrium</i> L.
Espèce	<i>Teucrium polium</i> L.

IV.4. Nomenclature

Différents noms donnés au *Teucrium polium* L. à travers le monde (**Autore et al. 1984 ; Rasekh et al. 2005**)

- **Nom Local** : Djaada ; jaad ; Djaida ; Katabet ledjrah.
- **Nom arabe** : Khiyata.
- **Nom Amazigh**: Goutiba; Felfla-Timzourin; Haida; Timtchich.
- **Nom Latin**: *Teucrium polium* L, synonymes: *Teucrium tomentosum*, *Teucrium gnaphalodes*, *Teucrium chamaedrys*, et *teucrium capitatum*.
- **Angleterre** : mountain germander.
- **France** : Pouliot de Montagne ; germandrée tomenteuse ; germandrée blanc-grisâtre.
- **Maroc** : Jaaida.
- **Yemen** : Elgaslam et Elhelal.
- **Liban** : Hachichet elrih.

IV.5. Description botanique

C'est une plante herbacée vivace à odeur poivrée par frottement, recouverte de poils ligneux qui lui confère une couleur gris bleuté (Thoppil et al., 2001). Il atteint une longueur de 10 à 30 cm, avec des tiges ligneuses ascendantes blanches ; Feuilles sessiles, linéaires-lancéolées ou oblongues, cunéiformes et entières à la base, globules au-dessus, sillonnées sur les bords, blanchâtre-tomenteux de chaque côté, parties supérieures détachées des verticilles dans les verticilles latéraux (Boulard, 2003 ; Naghibi et al., 2005) ; Les fleurs sont blanches ou jaunes en grappes denses au sommet des branches (Ozenda, 2004). Sa particularité est qu'il ne possède qu'une seule lèvre, la lèvre inférieure, qui réunit les cinq pétales fusionnés (Lemoine, 2005)., rarement purpurines, à têtes blanches, assez grosses, sphériques ou ovales, grumeleuses ou en grappes, tendues, brièvement tomenteuses ; calice court, à dents courtes et non inclinées, subaigu, obtus supérieur ; Corolle aux lobes supérieurs pubescents (Tison et al., 2014) (Figure 11).



Figure 11 : Les Fleurs et les feuilles des *Teucrium polium* L. (Boulard, 2003)

IV.5. Constituants chimiques

Plusieurs recherches et études basées sur l'analyse des extraits de *T. polium* L. ont montré la présence des principaux composés purifiés à partir de *T. polium* L. étaient les polyphénols et les flavonoïdes, les iridoïdes, les huiles essentielles, en particulier, les diterpénoïdes et les monoterpènes, des glycosides phenylethanoides notamment le poliumoside B, et des esters d'acides gras, ainsi que des alcaloïdes. (Bendjabeur et al., 2018; Mahmoudi et Nosratpour, 2013; Boumerfeg et al., 2012; De Marino et al., 2012; Sharififar et al., 2009; Hachicha et al., 2009 ; Boulila et al., 2008; Parsaee et Shafiee-Nick, 2006; Ramnathan et al., 2005; Proestos et al., 2004; Bruno et al., 2002 ; Shakhanbeh et Atrouce., 2000).

IV.6. Utilisation en médecine traditionnelle

T. polium L. est utilisé pour traiter de nombreuses maladies telles que les douleurs abdominales, l'indigestion, le rhume et les maladies urogènes (**Abdollahi et al., 2003**). Il est également utilisé pour divers types d'états pathologiques, tels que les troubles gastro-intestinaux, l'inflammation, le diabète et les rhumatismes (**Abdollahi et al., 2003 ; Tariq et al., 1989**). Il est considéré comme un agent antibactérien, antiulcéreux, hypotenseur, antispasmodique, anorexique et antipyrétique (**Autore et al., 1984 ; Gharaibeh et al., 1989 ; Suleiman et al., 1988**). Récemment, les effets cytotoxiques, anticancéreux et antimutagènes de l'éthanolique et d'extrait aqueux de *T. polium* L. sur diverses lignées cellulaires ont été étudiés (**Khader et al., 2007, 2010 ; Nematollahi-Mahani et al., 2007**).

L'extrait aqueux des parties aériennes séchées de *T. polium* L. est utilisé par de nombreux patients diabétiques de type 2 notamment dans le sud de l'Iran comme médicament antidiabétique (**Esmaeili et Yazdanparast., 2004**).

Chapitre II

Matériel et méthodes

I. Matériels et Méthodes

Notre travail a porté sur le screening phytochimique des deux plantes médicinales : *Rubia tinctorum* L. et *Teucrium polium* L. ainsi que le dosage des polyphénols totaux et l'évaluation de leurs activités antibactérienne, antioxydante et anticoagulant.

Cette étude a été réalisée au sein des laboratoires pédagogiques du département des Sciences de la nature et de la vie du Centre Universitaire Abd el Hafid Boussouf – Mila, ainsi que laboratoire d'analyse médicale du Dr Mirouh à Ferdjioua.

I.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est acheté d'un herboriste à Sétif. Il est constitué des racines de la garance des teinturiers (*Rubia tinctorum* L.) (**Figure 12**) et des feuilles de germandrée tomenteuse (*Teucrium polium* L.) (**Figure 13**).



Figure 12 : Racines sèches de *Rubia tinctorum* L.



Figure 13: Les feuilles sèche de *Teucrium polium* L.

I.1.1. Matériel

L'ensemble de matériel utilisé pour réaliser cette étude est résumé dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Liste des matériels utilisés pendant la manipulation.

Verreries et petits matériels	Béchers, ballon, fioles, éprouvettes graduées, entonnoirs, boîte de pétrie, pipette pasteur, pipettes graduées, erlenmeyers, verre de montre, tubes à essais, papier filtre, couteau, spatules, anse, pince, portoir.
Appareils	Balance de précision 0.001g, Bain-marie, étuve, pH-mètre, spectrophotomètre visible, rota vapeur, bec benzène, vortex, autoclave, moulin électrique.
Réactifs et produits chimiques	Eau distillée, Méthanol ; Ethanol ; Chloroforme ; Ether de pétrole ; Acide gallique ; Acide ascorbique

	; Folin-Ciocaltau ; Iodure de potassium ; Iode ; acide chlorhydrique (HCl) ; Hydroxyde d'ammonium ; l'éther diéthylique ; chlorure ferrique (FeCl ₃) ; liqueur de Fehling ; KOH ; NaOH ; NH ₄ OH ; H ₂ SO ₄ ; NH ₄ OH ; anhydride acétique ; carbonate de sodium ; DPPH.
--	--

I.2. Méthodes

I.2.1. Préparation de matériel végétal

a. Broyage et tamisage

Les parties d'intérêts ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine ayant une couleur rouge pour les racines de *R. tinctorum* L. (**Figure 14**) et une couleur verdâtre pour les feuilles de *T. polium* L. (**Figure 15**), nous conservons la poudre dans des flacons en verre à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'utilisation.



Figure 14 : Broyage et tamisage du *Rubia tinctorum* L. (Photo personnelle ,2023).



Figure 15 : Broyage et tamisage du *Teucrium polium* L. (Photo personnelle ,2023).

b. La macération

On a utilisé la macération comme une méthode d'extraction, celle-ci se base sur le prolongement de la matière végétale dans un solvant à une température ambiante, ainsi que le temps requis par l'expérience. Cette étape vise à extraire le maximum des molécules chimiques existante dans la plante ; pour cela on utilise des solvants organiques qui accélèrent l'extraction et augmentent le rendement.

1. Préparation de l'extrait éthanolique

Pour la préparation 50g de broya a été macéré dans 250ml d'Ethanol sous agitation mécanique à température ambiante pendant 3 jours. Après 3 jours ; le produit obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman, après ça ; le filtrat obtenu est conservé dans un flacon en verre fermé hermétiquement et stocké à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation (Figure 16).

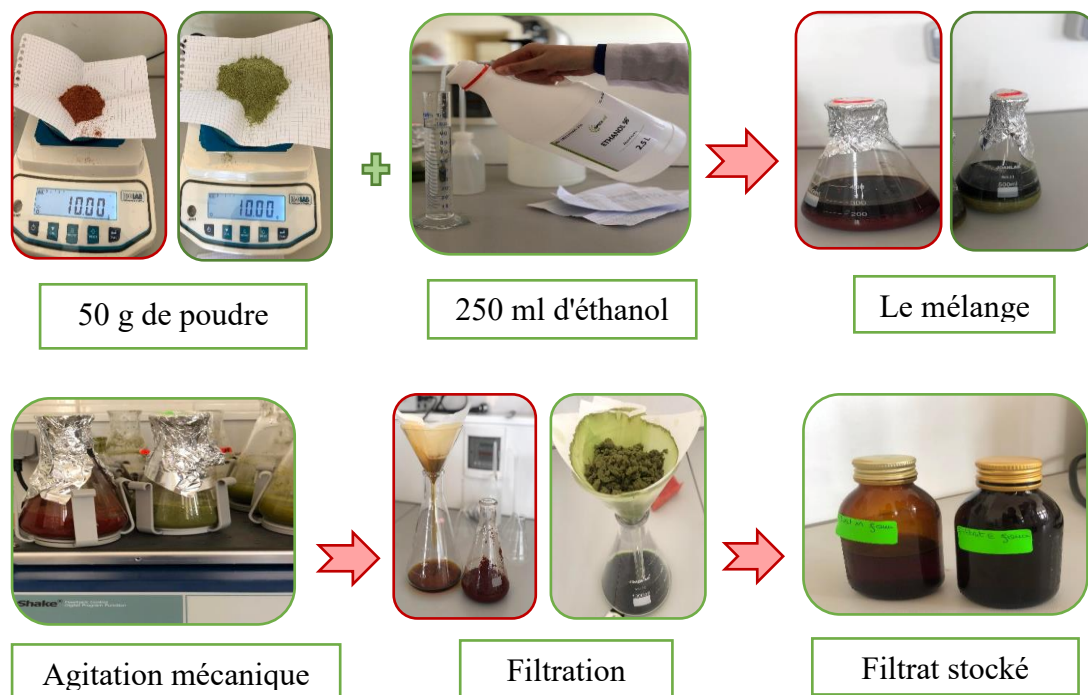


Figure 16: Etape de la macération éthanolique (photo personnelle,2023)

2. Préparation de l'extrait méthanolique

Pour préparer l'extrait méthanolique 10 g de la poudre dans un erlenmeyer et ajouter un mélange de solvant méthanol et eau distillée (70/30) (V/V), toujours sous agitation mécanique à température ambiante pendant 3 jours, le produit obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre. L'extrait obtenu a été évaporé à l'aide d'un rotavap qui permet d'éliminer le solvant sous vide, l'extrait est récupéré dans des boîtes de pétri en verre, puis conserver au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation (Bougandoura et Bendimerad, 2012) (Figure 17).

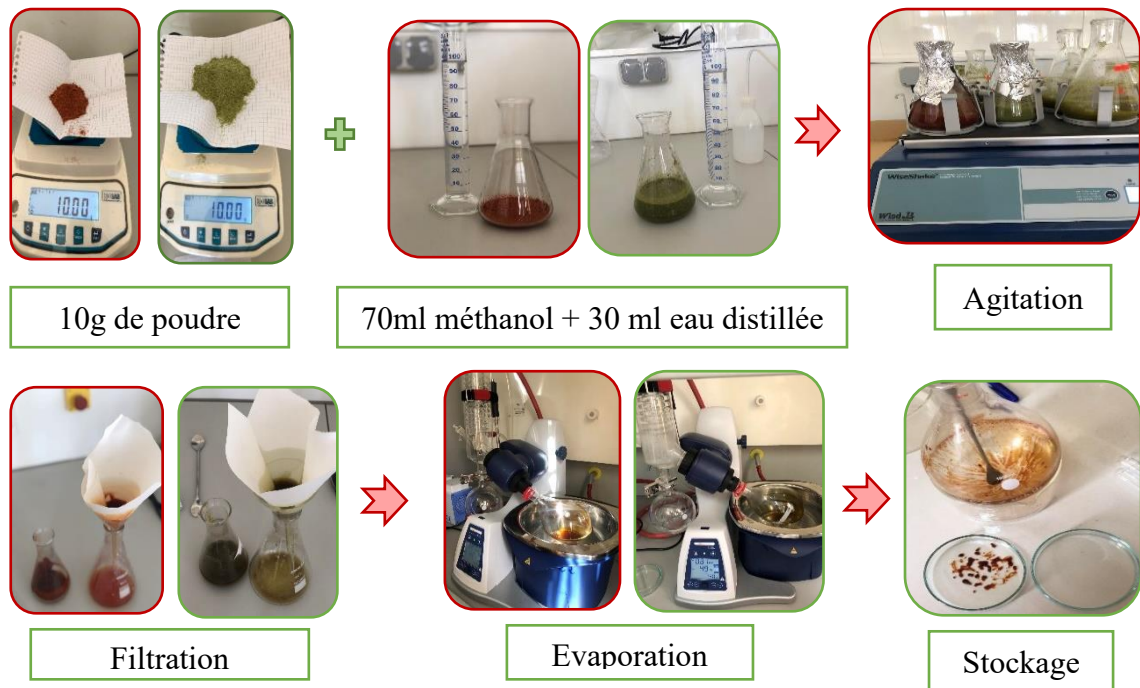


Figure 17 : Etape de préparations d'extrait Méthanolique (photo personnelle,2023)

3. Préparation de l'extrait aqueux

Pour préparer un extrait aqueux, une quantité de 10g de poudre végétale a été macérer dans 100ml d'eau distillé sous agitation mécanique pendant une nuit à température ambiante. La solution obtenue est filtrée à l'aide d'un papier filtre de type Whatman. Le filtrat est ensuite évaporé dans une étuve à une température de 40 °C pour éliminer l'eau (**Figure 18**).



Figure 18 : préparations de l'extrait aqueux (photo personnelle,2023)

4. Préparation de l'extrait Chloroformique

1g de la poudre végétale a été mélangée avec 10 ml de chloroforme. Le mélange a été chauffé prudemment au bain-marie pendant 3 min, après filtration à chaud, le volume est ensuite ajusté à 10 ml.

I.2.2. Analyse qualitative

I.2.2.1. Caractérisation des métabolites secondaires (Screening phytochimique)

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives qui permettent d'identifier les différents groupes de substances chimiques présentes dans les organes végétaux. Ce sont des réactions physico-chimiques qui déterminent la présence de substances chimiques. Il existe de nombreux groupes de composés phytochimiques, mais le groupe principal est celui des polyphénols totaux, notamment les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, les stérols, les terpènes...etc. (Lendvaiet *al.*, 2002).

Le screening phytochimique des phases aqueuses et organiques par des réactions conventionnelles utilisant des réactifs de caractérisation conventionnels. (Bruneton, 2009).

❖ Identification des groupes chimique à partir de l'extrait éthanolique

a. Détection des flavonoïdes

On met 5 ml de l'extrait d'éthanol dans un tube à essai, on ajoute quelques gouttes de HCl, puis quelques copeaux de magnésium (Mg). L'apparition d'une couleur rose, rouge au jaune prouve la présence de flavonoïdes (Trease et Evans., 1987).

b. Détection des anthocyanes

Le test consiste à ajouter à 5 ml d'extrait, 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) en milieu basique puis 5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) en milieu acides. La présence d'anthocyanes indique une coloration rouge en milieu acide et bleue violacée en milieu basique (Mibindzou, 2004).

c. Détection des coumarines

Immerger 10 g de poudre dans 20 ml d'éthanol pendant 2 heures. Après macération et filtration, 2,5 ml de KOH (10 %) et 2,5 ml de HCl (10 %) ont été ajoutés à 2,5 ml de filtrat. Un précipité rouge brunâtre indique la présence de coumarine (Trease et Evans., 1987).

d. Détection des alcaloïdes

Test de précipitation du réactif de Wagner. On met 1 ml de l'extrait dans un tube à essai, puis on ajoute quelques gouttes de réactif de Wagner. La présence d'un précipité rouge orangé ou brun rougeâtre indique un test positif (Vijay et *al.*, 2013).

e. Détection des stérols

Introduire dans un bécher 2,5 ml de l'extrait à analyser avec 2,5 ml de chloroforme, ensuite 2,5 ml d'anhydride acétique, ajouter 0,5 ml de l'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré au fond de bécher à l'aide d'une pipette et ne pas agiter.

La formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides et la coloration verte ou violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et de triterpènes (**Mouellet, 2005**).

f. Détection des glycosides

On mélange 1 ml de l'extrait avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling, on chauffe à $70^\circ C$ dans un bain marie, un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Trease et Evans., 1987**).

❖ Identification des groupes chimique à partir de l'extrait aqueux**a. Détection des tanins**

Dans un tube à essai, on traite 1ml d'extrait avec 2 ml d'eau distillée et on ajoute 3 gouttes de la solution de chlorure ferrique $FeCl_3$ (1%). La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre (vert-brun) Tanins catéchiques ou bleu-noirâtre Tanins galliques. (**Trease et Evans., 1987; Douhou et al., 2003**).

b. Détection des stéroïdes

On introduit 5 ml d'anhydride acétique et 5 ml de l'extrait dans un bécher, qui sont repris dans un tube à essai dans lequel on ajout 0,5 ml de H_2SO_4 concentré. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert (**Harborne, 1998**).

c. Détection des saponosides

Immerger 2g de poudre de notre plante dans 80ml d'eau distillée pendant quelques minutes, puis on filtre et on agite. L'apparition de mousse persistante dans le milieu prouve la présence de saponines (**Kalla, 2012**).

❖ Identification des groupes chimique à partir de l'extrait chloroformique**a. Détection des anthraquinones libres**

Dans un tube à essai, on introduit 1 ml de la solution extractive avec 1 ml d'Hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) puis on agite. Une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres (**Diallo, 2000**).

b. Détection des quinones

Dans un bécher en ajoute 2g de la poudre avec 2 ml de HCl+ 20 ml de chloroforme pendant 3 heures. Le filtrat a été agité avec 5 ml d'ammoniaque. Une coloration rouge indique la présence des quinones (Afaq et Malik., 2005).

❖ Identification des groupes chimique à partir de l'extrait Méthanolique

a. Détection des terpénoïdes

Dans un tube à essai, 2,5 ml d'extrait de méthanol dans 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés. La formation d'un anneau brun rougeâtre en interphase indique la présence de terpénoïdes (Trease et Evans, 1987).

I.2.3. Analyse quantitative

I.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT) par colorimétrie (méthode de Folin-Ciocalteu)

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé au niveau des laboratoires de biologie du Centre Universitaire Abd el Hafid Boussouf (Mila).

L'analyse quantitative des polyphénols est réalisée par le dosage spectrophotométrie selon la méthode du Folin-Ciocalteu (Skerget et al., 2005), par l'extrait méthanolique des *T. polium* L. et *R. tinctorum* L.

a) Principe

La quantification des polyphénols est réalisée par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu : ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_{23} . La coloration bleue produite, présente un maximum d'absorption aux environ de 765 nm dont l'intensité est proportionnelle aux taux des composés phénoliques présent dans l'échantillon. (Youla et Latrous., 2017) Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg E G / mg d'extrait) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée d'acide gallique.

b) Mode opératoire

Le total phénolique dans les feuilles et les racines contenu des extraits méthanoliques a été déterminé par spectrométrie utilisant le réactif "Folin-Ciocalteu".

Un volume de 200 μ l de l'extrait méthanolique à (c=1mg/ml) a été mélangé avec 1 ml de Folin-Ciocalteu à (10%) avec de l'eau et 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium à 7,5% (Na₂CO₃) dans un tube à essai. Après 2 heures d'agitation, l'absorbance a été mesurée à $\lambda=760$ nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible (**Haddouchi et al., 2014**).

L'acide gallique a été utilisé comme standard pour courbe d'étalonnage. Le contenu phénolique total était exprimé en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de poids sec (mg GAE / g PS) (**Figure 20**).

C. Préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique

On prépare la solution mère de l'acide gallique (2mg/ml), différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées dans le Méthanol comme le montre la figure suivante :

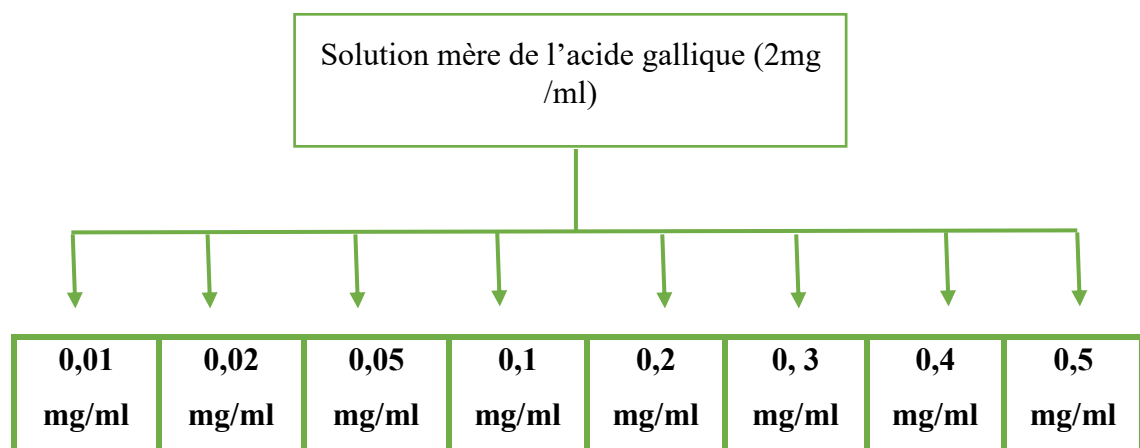


Figure 19 : Dilution de la solution mère de l'acide gallique

Un volume de 200 μ l de La solution de l'acide gallique à (c=2mg/ml) a été mélangé avec 1 ml de Folin-Ciocalteu réactif à (10%) avec de l'eau et 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium à 7,5% (Na₂CO₃) dans un tube à essai. Après agitation et 2 heures plus tard, l'absorbance a été mesurée à $\lambda=760$ nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible (**Haddouchi et al., 2014**).

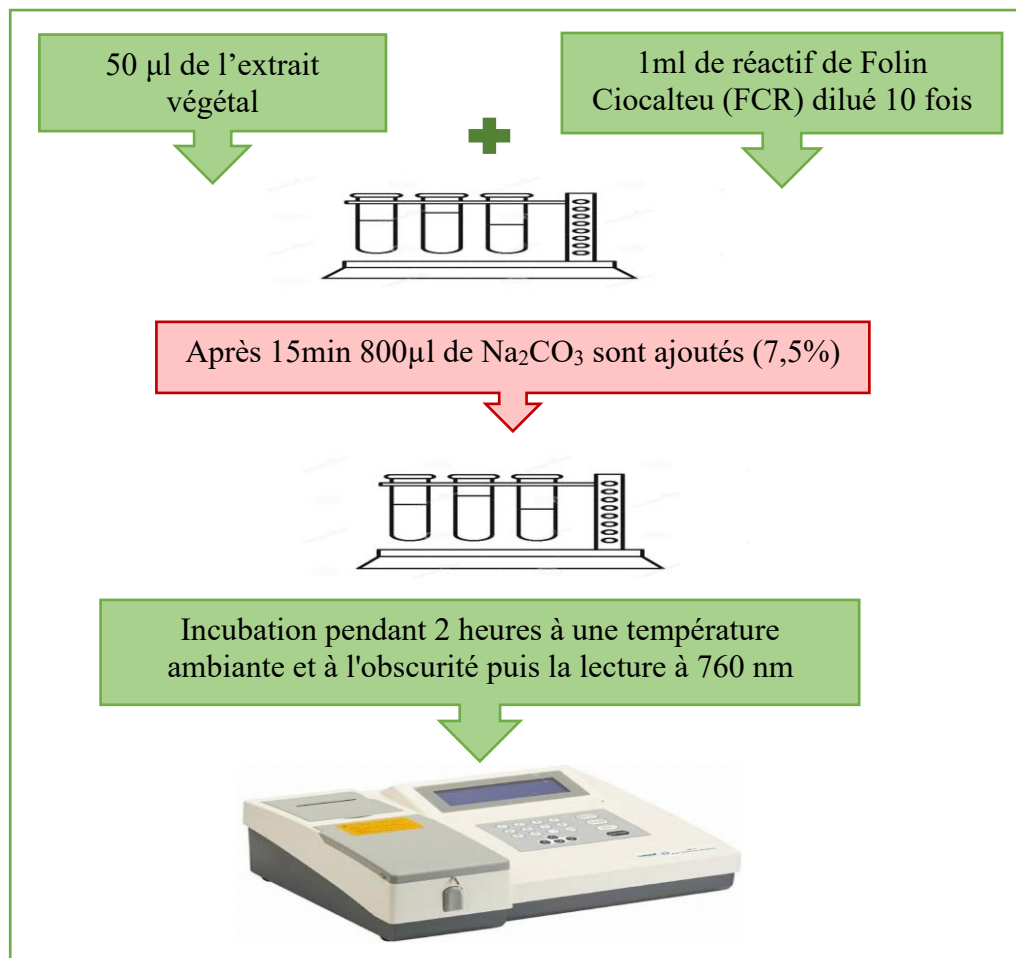


Figure 20: Protocole de dosage des polyphénols totaux.

I.2.4. Activités biologiques :

I.2.4.1. Activité antioxydante (détermination du pouvoir antioxydant)

a) Principe :

Le pouvoir anti-radicalaire ou l'effet « SCA venger » sur le radical 2,2-diphényl picrylhydrazyl (DPPH) est une méthode qui est initialement utilisée pour déterminer les donneurs de protons dans les composées phénoliques.

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi l'apparition d'une coloration jaune pâle.

L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons.

AH représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphenyle picryl hydrazine (jaune) (Lemjallad, 2015).

La figure suivante montre le mécanisme de réduction du radical DPPH :

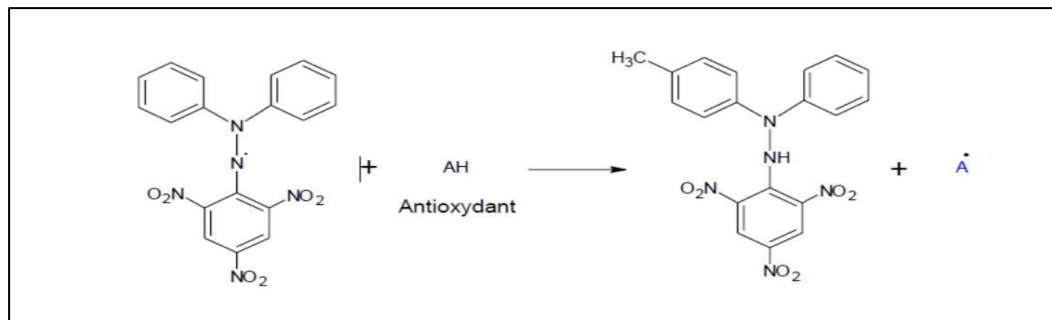


Figure 21 : Mécanisme de réduction du radical DPPH par un antioxydant AH (Lemjallad, 2015).

b) Mode opératoire :

On prépare la solution DPPH (C=0,025g /l) dans le méthanol (1,2mg dans 50ml de méthanol).

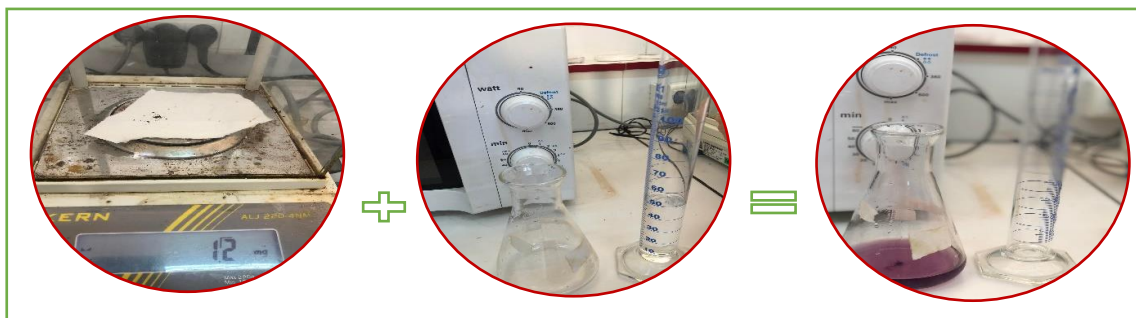


Figure 22 : Préparation de la solution DPPH (photo personnelle, 2023)

On prépare la solution mère de l'extrait, différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées dans le méthanol comme le montre **la figure 23** suivante :

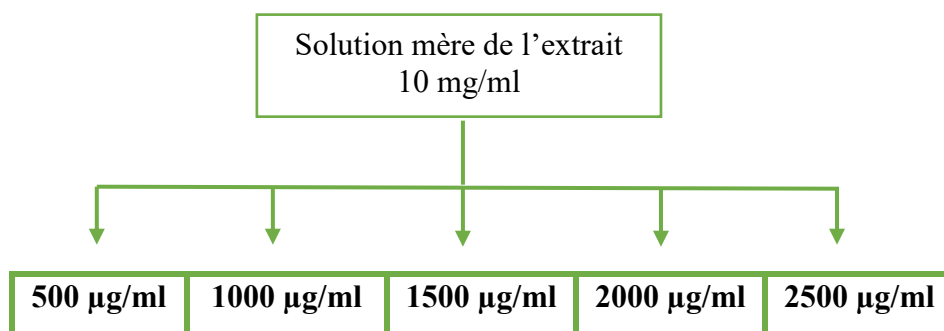


Figure 23: Dilution de la solution mère de l'extrait

On prend 50 µl de l'extrait de chaque concentration puis on ajoute 1950 µl de solution DPPH et chaque échantillon avec son blanc spécifique, dans le blanc on remplace le DPPH par le méthanol (**Haddouchi et al., 2014**).

L'échantillon : 50µl de l'extrait +1950µl de DPPH.

Le blanc : 50µl de l'extrait +1950µl de Méthanol.

Contrôle : 50 µl de Méthanol +1950µl de DPPH.

Les mélanges ont été conservés pendant 1heur dans le sombre à température ambiante. L'absorbance des échantillons est mesurée à une longueur d'onde $\lambda=517$ nm avec un Spectrophotomètre.

L'activité anti-radical est estimée selon l'équation suivante :

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

A.A.% : l'Activité anti-radical %

Abs (contrôle) : l'absorbance contrôle

Abs (échantillon) : l'absorbance de l'échantillon

I.2.4.2. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique :

a. Mode opératoire :

On pèse 2 mg de l'acide ascorbique qui sera diluée dans 1ml du méthanol (solution mère). On prépare la solution mère de l'acide ascorbique, différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées dans le méthanol comme le montre la figure suivante

:

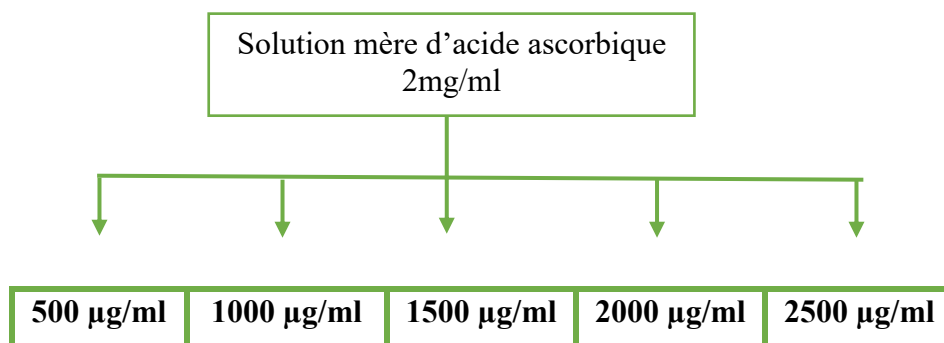


Figure 24 : Dilution de la solution mère de l'acide ascorbique.

On prend 50 μl de l'acide ascorbique de chaque concentration puis on ajoute 1950 μl de solution DPPH. Et chaque échantillon avec son blanc spécifique, dans le blanc on remplace le DPPH par le méthanol (**Haddouchi et al., 2014**).

L'échantillon : 50 μl de l'acide ascorbique +1950 μl de DPPH.

Le blanc : 50 μl de l'acide ascorbique+1950 μl de Méthanol.

Les mélanges ont été conservés pendant 1heur dans le sombre à la température ambiante, et les absorbances ont été mesurées à $\lambda=517$ nm.

NB :

- Tous les échantillons ont été analysés en trois fois, dont chaque échantillon à son blanc spécifique.
- Toutes les opérations ont été effectuées dans l'obscurité ou faible lumière.
- On a utilisé le vortex pour l'agitation des échantillons.

I.2.4.3. Etude de l'activité anticoagulante :

a. Evaluation de l'activité anticoagulante des extraits

L'activité anticoagulante a été étudiés *in vitro 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).

b. 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 (**Athukorala, et al., 2007**) (**Figure 25**).



Figure 25 : Etapes de préparation d'un pool plasmique (Photo personnelle, 2023)

c. 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, 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 Athukorala et ses collaborateurs., 2007. Différents volumes des extraits ont été préparés (5, 10,15 µl) et additionné à 50 µl du plasma standard, les mélanges sont ensuite incubés à 37°C durant 3 minutes. Après l'incubation, la coagulation a été déclenchée par l'addition de 50 µl de thromboplastine (Figure 26), on mesure le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot fibrineux. Les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en seconde (s) (Figure 28).

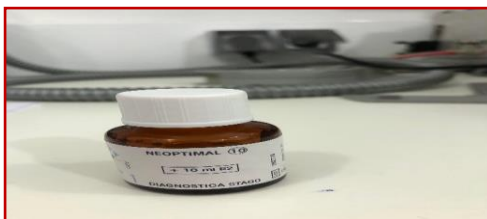


Figure 27 : Réactif de thromboplastine (TP) (Photo personnelle2023).



Figure 27 : coagulomètre (Photo personnelle2023).

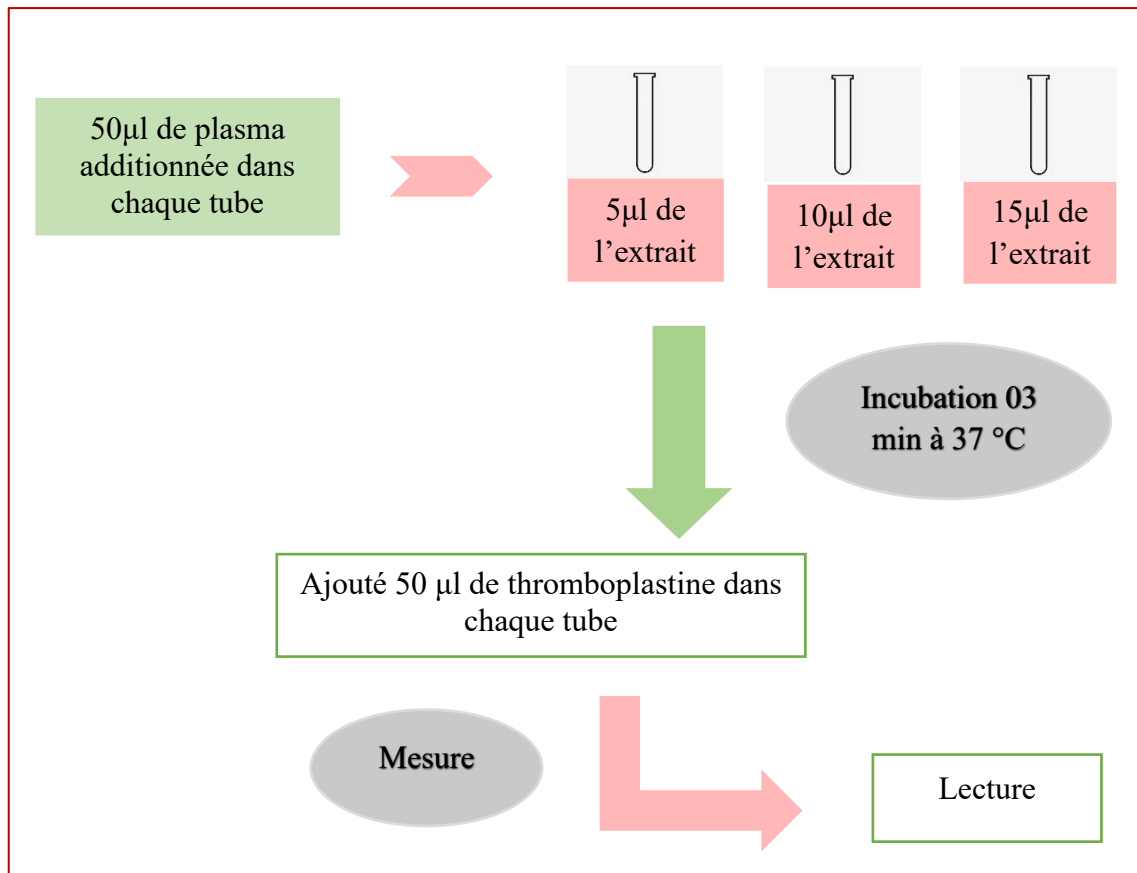


Figure 28 : Représentation schématique des étapes d'étude de l'activité anticoagulante (TQ)

d. 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 silice 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 (BI0-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 50 μ l du plasma avec différents volumes de nos extraits (5, 10, 15 μ l), puis on ajoute 50 μ l du réactif de céphaline (**Figure 30**), on laisse le mélange pendant 3 minutes, suivi d'une addition de 50 μ l de chlorure de calcium (CaCl_2) préchauffé pour une reclassification du plasma. On mesure le temps qui s'écoule jusqu'à la formation de caillot fibrineux, les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en second (s) (**Figure 31**).



Figure 30: coagulomètre (Photo personnelle,2023).



Figure 30 : Réactif de céphaline kaolin (BIO-CK) (Photo personnelle,2023).

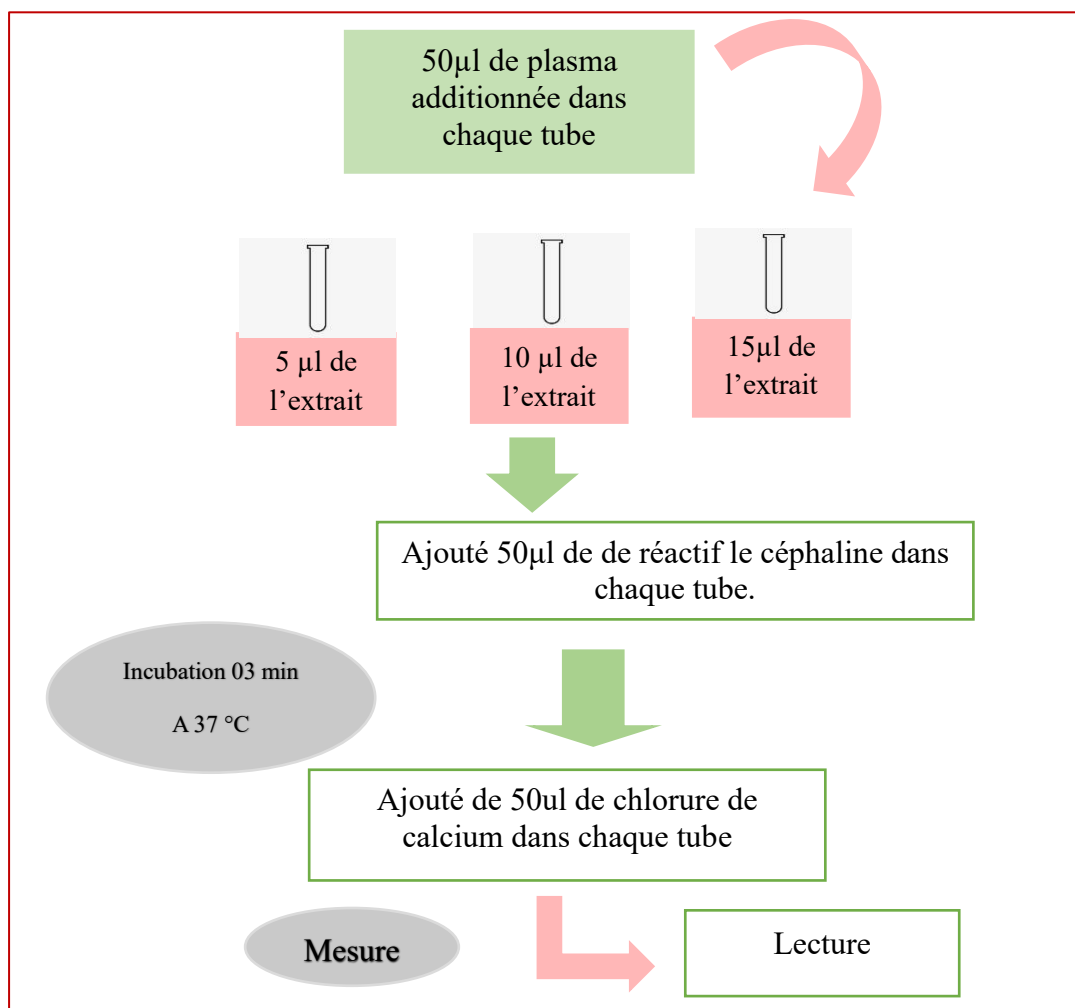


Figure 31 : Représentation schématique des étapes d'étude de l'activité

I.2.4.4. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne *In vitro* vis à-vis des différentes souches bactériennes (*Staphylocoque aureus* (6538ATCC), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)) 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.

a. Préparation des dilutions des extraits

Les extraits ont été repris avec le diméthyl sulfoxyde (DMSO), les dilutions des extraits sont réalisées à analyses selon les méthodes suivantes :

- ✓ Solution mère SM : 100mg d'extrait avec 1ml de DMSO [100%].
- ✓ T_{1/2} : 0,5ml d'extrait de SM avec 0.5ml de DMSO [50%].
- ✓ T_{1/4} : 0.5ml d'extrait de T_{1/2} avec 0.5ml de 1DMSO [25%].
- ✓ T_{1/8} : 0.5ml d'extrait de T_{1/4} avec 0.5ml de DMSO [12.5%].
- ✓ T_{1/16} : 0.5ml d'extrait de T_{1/4} avec 0.5ml de DMSO [6,25%].
- ✓ T_{1/32} : 0.5ml d'extrait de T_{1/4} avec 0.5ml de DMSO [3,13%].
- ✓ T_{1/64} : 0.5ml d'extrait de T_{1/4} avec 0.5ml de DMSO [1,6 %]. (Figure 32)



Figure 32: Différentes concentrations des extraits.

b. Préparation des disques d'aromatogramme

Les disques sont préparés à partir de papier d'wattman, avec un diamètre de 6mm. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation.

c. 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 (**Figure 33**).



Figure 33 : Préparation du milieu de culture.

d. 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 (**Figure 34**).



Figure 34: Préparation des suspensions

e. 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

gélifiée. 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.

Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C (**Figure 35**).



Figure 35 : Ensemencement des bactéries et dépôt des disques.

g. Incubation et Lecture

Après incubation 24 heures à 37°C dans l'étuve, Les résultats sont observés, en mesurant les diamètres d'inhibition (**Boudjouref, 2011**) (**Figure 36**).

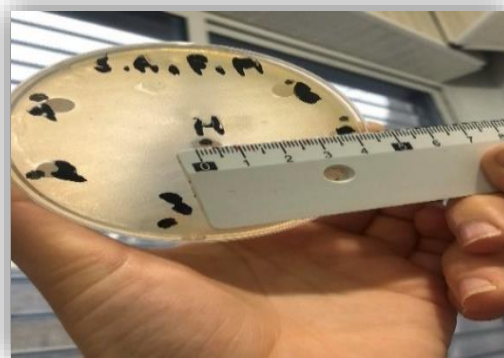


Figure 36 : Incubation et Lecture.

Chapitre III

Résultats et discussion

I. Résultats et discussion

I.1. Analyse qualitative

I.1.1. Etude phytochimiques

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires. Ont été réalisés sur quatre différents extraits préparés à partir des *Rubia tinctorum* L. et *Teucrium polium* L. La détection des composés se repose sur des essais de solubilités des extraits, des réactions de précipitation ou un changement de la coloration par des réactifs spécifiques.

A) Résultat

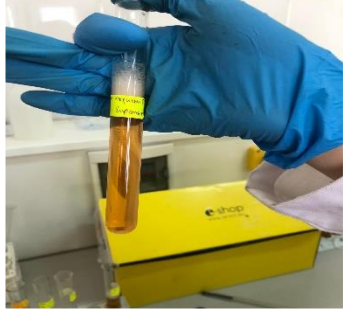




Tous les résultats de tests phytochimiques effectués sur les différents extraits représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 05 : Résultat de screening phytochimique.






Test	Résultat	
	Gr	KH
Saponosides	+++	++
Glycosides	+++	+++
Tanins	++	+++
Flavonoïdes	+++	-
Coumarines	-	-
Alcaloïdes	-	-
Anthocyanes	-	-
Stérols	+++	-
Stéroïdes	-	-
Terpénoïdes	+++	±
Anthraquinones libres	+++	±
Quinones	+++	-





+++ : importante quantité ; + : petite quantité ; ± : Trace ; - : absence.


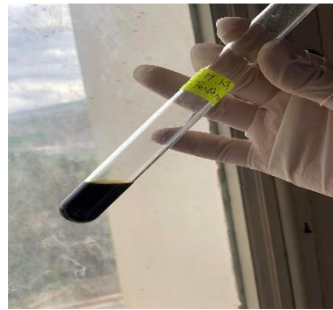


Tableau 06 : Résultat d'analyse phytochimique des métabolites secondaires .

Test phytochimique	Description des résultats	Photo
Métabolites secondaires		
Saponosides	Gr L'apparition d'une mousse persistante confirme la présence des saponines dans l'extrait de <i>Rubia Tinctorum</i> L avec une grande quantité.	
	KH L'apparition d'une mousse persistante confirme la présence des saponines dans l'extrait de <i>Teucrium polium</i> L. avec une petite quantité.	
Glycosides	Gr La présence d'une précipitation Rouge brique, indique que <i>Rubia tinctorum</i> L. Contient des glycosides.	
	KH La présence d'une précipitation Rouge brique, indique que <i>Teucrium polium</i> L. Contient des glycosides.	
Tanins	Gr L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins dans notre plante mais avec des quantité moyenne.	

	KH	L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins dans notre plante et avec des bonnes quantités.	
Flavonoïdes	Gr	La présence de la coloration rouge confirme l'existence des flavonoïdes dans l'espèce <i>Rubia tinctorum</i> L.	
	KH	L'absence de la coloration rouge-rose, qui confirme l'absence des flavonoïdes dans l'espèce <i>Teucrium polium</i> L.	
Coumarines	Gr	L'absence d'un précipité rouge brique indique l'absence des coumarines.	
	KH	L'absence d'un précipité rouge brique indique l'absence des coumarines.	

Alcaloïdes	Gr	L'absence d'un précipité brune, ce qui confirme l'absence des alcaloïdes.	
	KH	L'absence d'un précipité brune, ce qui confirme l'absence des alcaloïdes.	
Anthocyanes	Gr	L'absence d'une coloration rouge confirme l'absence des anthocyanes.	
	KH	L'absence d'une coloration rouge confirme l'absence des anthocyanes.	
Stérols	Gr	La présence de l'anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux phases indique l'existence des stérols.	

	KH	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.	
Stéroïdes	Gr	L'absence d'une coloration violet clair, vire au bleu puis au vert, indique l'absence des stéroïdes dans <i>Rubia tinctorum</i> L.	
	KH	L'absence d'une coloration violet clair, vire au bleu puis au vert, indique l'absence des stéroïdes dans <i>Teucrium polium</i> L.	
Anthraquinones libres	Gr	La présence d'une coloration rouge foncé indique que <i>Rubia tinctorum</i> L. Riche en anthraquinones libres.	
	KH	L'absence d'une coloration rouge foncé indique que <i>Teucrium polium</i> L. ne contient pas des anthraquinones libres.	

Terpénoïdes	Gr	La formation de deux phases et un couleur marron a l'interphase indique la présence des terpénoïdes avec une bonne quantité.	
	KH	La formation de deux phases et un couleur marron a l'interphase indique la présence des terpénoïdes avec une petite quantité.	
Quinones	Gr	Ce test est confirmé par l'apparition de la coloration rouge dans l'extrait de <i>Rubia tinctorum</i> L.	
	KH	L'absence de la coloration rouge dans l'extrait de <i>Teucrium polium</i> L. indique l'absence des quinones.	

B) Discussion

- *Rubia tinctorum* L.

Les tests phytochimiques effectués sur l'extrait de cette plante révèlent la présence des saponosides, glycoside, tanins, flavonoïde, stérols, terpénoïdes, les anthraquinones et les quinones à une bonne quantité, tandis que les tests de coumarines, les alcaloïdes, anthocyane et stéroïdes sont négatifs.

Nos données ont montré la présence de tanins, de flavonoïdes, de glycosides et de terpénoïdes dans *Rubia*. Cependant, les stéroïdes sont absents. Les résultats de notre étude

sont cohérents avec ceux de (Aboud, 2010), (Houari et al., 2022), qui ont démontré la présence des mêmes constituants à l'exception de coumarine et de l'alcaloïdes.

R. tinctorum L. contient des anthraquinones, des quinones et des saponosides ces résultats d'analyses phytochimiques s'accordent avec ceux qu'ils ont trouvés par (Houari, 2022).

- ***Teucrium polium* L.**

Les résultats des tests phytochimique montrent que la « *Teucrium polium* L. » est très riche en : tanins, saponosides, glycosides, terpénoïdes, et les anthraquinones, tandis que les tests des stérols, flavonoïdes, coumarines, anthocyanes, quinones et des stéroïdes sont négatifs.

Nos résultats de la présence des saponosides, glycosides, tanins, terpénoïde, et l'absence des alcaloïdes s'accordent avec ceux obtenus par (Chodera et al., 1991). Appart celui du test des flavonoïdes. D'autre part nos résultats est identiques à celui trouvé par (Harborne, 1985) à l'exception les flavonoïdes et stéroïdes.

Les flavonoïdes sont absents dans notre plante. Ce résultat n'est pas identique à celui trouvé par (Chodera et al., 1991) ; (Harborne, 1985) ; (Kawashty et al., 1999; Rizk et al., 1986).

Le résultat d'absence des coumarines, alcaloïdes, anthocyanes, stérols, stéroïdes est identique à celui trouvé par (Belmekki, 2009) ; (Elbidi, 2016).

I.2. Analyse quantitative

I.2.1. Extraction et dosage des polyphénols totaux

- **Détermination du rendement d'extraction**

Les extraits bruts récupérés après évaporation à sec ont été pesés pour déterminer le poids sec résultant. Les résultats ont été exprimés en pourcentage massique. Le rendement de l'extrait brut est déterminé à partir du poids de l'extrait sec obtenu par rapport au poids de la matière végétale sèche réduit en poudre. Ce rendement est calculé via l'équation :

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

R % : Rendement en %.

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

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

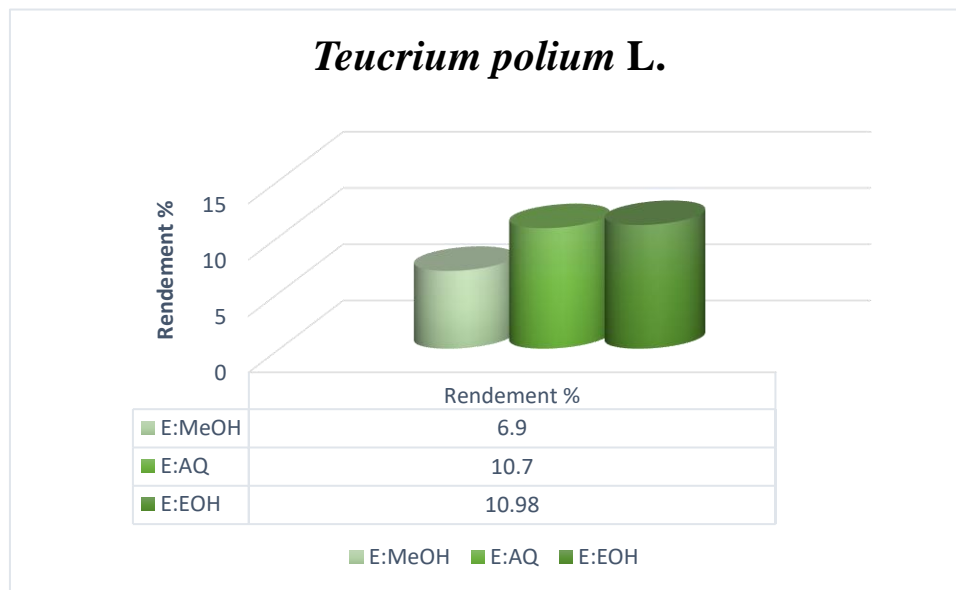


Figure 37: Rendement des extraits bruts de *Teucrium polium* L.

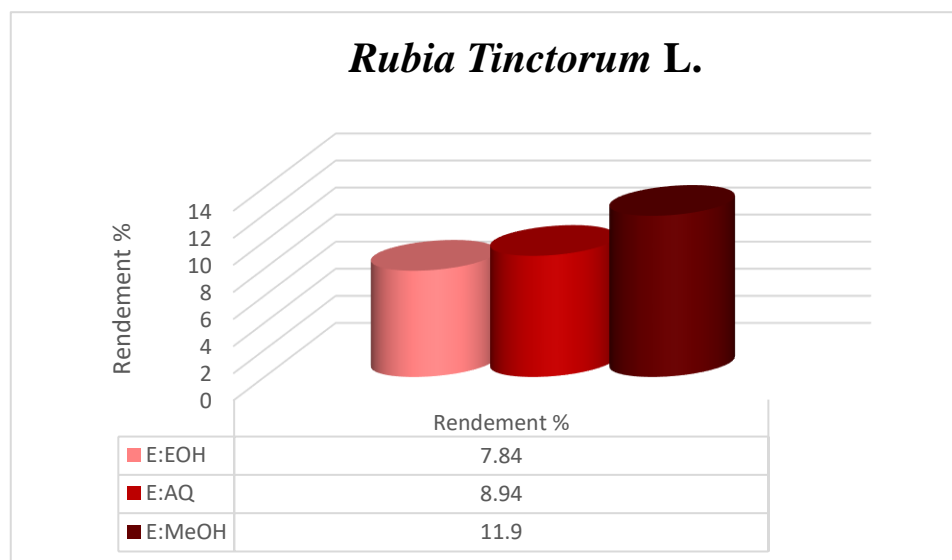


Figure 38 : Rendement des extraits bruts de *Rubia tinctorum* L.

Au vu des résultats rapportés dans la **Figure 37** et **Figure 38** : dans *T. polium* L. ils montrent que le rendement le plus élevé était avec l'extraction éthanolique (10,98%), ensuite l'extrait aqueux avec un pourcentage de (10,7%), et à la fin l'extrait méthanolique avec a donné un rendement de l'ordre de (6, 9%). Contrairement pour le *R. tinctorum* L. nous remarquons le rendement le plus élevé a été observé dans l'extrait méthanolique

(11,9%), par rapport l'extrait aqueux avec un pourcentage de (8,94%), et l'extrait éthanolique qui est moins élevé (7,84%).

- ***Rubia tinctorum* L.**

Nos résultats du rendement de l'extrait éthanolique (7,84%) et méthanolique (11,9%) est inférieur au ceux obtenus par (**Houari, 2022**). Ils sont estimés de (9%) et de (17,3%) respectivement. Pour le résultat de l'extrait aqueux (8,94%) est faible à celui obtenu par (**Houari, 2022**) (18,8%).

- ***Teucrium polium* L.**

Nos résultats du rendement de l'extrait éthanolique (10,98%) est plus faible au ceux obtenus par (**Malki et Yahia., 2014**) (47,76%) et par (**Merdji et Zemmit., 2020**) (23,25%). Pour le résultat d'extrait méthanolique (6,9%) est inférieur à celui obtenu par (**Belmekki, 2009**) (18,7%) et par (**Merdji et Zemmit., 2020**) (24,14%). Le résultat de l'extrait aqueux (10,7%) est supérieur à celui obtenu par (**Fertout-Mouri et al., 2016**) (5,3%) et inférieur à celui obtenue par (**Merdji et Zemmit., 2020**) (17,44%).

NB : Les rendements des extractions varient d'une plante à l'autre, ce qui montre que le rendement diffère d'une région à une autre. Ces variations peuvent être dues à plusieurs facteurs, notamment le degré de maturité des fleurs, l'interaction avec l'environnement (type de sol et température), le moment de la récolte et la méthode d'extraction (**Fertout-Mouri, 2016**).

I.2.2. Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en phénols totaux d'extraits est estimée par la méthode de Folin-Ciocaltau. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage (La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations).

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES) (**Wong et al., 2006**). (**Figure 39**)

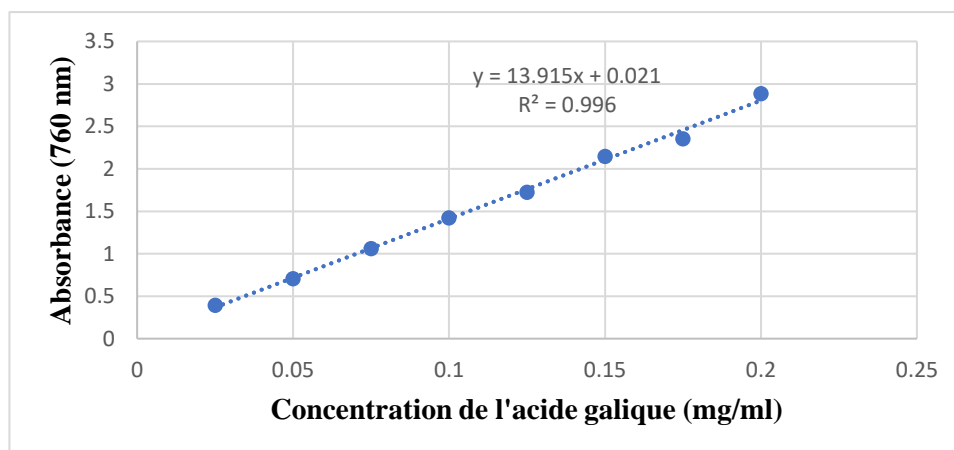


Figure 39: la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

- **Interprétation des résultats**

A) *Rubia tinctorum* L.

Les résultats d'estimations quantitatives des polyphénols totaux sont présentés dans le tableau 07, nous constatons que l'espèce de *R. tinctorum* L. Contient des polyphénols dans l'extrait méthanolique mais avec une faible quantité.

Tableau 07 : Teneur en polyphénols totaux.

La moyenne	0,397145526
Ecartype	0,006630291

❖ **Extrait méthanolique**

L'extrait du *Rubia tinctorum* L. a enregistré une teneur en polyphénols avec une valeur de **0,397145526±0,006630291 mgEAG/g** (Tableau 08).

- **Discussion**

Nos résultats du dosage des composés phénoliques totaux dans l'extrait méthanolique des racines du *Rubia Tinctorum* L. montre que ses racines sont contenues des polyphénols mais avec quantité considérable (**0,397145526±0,006630291 mgEAG/g**), cette quantité reste inférieur à celle trouvée par (Houari, 2022) (houari et al, 2022), qui ont enregistré des teneurs de (**118,38 mgEAG /g**), et celle trouvé par (Habenda et Merouani, 2020) (**38,84mgEAG /g**).

B) *Teucrium polium* L.

Les résultats d'estimations quantitatives des polyphénols totaux sont présentés dans le tableau, nous constatons que l'espèce de *T. polium* L. Contient des polyphénols dans l'extrait méthanolique mais avec une faible quantité.

Tableau 08: Teneur en polyphénols totaux.

La moyenne	0,311640118
Ecartype	0,004024

❖ Extrait méthanolique

L'extrait du *Teucrium polium* L. a enregistré une teneur en polyphénols avec une valeur moyenne de **0,311640118±0,004024 mgEAG/g** ; ce qui montre que cette dernière contient des polyphénols mais avec faible quantité (**Tableau 08**).

• Discussion

Nos résultats du dosage des composés phénoliques totaux dans l'extrait méthanolique des feuilles du *Teucrium polium* L. montre que ses feuilles sont contenues des polyphénols mais avec quantité considérable (**0,311640118±0,004024 mgEAG/g**), cette quantité reste inférieure à celle trouvée par (**Sharifi et al., 2022**), qui ont enregistré des teneurs de (**72,4mgEAG /g**), et celle trouvée par (**Fertout-Mouri, 2015**) (**65,07mgEAG /g**). La teneur en polyphénol totaux trouvée par (**Goutal et al., 2022**) (**0,53 mgEAG/g**) est approximativement égal à nos résultats.

La variabilité du contenu phénolique total dans les différents extraits pourrait être le résultat de la solubilité variable des composés phénoliques ; cette dernière peut être déterminée par la polarité du solvant. En effet les solvants les moins polaires sont généralement considérés comme convenant à l'extraction des phénols lipophiles, et les solvants polaires sont utilisés pour les phénols hydrophiles (**Medini et al., 2014**).

I.2.3. Activité antioxydantes

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la partie et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH) à la couleur H mesurable à 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une

diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**).

- **Effet extrait sur IC₅₀**

L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Cette activité est mesurée comparativement à l'acide ascorbique (antioxydant standard).

L'effet des extraits sur les résultats relatifs à l'IC₅₀ est représenté dans le tableau :

Tableau 09: Effet extrait méthanolique sur l'IC₅₀.

	IC ₅₀ mg / ml	
	Moyenne	Ecart-type
E. MeOH <i>R.tinctorum</i>	0,10734	0,04491
E. MeOH <i>T.polium</i>	0,07916	0,00365
L'acide ascorbique	0,08891	0,00179

Les résultats obtenus pour cette étude (**Tableau 09**) indiquent que l'extrait méthanolique de *T. polium* L. présentent nettement une plus grande activité antioxydante que l'acide ascorbique ainsi vis-à-vis de ce radical libre DPPH.

En conséquence, l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* L. avec un IC₅₀ de 0,07916 mg/ml possède le meilleur pouvoir antioxydant en comparaison avec *R. tinctorum* L., et même avec le standard dont les valeurs respectives elles sont évaluées à 0,10734 et 0,08891 mg/ml. Ce résultat est probablement lié d'une part, à la richesse de *Teucrium polium* L. en composés phénoliques.

- **Discussion**

- A. *Rubia tinctorum* L.**

Nos résultats indiquent que notre extrait méthanolique possède une valeur antioxydant inférieur par rapport à celui trouvés par (**Houari et al., 2022**) sur même plante de l'ordre de 0,68 mg/ml.

B. *Teucrium polium* L.

A partir des résultats obtenus, l'extrait méthanolique de *T. polium* a une valeur d'IC₅₀ de 0,07916 mg/ml, ce qui traduit une valeur antioxydante supérieure à celle trouvée par (Khaled-Khodja et al., 2014) de 0,051 mg/ml.

Nos résultats indiquent que notre extrait méthanolique possède une valeur antioxydante inférieure par rapport à celle trouvée par (Messaoudi, 2022) et (Merdji, 2020) sur même plante de l'ordre respective de 0,0868 mg/ml et 1,21 mg/ml.

I.2.1.4. Activité anti coagulante

L'activité anticoagulante de l'extrait méthanolique de *Rubia Tinctorum* L. et *Teucrium polium* L. a été évaluée *in vitro* à l'aide de deux tests : le temps du céphaline-Kaolin (TCK) et le taux de prothrombine (TP).

- **La voie exogène (TQ)**

Le TQ normal est compris entre 12 et 17s 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, *Rubia tinctorum* L. et *Teucrium polium* L.

A) *Rubia tinctorum* L.

Tableau 10 : Résultat de l'activité anticoagulante (TQ).

Partie	Racine			Témoin			
	Concentration (µl)	5	10	15	5	10	15
TQ (s)	45,3	112,1	>500	15	15,7	16,6	

Notant que le Témoin a donné un temps de coagulation qui est estimé de 15s à une concentration de 5µl, de 15,7s à une concentration de 10µl et de 16,6s à une concentration de 15µl. Le temps de quick de l'extrait décocté de *R. tinctorum* L. à différentes concentrations ont été enregistrés les valeurs de 45,3s à une concentration de 5µl, 112,1s à une concentration de 10µl et une valeur maximale à une concentration de 15µl (**Tableau 10**).

B) *Teucrium polium* L.

Tableau 11: Résultat de l'activité anticoagulante (TP).

Partie	Feuille			Témoin		
Concentration (μ l)	5	10	15	5	10	15
TQ (s)	>500			15	15,7	16,6

Il ressort que l'extrait méthanolique testé de cette espèce a un effet incoagulable. Alors que aucune valeur de temps de quick a été enregistré par l'extraits de *T. polium* à différentes des concentrations (5 μ l,10 μ l,15 μ l) (**Tableau 11**).

- **Discussion**

Les résultats de l'activité anticoagulante obtenus dans (**Tableau 10**) et (**Tableau 11**) révèlent que l'extrait méthanolique des *R. tinctorum* L.et *T. polium* L. possèdent une activité anticoagulante et ils sont capables d'allonger le TQ.

L'extrait méthanolique présente une activité anticoagulante très intéressante *vis-à-vis* la voie exogène de la coagulation.

- **La voie endogène (TCK)**

Tableau 10 : Résultat de l'activité anticoagulante (TCK).

Partie	Feuille (<i>T. polium</i> L.) et racine (<i>R. Tinctorum</i> L.)			Témoin		
Concentration (μ l)	5	10	15	5	10	15
TCK (s)	Après plus de 500 sec aucune coagulation a été observée.			36		

Le témoin a montré un effet anticoagulant par un temps de coagulation importante (36s) avec les différentes concentrations (5 μ l, 10 μ l, 15 μ l).

- **Discussion**

Les résultats de l'activité anticoagulante obtenus dans (**Tableau12**) révèlent que l'extrait méthanolique des *R. tinctorum* L. et *T. polium* L. possèdent une activité anticoagulante et ils sont capables d'allonger le TCK.

L'extrait méthanolique présente une activité anticoagulante très intéressante vis-à-vis la voie endogène de la coagulation.

D'après les recherches sur l'activité anti coagulante de l'extrait méthanolique de *R. tinctorum* L. et *T. polium* L., nous avons constaté que ce test n'est pas vraiment connu par les chercheurs dans la médecine comme anticoagulants.

I.2.5. Activité anti bactérienne

Afin de réaliser cette expérience, nous avons évalué in vitro le pouvoir antibactérien de deux extraits, de *Rubia tinctorum* 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 termes de diamètre de zone d'inhibition (mm) autour des disques contenant l'extrait à tester contre trois germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), après 18 à 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

- **Résultats de l'activité antibactérienne des deux espèces étudiées**

Dans les deux espèces (*Rubia Tinctorum* L. et *Teucrium polium* L.), l'extrait éthanolique et l'extrait méthanolique ont réagi négativement sur deux souches microbiennes testées (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). Ainsi, l'extrait éthanolique de

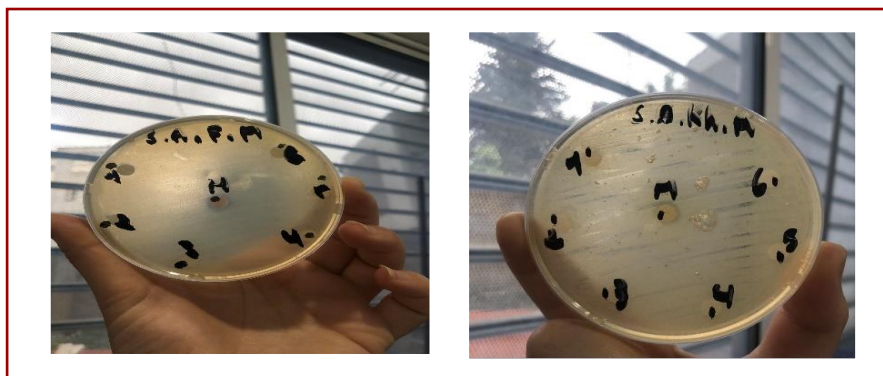


Figure 40: Effet de l'extrait méthanolique sur *Staphylococcus aureus*

la souche (*Staphylococcus aureus*) des deux espèces a donné un résultat négatif (**Figure 40**). Contrairement l'extrait méthanolique, il donné un résultat positif avec un diamètre d'inhibition de 10mm pour *Rubia Tinctorum* L. de 8mm et un diamètre d'inhibition pour

Teucrium polium L. Cela montre que les deux plantes sont douées des propriétés antibactériennes (Tableau 13) (Tableau 14).

Tableau 11 : Les zones d'inhibition testés par Les deux extraits de *Rubia tinctorum* L.

<i>Rubia tinctorum</i> L.															
Gram	Souches bactériennes	S.m		D 1/2		D 1/4		D 1/8		D 1/16		D 1/32		D 1/64	
		M	E	M	E	M	E	M	E	M	E	M	E	M	E
Positif	S. a	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Négatif	P. a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- Aucun zone d'inhibition ; + La présence d'une zone d'inhibition.

Tableau 12: Les zones d'inhibition testés par Les deux extraits de *Teucrium polium* L.

<i>Teucrium polium</i> L.															
Gram	Souches bactériennes	S.m		D 1/2		D 1/4		D 1/8		D 1/16		D 1/32		D 1/64	
		M	E	M	E	M	E	M	E	M	E	M	E	M	E
Positif	S. a	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Négatif	P. a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E. coli	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

• Discussion

A) *Rubia Tinctorum* L.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'effet antibactérien est absent sur les deux souches étudiés (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), mais présent sur la souche (*Staphylococcus aureus*).

Staphylococcus aureus a montré une zone d'inhibition pour l'extrait méthanolique. Tandis que la bactérie gram négative *E. coli* présente une variation dans la zone d'inhibition. Les résultats de cette étude de (Aboud, 2010) sont en accord avec nos résultats, à l'exception pour *E. coli*. (Ghafari et al., 2018) ont également évalué l'effet antibactérienne de l'extrait méthanolique des racines sur des bactéries à Gram-positif et des bactéries à Gram-négatif. En outre, ils trouvent des zones d'inhibition pour les *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*. Ces résultats sont identiques

avec nos résultats seulement pour *Staphylococcus aureus*. Nos résultats ne sont pas similaires avec l'étude de (Kalyoncu et al., 2006) qui ont testé l'effet des racines de *R. tinctorum* L. Ils rapportent que l'extraits méthanoliques avaient un effet inhibiteur sur *E. coli*, alors qu'aucun effet sur *Staphylococcus aureus*. Nos données s'accordent aussi avec ceux obtenus par (Houari, 2022) qui ont montré que l'extrait méthanolique de *R. Tinctorum* L. présentent une activité antibactérienne contre la bactérie *Staphylococcus aureus* et ne s'accordent pas avec le résultat qui montre qu'il y a une zone d'inhibition avec *Pseudomonas aeruginosa*. Cette divergence pourrait être liée à la nature des composés présents dans chaque extrait (Essaidi et al., 2017).

B) *Teucrium polium* L.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'effet antibactérienne est absent sur les deux souches étudiés (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), mais présent sur la souche (*Staphylococcus aureus*). Les résultats de l'étude de (Sharifi-Rad et al., 2022) qui montre que l'effet antibactérienne de l'extrait méthanolique est présent sur les 3 souches testés (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) et cela compatible avec nos résultats seulement avec *staphylococcus aureus*. Nos résultats sont différents avec ceux obtenus par (Bahramikia et Yazdanparas., 2012). Qu'il ait été constaté que l'extrait d'éthanol avait des activités antibactériennes sur les bactéries Gram positives, en particulier les *staphylocoques aureus*. Dans une autre étude, l'effet antibactérien des extraits éthanoliques *T. polium* L. contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*, les résultats ont montré que l'extrait a une activité antibactérienne (Othman et al., 2017) et cela est complètement opposé avec nous résultat. Nos résultats sont identiques avec l'étude de (Khaled-Khodja et al., 2014) et (Darabpour et al., 2010) qui ont montré que les souches de *Staphylococcus aureus* et *E. Coli* présentent une résistance envers *T. polium* L. sauf *E. Coli*. (Darabpour et al., 2010) à trouver un effet antibactérien dans l'extrait méthanolique avec les souches *Staphylococcus aureus* et *E. Coli* et cela s'accorde à nos résultats seulement avec *Staphylococcus aureus*.

Conclusion

Conclusion

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, anticoagulante et antioxydante des deux plantes médicinales *Rubia tinctorum* L. et *Teucrium polium* L.

Le rendement des extraits bruts en utilisant la macération dans différents solvants révèle que ces valeurs varient considérablement selon le choix de solvant. En effet, les meilleurs rendements sont enregistrés dans l'extrait éthanolique de *Teucrium polium* L. (10,98%) et l'extrait méthanolique de *Rubia tinctorum* L. (11,9%).

Le screening phytochimique des principales classes du métabolisme secondaire indique la présence et en abondance chez *Rubia tinctorum* L., des flavonoïdes, saponosides, glycosides, des quinones, et des anthraquinones. Ces caractérisations montrent aussi l'absence d'anthocyanes, stéroïdes, des coumarines et d'alcaloïdes. Par contre chez *Teucrium polium* L. la présence et en abondance des saponosides, glycosides et des tannins, mais les autres classes de métabolites secondaires sont absentes ou présentes par une faible quantité.

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin Ciocalteu et a révélé que l'extrait méthanolique de *Rubia tinctorum* L. est le plus riche en polyphénols suivi par l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* L. avec les valeurs respectives suivantes (0,39714552±0,00663029 mg EAG/g) et (0,31164011±0,004024 mg EAG/g).

Dans la partie biologique de notre travail, nous avons évalué l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique par la méthode du DPPH, à l'issue de cette étude, il en ressort que l'extrait de *Teucrium polium* L. possède un pouvoir antioxydant puissant. Cette activité est liée en grande partie à la composition de l'extrait et sa richesse en composés phénoliques.

L'étude de l'activité anticoagulante des extraits des deux plantes *Rubia tinctorum* L. et *Teucrium polium* L., a été évaluée *in vitro vis-à-vis* de la voie endogène et exogène de la coagulation à l'aide de deux tests chronométriques, le TQ et TCK respectivement. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique de *Rubia tinctorum* L. et *Teucrium polium* L. exercent un effet anticoagulant important.

L'activité antibactérienne de l'extraits méthanolique et éthanolique des deux espèces a été testé sur trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* L. L'activité antibactérienne de l'extraits méthanolique et éthanolique des deux espèces a été testé sur trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* L. et *Rubia tinctorum* L. possède une activité antibactérienne, seulement, *vis à vis* la souche *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de **8mm** et **10mm** respectivement tandis que l'extrait éthanolique des deux espèces ont montré un effet négatif avec tous les sortes de bactéries.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active.

*Références
bibliographiques*

Référence bibliographique

A

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

Aboud, A. (2010) 'HPLC analysis of *Rubia tinctorum* and its effect of methanol and aqueous extract on bacteria isolated from burns infection', *Journal of Al-Nahrain University Science*, 13(4), pp. 166–175.

Abraham, K., Wöhrlin, F., Lindtner, O., Heinemeyer, G., Lampen, A. (2010). Toxicology and risk assessment of coumarin: Focus on human data. *Molecular Nutrition & Food Research*.54, pp. 228-239.

Afaq, F. ET Malik, A. (2005). Pomegranate Fruit Extract Modulates UVB–mediated Phosphorylation of Mitogenactivated Protein Kinases and Activation of Nuclear Factor Kappa B in Normal Human Epidermal keratinocytes. *Photochemistry and photobiology*, 81(1): 38-45.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P & Lomri, A. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutase: role in joint diseases. *Joint Bone Spine*, 74(4), 324-329.

Alasalvar, C., Grigor, J.M., Zhang, D., Quantick, P.C., Shahidi, F., (2001). Comparison of Volatiles, Phenolics, Sugars, Antioxidant Vitamins, and Sensory Quality of Different Colored Carrot Varieties. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1410–1416.

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.

Autore, G., Capasso, F., De fusco, R., Fasulo, M.P., Lembo, M., Mascolo, N., Menghini, A., (1984). Antipyretic and antibacterial actions of *Teucrium polium* L. *Pharmacol. Res Commun* 16: 21-29.

B

Bahramikia, S. and Yazdanparas, R. (2012). Phytochemistry and Medicinal Properties of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae), Phytotherapy research. Institute of biochemistry and biophysics, University of Tehran, Tehran, Iran.

Bährle-Rapp, M. (2007). Saponins. Springer Lexikon Kosmetik und Körperpflege, Springer.

Bakasso, S. (2009). Études phytochimiques et potentialités biologiques de cinq espèces d'indigo fera (fabaceae) utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso (Thèse de Doctorat), Université d'Ouagadougou.

Bakli, S. (2020). Thèse de Doctorat - University Ferhat Abbas Sétif 1, Activité antimicrobienne, antioxydante et anticoccidienne des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales lo-cales.

Belmekki, N. (2009). « Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de *Saccocalyx*, *Salvia verbenaca* et *Teucrium polium* de la région Ouest d'Algérie », mémoire de magister, Université de Tlemcen, Abou Bakr Belkaid, département de biologie.

Bendjabeur, S., Benchabane, Bensouici, C., Hazzit, M., Baaliouamer, A., Bitam, A., (2018). Antioxidant and anticholinesterase activity of essential oils and ethanol extracts of *Thymus algeriensis* and *Teucrium polium* from Algeria. *Journal of Food Measurement and Characterization*.12:2278–2288.

Berger, A., Jones, P., Abumwels, S., (2004). Plants sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids Health Dis* 2004: 3-5. Berlin Heidelberg: 490-490.

Bezeaud, A., Guillin, M.-C. and Fischer, A.-M. (2007). 'Troubles de l'hémostase et de la coagulation Orientation diagnostique', *La revue du praticien*, 57, pp. 327–335.

Bloch, K.E. (1983). Sterol structure and membrane function. *Critic. Rev. Biochemistry* 14, 47-91.

Blömeke, B., Poginsky, B., Schmutte, C., Marquardt, H. & Westendorf, J. (1992). Formation of genotoxic metabolites from anthraquinone glycosides present in *Rubia tinctorum* L. *Mutat. Res.*, 265, 263–272.

Bonnier, G., and Layens, G. (1894). Flore complète portative de la France et de la Suisse... 137549263rd Ed. Librairie générale de l'Enseignement, Paris.

Bosner, M., Lang, L., Stenson, W., Oslund, J., (1999). Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual stable isotopic tracers and negative ion mass spectrometry. *J Lipid Res*; 40: 302-8.

Boudjouref, M. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.

Bougandoura, N. et Bendimerad, N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature et technologie*.

Boulila, A., Béjaoui, A., Messaoud, C., Boussaid, M. (2008). Variation of volatiles in Tunisian populations of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae). *Chem Biodivers* 5: 1385–1400.

Boullard, B. (2003). *Plantes médicinales du monde : réalités et croyances*. Paris. pp. 1092-1107.

Boumerfeg, S., Baghiani, A., Djarmouni, M., Ameni, D., Adjadj, A., Belkhiri, F., Charef, N., Khennouf, S. (2012). Inhibitory activity on xanthine oxidase and antioxidant properties of *Teucrium polium* L. extracts. *Chin. Med.* 3:30-41.

Bourgaud, F. (2013). Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; Exemple de l'apport des sciences cognitives à la production/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt, Unité Mixte de Recherche 1121 Université de Lorraine INRA, Nancy-Colmar), Fondateur de la société Plant Advanced Technologies, Nancy.

Bourgaud, F., Hehn, A., Larbat, R., Doerper, S., Gontier, E., Kellner, S. and Matern, U. (2006). Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unraveled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochem. Rev.*, 5, 293–308.

Bourgeois, C.M., Mescle, J.F., ET Zucca. (1996). Aspect microbiologique de la sécurité alimentaire et de la qualité des aliments. - In : Lavoisier tec & doc (Ed), *Microbiologie Alimentaire*, 106-119p.

Brillouet J.M., Romieu, C., Shoafs, B., Solymosi, K., Cheynier, V., Fulcrand, H., Verdeil J.L., Conejero, G. (2013). Annals of botany 112(6): 1003-1014.

Brouillard, R. (1993). The Flavonoids, Advances in research since 1986, Ed J. B. Harborne. Chapman and Hall, London.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes Médicinales. Lavoisier 4e éd, revue et augmentée, Tec & Dac-Editions médicinales internationales, Paris, 1288 p.

Bruno, M., Bondi, M.L. Rosselli, S. (2002). Neoclerodane diterpenoids from *Teucrium montbretii* subsp *libanoticum* and their absolute configuration. J Nat Prod 65: 142-146.

Brzozowska, J., and Hanower, P. (1976, January 1). Sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique Chez des Cotonniers. Semantic Scholar.

C

Cainaud, C., (2005). Les mammites subcliniques chez la chèvre : détection et mesures de lutte. Etude dans des élevages de la Drome. Thèse : Méd.Vét. : Lyon. -109p.

Caniparius, P. M. (1718),” de atramentis cujuscunque generis ”, Rotterdam. L'édition consultée ne diffère de la première (1619, venice) que par la pagination (communication personnelle de no kirby).

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

Cardon, D. (2014). Le Monde des Teintures Naturelles Nouvelle. Belin, Paris.

Castaneda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M.E., Rodríguez, J. A., Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of Anthocyanins: A review. Food chemistry 113, 859-871.

Chelle, P. (2017). Vers Une Définition Patient-Spécifique Du Taux Cible de Facteur Antihémophilique à Partir de La Génération de Thrombine : Apports Des Approches Expérimentales et des modèles dynamiques de la cascade de La coagulation.

Chenciner, R. (2000), "chimie, couleurs et civilisations", Art et chimie, la couleur, Actes du congrès, paris.

Chevallier, A. (2008). Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Larousse.10-233 p.

- Chodera, A., Dabrowska, K., Sloderbach, A., Skrzypczak, L., and Budzianowski, J. (1991).** Effect of flavonoid fractions of *Solidago virgaurea* L. on diuresis and levels of Electrolytes. *Acta pol. pharm.* 48:35-37.
- Chomsky, N. (2012).** What is Special about Language? SBS Lecture Series: Noam Chomsky, University of Arizona.
- Cillard, J., Cormier, M., Girre, R.L. (1975).** Autoxidation rate increase of linoleic acid in the presence of tocopherol in aqueous medium; study of the transformation of tocopherol. *CR Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D*, 281, 455-458.
- Clave, D. (2011).** Fiche technique : *Pseudomonas aeruginosa*, Laboratoire de Bactériologie Hygiène; CHU Toulouse.
- Clementi, C., Nowik, W., Romani, A., Cibin, F., Favaro, G. (2007).** “A spectrometric ET chromatographic approach to the study of ageing of madder (*Rubia tinctorum* L.) Dyestuff on wool”. *Analytica Chimica Acta* 596: 46-54.
- Cordesse, R., and Zimmer, N. (1996).** Influence des Tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *INRA Prod.Anim.*, 9(3), 167-179.
- Couplan, F. (2012).** Les plants et leur nom. Histoires insolite, Editions Quae, p. 224.
- Couture, B., (1990).** Bactériologie médicale « Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical ». Vigot, Paris. 15- 32p.
- Cuny, C., Friedrich, A., Kozytska, S., Layer, F.,Nübel, U., Ohlsen, K., Strommenger, B.,Walther, B., Wieler, L.,et Witte W. (2010).** Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in different animal species. *Int J Med Microbiol.* 300: 109– 117.
- Cuoco, G., Mathe, C., Vieillescazes, C. (2008).** “La couleur de l'Avant-garde russe. Étude de la caractérisation physico-chimique de la matière picturale”. *Actualité Chimique* 318: 28-29.

D

- Darabpour, E., Motamedi, H., Nejad, S.M.S. (2010).** Antimicrobial properties of *Teucrium polium* against some clinical pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(2), 124–127.

- De Marino, S., Festa, C., Zollo, F., Incollingo, F., Raimo, G., Evangelista Dollah, MA. Parhizkar, S., Abdul Latiff, L., Hafanizam Bin Hassan, M. (2012).** Antioxydant activity of phenolic and phenylethanoid glycosides from *Teucrium polium* L. Food. Chem. 133:21-28.
- De Revel, T. (Professeur agrégé du Val-de-Grâce et al. (2004).** Physiologie de l'hémostase, EMC - Dentisterie.
- Denizot, V. (2020).** Pathologies de l'hémostase : Hémophilies et maladie de Willebrand, Aurore | Pathologies de l'hémostase : hémophilies et maladie de Willebrand.
- Derksen, G.C.H. (2001).** "Red, redder, madder. Analysis and isolation of anthraquinones from madder roots (*Rubia tinctorum*)". Thèse de doctorat, Bruxelles.
- Derksen, G. C. H. (1970, January 1).** Red, redder, madder : Analysis and isolation of anthraquinones from madder roots (*Rubia Tinctorum*). *Research@WUR*.
- Derksen, G.C.H., Van Beek, T.A., De Groot, A. & Capelle, A. (1998).** High-performance liquid chromatographic method for the analysis of anthraquinone glycosides and aglycones in madder root (*Rubia tinctorum* L.). *J. Chromatogr. A.*, 816, 277–281.
- Desmier, T. (2016).** Les antioxydants de Nos Jours : Définition et applications.
- Diallo, D., (2000).** - Ethno pharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Azoceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetic* (Meliaceae). Thèse de doctorat de recherche, Faculté des sciences de l'université de Lausanne Suisse.
- Doat, J. (1978).** Les tanins dans les bois tropicaux | Bois & forêts des tropiques, Tanins in tropical woods. France n°182.
- Douhou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissihassani, I.M., Badoc, A., et Gmira, N. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibero-marocaine Thymelaealythroïdes; Bull soc. pharm. Bordeaux. 142: 61-78.

E

- Elalamy, I., et Samama, M.M., (2001).** Physiologie de l'hémostase. EMC –Angiologie. 19- 0100. 1-6. Agronomie. P61.

Elbidi, A. (2016, Novembre 19). « Screening phytochimique de quelques plantes stepiques *Artemisia Campestris* et *Teucrium Polium* de la région de El Hamel wilaya de M'Sila », mémoire de master, Université de Djelfa, Ziane Achour, département des Sciences de la Matière.

El-Emary, N.A. & Backheet, E.Y. (1998). Three hydroxymethylantraquinone glycosides from *Rubia tinctorum*. *Phytochemistry*, 49, 277–279.

Esmacili, M.A., Yazdanparast, R. (2004). Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets. *J Ethnopharmacol* 95: 27-30.

Essaidi, I., Snoussi, A., Koubaier, H.B. Casabianca, H., Bouzouita, N. (2017). Effect of acid hydrolysis on alizarin content, antioxidant and antimicrobial activities of *Rubia tinctorum* extracts. *Pigment & Resin Technology*.

F

Fauchere, J.L et Avril, J.L., (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris, pp. 213-217.

Fertout-Mouri, N. (2015). Thèse de doctorat en sciences, ecophytochimie d'une labiée (*teucrium polium*) des monts de Tessala, Algérie occidentale. Université de Djilali liabes de sidi bel Abbes. Département des Sciences de l'environnement.

Fertout-Mouri, N., Latreche, A., Mehdadi, Z., and Bengherraz, Z. (2016). Activité Antibactérienne de Quatre extraits de *teucrium polium* L. du Mont de Tessala (Algérie occidentale). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* 253–262.

Fertout-Mouri, N.; Latrèche, A.; Mehdadi, Z.; Toumi-Bénali, F.; Khaled, M. B. (2016). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Teucrium polium* L. of Tessala Mount (Western Algeria); *Phytothérapie*.

G

Gentry, P. A., (2004). Comparative aspects of blood coagulation. *The Veterinary Journal*; 168: 238–251.

Ghafari, R., Mouslemanie N., Nayal, R. (2018). Antibacterial activity of *Rubia Tinctorum* Linn. Root extracts. *International Journal Pharmaceutical Science and Research*. 9(9):3914-3918.

Gharaibeh, M.N., Elayan, H.H., Salhab, A.S. (1989). Anorexic effect of *Teucrium polium* in rats. *Int J Crude Drug Res* 27: 201-207.

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Pharmacie, rue Avicenne, 5000 Monastir, Tunisie. *Phytothérapie*, Numéro 4: 162-16.

González, I., Morales, M. A. Rojas, A. (2020). Polyphenols and AGEs/RAGE axis. Trends and challenges. *Food Research International*, 129: 1-12.

Goodarzian, H., Ekrami, E., (2010). Wool dyeing with extracted dye from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *World Appl. Sci. J.* 8 (11), 1387–1389.

Goutal, M.; Latmane, R.; Yahia, H. (2022). « Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et anticoagulante de *Punica granatum* L. et *Teucrium polium* L » , mémoire de master, Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf- Mila, département des Sciences de la Nature et de la vie.

Green, D. (2006). Coagulation cascade. *Hemodialysis International*, 10(S2), S2–S4.

Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal Plants: Traditions of Yesterday and Drugs of Tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27, 1-93.

H

Habenda, A.A. ET Merouani, KH. (2020). « Etude de quelque activité biologique de trois plantes médicinales de la région Biskra », mémoire de master, Université de Mohamed Khider de Biskra, département des Sciences Biologique.

Hachicha, SF., Barrek, S., Skanji, T., Zarrouk, H., Ghrabi, ZG. (2009). Fatty acid, tocopherol, and sterol content of three *Teucrium* species from Tunisia. *Chem Nat Comp* 45: 304–308.

Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Ksouri, R., Medini, F., Sekkal, F.Z., Benmansour, A. (2014). Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12(6), 415–422.

- Hadria, M. D. (2017, January 1).** "évaluation chimique et activité antidermatophyte de Quelques Plantes Médicinales d'Algérie ". DSpace Home. Université Frères Mentouri - Constantine 1.
- Halliwell, B. ET Gutteridge, JMC. (1989).** Free radicals in biology and medicine. 2e ed. Oxford, UK: Clarendon.
- Hamburger, M. ET Hostettmann, K. (1991).** 7. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. , 30(12), 3864–3874.
- Han, X., Shen, T., Lou, H. (2007).** Dietary polyphenols and their biological significance. International Journal of Molecular Sciences 8, 950-988.
- Hanson, P.M., Yang, R.Y., Wu, J., Chen, J.T., Ledesma, D., Tsou, S.C.S., Lee, T.C. (2004).** Variation for antioxidant activity and antioxidants in tomato. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 129: 704-711.
- Harbone, J.P. (1998).** Phytochemical methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Chapman & Hall, Londres.
- Harborne, J.B., Williams, C.A. (2001).** Anthocyanins and other flavonoids. Natural Product Reports 18: 310-333.
- Harborne, JB. (1985).** phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. Second Ed, Chapman and Hall, New York: 171.
- Haslam, E., (1994).** Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. Nat. Prod., 11, pp 41-66.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. & Bobilya, D.J. (2002).** Flavonoids antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry, 13: 572-584.
- Heller, R., Esmault, R., Lance, C. (1998).** Physiologie Végétale. 6eme édition. Dunod, Paris. 290p.
- Herms, D. A., Mattson, W. J., (1992).** "The dilemma of plants: to grow or defend". The quarterly Review of Biology, 67, 283-335.
- Holley, R.W.; Baldwin, J.H. and Kiernan, J.A. (1974).** Control of Growth of a Tumor Cell by Linoleic Acid. Proc. Nat. Acad. Sci. USA.71 (10): 3976-3978.

Hostettmann, K., Marston, A., (2005). Saponins. Chemistry and pharmacology of natural products. Cambridge University Press, Cambridge, isbn-10: 0521020174.

Hostettmann, K., Potterat, O. and Wolfender, J.L. (1998). The Potential of Higher Plants as a Source of New Drugs, biologically active agents in nature *Chimia*, 52, 10-17.

Houari, F. Z., Erenler, R., and Hariri, A. (2022). Biological activities and chemical composition of *Rubia tinctorum* (L) root and aerial part extracts thereof. Semantic scholar. *Acta Biol Colomb.*27 (3):403-404.

I

Ino, N., Tanaka, T., Okumura, A., Morishita, Y., Makita, H., Kato Y., Nakamura, M., Mori, H. (1995). Acute and subacute toxicity tests of madder root, natural and colorant extracted from madder (*Rubia tinctorum*), in (C57BL/6XC3H) F₁mice. *Toxicol. Industr. Health*, 11,449-458. 92.

Iranshahi, M., Askari, M., Sahebkar, A. and Adjipavlou-Litina, D. (2009). Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxygenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin. *Daru J. Pharm. Sci.*, 17, 99–103.

J

Judd, W.S., Campbell, C.S, Kellog, E.A. & Stevens, P. (2002). Botanique systématique une perspective physiologique. De Boeck Supérieur, Paris, 467.

K

Kalla, A. (2012). Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud Algérien thèse de doctorat en science. Université mentouri - Constantine. Faculté des Sciences département de chimie.

Kalyoncu, F., Cetin, B., Saglam, H. (2006). Antimicrobial activity of common madder (*Rubia tinctorum* L.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives.*20 (6):490-492.

Kamel, M.M., El-Shishtawy R.M., Youssef B.M., Mashaly H. (2007). “Ultrasonic assisted dyeing. IV. Dyeing of cationised cotton with lac natural dye”. *Dyes and Pigments* 73: 279- 284.

- Kaper, J. B., J. P. Nataro and H. L. Mobley (2004).** "Pathogenic Escherichia coli." *Nat Rev Microbiol* 2(2): 123-140.
- Kawasaki, Y., Goda, Y., Maitani, T., Yoshihira, K., Takeda, M. (1992).** "Determination of madder color in foods by high-performance liquid chromatography". *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 33: 563-568.
- Kawasaki, Y., Goda, Y. & Yoshihira, K. (1992).** The mutagenic constituents of *Rubia tinctorum* L. *Chem. pharm. Bull.*, 40, 1504–1509.
- Kawashty, S.A., Gamal El-Dinb, E.M., Saleh, N.A.M. (1999).** The flavonoid chemosystematics of two Teucrium species from Southern Sinai, Egypt. *Biochem Syst Ecol* 27: 657–660.
- Khader, M., Eckl, P.M., Bresgen, N. (2007).** Effects of aqueous extracts of medicinal plants on MNNG-treated rat hepatocytes in primary cultures. *J Ethnopharmacol* 112: 199-202.
- Khaled-Khodja, N., Boulekbache-Makhlouf, L., Madani, K. (2014).** Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Ind Crops Prod*, 61:41-48.
- Köhler, M .P. (1897).** Rendering of the *Rubia tinctorum* L. (the rose madder). Photograph.
- Krief, S. (2003, September 5).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en ouganda. Activités Biologiques et étude chimique de Plantes Consommées. Thèses. Museum national d'histoire naturelle – Mnhn paris.
- Krizsan, K., Szokan, G., Toth, Z.A., Hollosy, F., Laszlo, M., Khlafulla, A. (1996).** HPLC analysis of anthraquinone derivatives in madder root (*Rubia tinctorum*) and its cell cultures. *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.*, 19, 2295-2314.
- Kumar, S. (2016).** Local Hemostatic Agents in the Management of Bleeding in Oral Surgery, *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 9, 35.

- Lake, B.G. (1999).** Coumarin metabolism, toxicity and carcinogenicity: Relevance for human risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 37, pp. 423-453.
- Lasztity, R., Hidvegi, M., Bata, A., (1998).** Saponins in food. *Food Rev. Int.* 14, 371–390.
- Lemjallad, L. (2015).** Etude phytochimique et évaluation de différentes activités des extraits de *Pimpinella anisum*.
- Lemoine, C. (2005).** Les fleurs méditerranéennes. Editions Jean-Paul Gisserot. Pp. 26.
- Lendvai, B., Zelles, T., Rozsa, B., Vizi, E.S. (2002).** Vinca alkaloid enchanes morphological dynamics of dentric neocortical Layer 2/3 pyramidal cells. *Brain Research Bulletin*, 59 (4): 257-260.
- Li, J., Ou-Lee, T.S., Raba, R., Amundson, R.G. & Last, R.L. (1993).** Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *The Plant Cell*, 5, 171-179
- Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., Chen, S., (2016).** An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules* 21, 1374.
- Lin, Y., Selby, R. and Elba, C. (2019)** Sang Difficulté : La coagulation simplifiée. Deuxième édition. Réseau régional ontarien de coordination du sang.
- Lodhi, A.H., Sant'Ana, A.E.G., Charlwood, B.V. (1994).** Quantitative analysis of alizarin in tissue cultures of *Rubia* species by high performance liquid chromatography. *Phytochem. Anal.*5, 261-265.
- Lois, R. & Buchanan, B.B. (1994).** Severe sensitivity to ultraviolet radiation in an Arabidopsis mutant deficient in flavonoid accumulation. II. Mechanism of UV-resistance in Arabidopsis. *Planta*, 194, 504-509.
- Ludwiczuk, A., Skalicka-Wozniak, K., and Georgiev, M. I. (1992).** Terpenoids, in *Pharmacognosy. Essay*, Springer, Berlin.

Davido, N., Yasukawa, K., Bories, C., Derman, D., Labrousse, D., Leclercq, J. and Ohane, W. (2014). Pouch Tortiger, Médecine Orale ET Chirurgie Orale - Parodontologie (Maloine).

Mahmoudi, R., Nosratpour, S. (2013). Teucrium polium L. essential oil: phytochemical component and antioxidant proprieties. Ifrj. 20(4):1697-1701.

Malki, S., and Yahia, A. L. (2014). Evaluation of diuretic activity from *teucrium polium* L. capitatum extracts (Lamiaceae) in. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 5, 1259–1262.

Mamadou, B. (2002, Décembre). Actions pharmacologiques des tanins.

Marczylo, T., Arimoto-Kobayashi, S. & Hayatsu, H. (2000). Protection against Trp-p-2 mutagenicity by purpurin: Mechanism of in *vitro* antimutagenesis. Mutagenesis, 15, 223–228.

Medical Economics Co. (2000). PDR for Herbal Medicines, second Ed., Montvale, NJ, pp. 80–81, 490.

Medini, F. Fellah, H. Ksouri, R. Abdelly, C. (2014). Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. Journal of Taibah University for science.8 (3):216-224.

Merdji, Kh. ET Zemmit, F.Z. (2020). « Evaluation des propriétés antioxydantes des extraits de *Teucrium polium* L. », mémoire de master, Université de Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A., département des Sciences Biologique.

Messaoudi, M. (2022). « Mise en évidence des activités biologiques et des études minérales de certaines plantes médicinales cultivées en Algérie : *Teucrium polium* L, *Matricaria chamomilla* L et *Mentha pulegium* L », thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en sciences, Université Echahid Hamma Lakhdar d'El Oued, département des chimie organique appliquee.

Mibindzou, M.A., (2004). - Screening phytochimique de deux espèces de plantes: *Crotalia retusa* L (papilionaceae) ET *Hallea ciliata* Aubrev & Pellegr. (Rubiaceae) récoltées au Gabon, thèse de doctorat, Mali, 58 p.

Michael, Mc. M. (2012). New Models of Hemostasis, Top. Companion Anim. Med. 27, 40.

Milettinen, T., Tilvis, R., Kesaniemi, Y., (1990). Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. Am J Epidemiol. 131: 20-31.

Miliani, C., Romani, A., Favaro, G. (1998). “A spectrophotometric and fluorimetric study of some anthraquinone and indigoid colorants used in artistic paintings”. Spectrochimica Acta Part A 54: 581–588.

Miller, K.G., Poole, C.F. and Pawlowski, T.M.P. (1996). Classification of the botanical origin of cinnamon by solid-phase microextraction and gas chromatography. Chromatographia, 42, 639–646.

Mongrand, S., Badoc, A., Patouille, B., Lacomblez, C., Chavent, M., Bessoule, J.J. (2005). “Chemotaxonomy of the Rubiaceae family based on leaf fatty acid composition”. Phytochemistry 66: 549-559.

Mouellet, M. (2005). Screening phytochimique de deux espèces des plantes. *Crotalaria Retusa* L (Papilionaceae) et *Halleaciliata* Aubrev & Pellegr (Rubiaceae) récoltées au Gabon. Thèse de doctorat. Université de Bamako –Mali .58-211p.

N

Naghbi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi, M.S., Ghorbani. A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. Iranian J Pharmaceut, Res, 2: 63-79.

Nasri, H., Nematbakhsh, M., Ghobadi, S., Ansari, R., Shahinfard, N., Rafi, K.M. (2013). Preventive and curative effects of ginger extract against histopathologic changes of gentamicin-induced tubular toxicity in rats. Int J Prev Med 4:316-21.

Nematollahi-Mahani, S.N., Rezazadeh-Kermani, M., Mehrabani, M., Nakhaee, N. (2007). Cytotoxic effects of *Teucrium polium* on some established cell lines. Pharm Biol 45: 295-298.

Nizamaldin, Y., Najm, S., El Hage, A.M. and Samson, J. (2012). Hémostase Locale En Chirurgie Orale. 1ère Partie : Physiologie de l'hémostase, Med. Buccale Chir. Buccale 18, 119.

Norman, R.F. et al. (1986) Place des plantes médicinales dans la thérapeutique, Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé. 64 (2), pp159-175.

O

Obame-Engonga, L.C. (2009). Characterization and analysis of Okoume and AIELE Essential Oils from Gabon by GC-MS, electronic nose, and their antibacterial activity assessment, these de doctorat unique.

Odounga, k. (2011). *Rubia tinctorum* L., (El foua), plante médicinale potentiellement dangereuse : mise à jour bibliographique et analyse phytochimique d'échantillons marocains. Thèse doctorat en pharmacie. Faculté de médecine et de pharmacie-RABAT- 150p.

Oleszek, W., Stochmal, A., (2002). Triterpene saponins and flavonoids in the seeds of *Trifolium* species. *Phytochemistry* 61, 165–170.

Othman, M.B., Salah-Fatnassi, K.B.H., Ncibi, S., Elaissi, A., Zourgui, L. (2017). Antimicrobial activity of essential oil and aqueous and ethanol extracts of *Teucrium polium* L. subsp. *gabesi-anum* (LH) from Tunisia. *Physiol Mol Biol Plants*, 23: 723-729.

Ozdal, T., Capanoglu, E., Altay, F., (2013). A review on protein–phenolic interactions and associated changes. *Food Res. Int.* 51, 954–970.

Ozenda, P. (2004). Flore et végétation du sahara. 3ème édition. Centre National de la Recherche Scientifique Edition. Paris. Pp. 399-402.

P

Parsaee, H., Shafiee-Nick, R. (2006). Anti-Spasmodic and anti-nociceptive effects of *Teucrium polium* aqueous extract. *Iran Biomed. J.* 10 (3): 145-149.

Patadiya, N. (2020). ‘Steroids: classification, nomenclature and stereochemistry’, international journal of universal pharmacy and biosciences. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences* 9(5): pp. 28–37.

Pisoschi, A.M., Cheregi, M.C and Danet, A.F. (2009). Total Antioxidant Capacity of Some Commercial Fruit Juices: Electrochemical and Spectrophotometric Approaches. *Molecules*, 14(1), 480-493.

Potts, D. T. (2022, June 15) on the history of madder (*Rubia Peregrina* L., and *Rubia tinctorum* L.) in pre-modern Iran and the Caucasus. De Gruyter.

Proestos, C., Sereli, D., Komaitis, M. (2004). Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. Food Chem. 95:44-52.

Q

Quézel, P. & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, CNRS, Paris, 605p.

Quezel, P. et Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, p.788789. Et p.360361.

R

Rafieian-Kopaie, M. (2013). Medicinal plants for renal injury prevention. J Renal Inj Prev 2:63-5.

Rasekh, H.R., Yazdanpanah, H., Hosseinzadeh, L., Bazmohammadi, N., Kamalinejad, M. (2005). Acute and subchronic toxicity of *Teucrium polium* total extract in rats. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 4: 245-249.

Ribereau-Gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod.paris. 166p.

Ricci, D., et al., (2005). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). Journal of ethno pharmacology.981, 195-200.

Rizk, A.M., Hammouda, F.M., Rimpler, H., Kamel, A. (1986). Iridoids and flavonoids of *Teucrium polium* herb. Planta Med 2: 87–88.

Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels Végétaux, OCL. France.

S

S. Kumar, (2016). Local Hemostatic Agents in the Management of Bleeding in Oral Surgery, Asian J. Pharm. Clin. Res. 9, 35.

- Sánchez-Rodríguez, C., Peiró, C., Rodríguez-Mañas, L. and Nevado, J. (2020).** Polyphenols attenuate highly-glycosylated haemoglobin-induced damage in human peritoneal mesothelial cells. *Antioxidants*, 9: 1-15.
- Schneider, H.J., Unger, G., Rossler, D., Bothor, C., Berg, W. & Ernst, G. (1979).** [Effect of drugs used for the prevention of urinary calculi recurrence on the growth and metabolism of young experimental animals.] *Z. Urol. Nephrol.*, 72, 237–247 (in German).
- Sejal Makvana, M., Leonard, R., and Krilov, M. (2015).** ‘*Escherichia coli* Infections’, official journal of the American academy of pediatrics, 36, pp. 167–171.
- Shakhanbeh, J., Atrouce, O. (2000).** *Teucrium polium* Inhibits Nerve Conduction and Carrageenan Induced Inflammation in the Rat Skin. *Turk. J. Med. Sci.* 3:15-21.
- Shariffar, F., Dehghn-Nudeh, G., and Mirtajaldini, M. (2009).** Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chem* 112: 885-888.
- Sharifi-Rad, M., Pohl, P., Epifano, F., Zengin, G., Jaradat, N., Messaoudi, M. (2022).** *Teucrium polium* (L.): Phytochemical Screening and Biological Activities at Different Phenological Stages. *Molecules*.
- Sivakumar, V., Rao, P.G. (2003).** “Studies on the use of power ultrasound in leather dyeing”. *Ultrasonics Sonochemistry* 10: 85-94.
- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., and Simonic, M., Knez, Z. (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chem.* 89: 191-198.
- Sökmen, M., Serkedjieva, J., Daferera, D., Gulluce, M., Polissiou, M., Tepe, B., and 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.
- Sophie, D. R., Barthe, W., and Arnault, F. (2012)** Ressources mps–SL au Muséum National d’histoire Naturelle. La culture de la garance au cours des siècles.
- Subhasree, B., Baskar, R., Keerthana, L., Lijina, R., Susan, R., Rajasekaran, P. (2009).** Evaluation of antioxidant potential in selected green leafy vegetables. *Food chem.* 15: 1213-1220.

Suleiman, M.S., Abdul-Ghani, A.S., Al-Khalil, S., Amin, R. (1988). Effect of *Teucrium polium* boiled leaf extract on intestinal motility and blood pressure. *J Ethnopharmacol* 22: 111-116.

Surowiec, I., Quye, A., Trojanowicz, M. (2006). “Liquid chromatography determination of natural dyes in extracts from historical Scottish textiles excavated from peat bogs”. *Journal of Chromatography* 1112: 209-217.

T

Tariq, M., Ageel, A.M., al-Yahya, M.A., Mossa, J.S., al-Said, M.S. (1989). Anti-inflammatory activity of *Teucrium polium*. *Int J Tissue React* 11: 185–188.

Thoppil, J.E., Minija jtajo, A., Deena, M.J. (2001). Antimicrobial activity of *teucrium polium* plectranthoides essential oil. *J. Nat.Remedes*; 1;155-157.

Tison, J.M., Foucault, B., Guiol, F., Charpin, A., and Seloise, M.A. (2014). *Flora Gallica Flore de France*. Mèze p 814.

Trease, E. and Evans, W.C. (1987). *Pharmacognosy*. 13th Edition, Baillière Tindall, London.

Trojanowicz, M., Orska-Gawry, J., Surowiec, I., Szostek, B., Urbaniak-Walczak, K., Kehl, J., Wróbel M. (2004). “Chromatographic investigation of dyes extracted from Coptic textiles from the National Museum in Warsaw”. *Studies in Conservation* 49: 115-130.

Tyler, N. J., Gusta, L. V. and Fowler, D. B. (1981). "The influence of nitrogen, phosphorus and potassium on the cold acclimation of winter wheat (*Triticum aestivum* L.)." *Canadian Journal of Plant Science* 61(4): 879-885.

V

Vijay, P., Nivedita, B., ET Bellundagi, A. (2013). Ethanobotany and Qualitative Phytochemical Analysis of Some Indian Medicinal Plants. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. Four: 59-63.

Vogler, A.E., Siedlecki, A.C. (2009). Contact activation of blood-plasma coagulation. *Biomaterials*; 30:1857–1869.

W

Westendorf, J., Pfau, W. & Schulte, A. (1998). Carcinogenicity and DNA adduct formation observed in ACI rats after long-term treatment with madder root, *Rubia tinctorum* L. *Carcinogenesis*, 19, 2163–2168.

Wiethold, J. (2008, Décembre) “La gaude. Une plante tinctoriale importante de l’époque médiévale et du début de la période moderne”, *Les Nouvelles de l’archéologie*, n° 114.

Wouters, J., Rosario-Chirinos, N. (1992). “Dye analysis of pre-Columbian Peruvian textiles with High-performance liquid chromatography and diode-array detection”. *Journal of the American Institute for Conservation* 31: 237-255.

Y

Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D. and OuarKorich, M. N. (2001). Classification et mode d’action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, n° 91.

Youla, A. et Latrous I. E., (2017). Contribution à l’étude phytochimique des flavonoïdes chez l’espèce (*Melissa Officinalis* L.) et évaluation de leur pouvoir antibactérien.

Annexe

Annexe

1. Appareillage :



Agitation mécanique



Balance



Bain marie



Balance de précision



Spectrophotomètre



Rota vapeur



Plaque chauffante



Etuve

2. Réactifs utilisés pour le screening phytochimique

- Réactif de Wagner

Iodure de potassium	2 g
Iode	1,27 g
Eau distillée	100 ml

- HCl (10%)

HCl 37%	4,15 g
Eau distillée	50 ml

- KOH (10%)

KOH	5,6 g
Eau distillée	100 ml

- FeCl₃ (1%)

FeCl ₃	1,62 g
Eau distillée	100 ml

- FeCl₃ (2%)

FeCl ₃	3,24 g
Eau distillée	100 ml