

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et des Organismes

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master II en biologie

Option : Phytothérapie et Santé

Thème :

**Etude de quelques activités thérapeutiques de la
réglisse (*Glycyrrhiza glabra L.*) récolté à Médéa**

Présenté par : Midoun Fella

Le : 17/09/2015

Bouadjab Hanae

Devant le jury :

Mme : Metidji H. MAA UB1 Présidente.

Mme : Amedjkouh H. MAA UB1 Examinatrice.

Mme : Chaichi W. MAA UB1 Promotrice.

2014/2015

Remerciement

Nous remercions DIEU le tout puissant, qui nous a permis de mener à bien ce travail.

Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice

Mme. Chaichi Wissem, pour ses encouragements et sa disponibilité durant toutes les étapes de ce travail.

A tous les membres du jury qui nous ont faits l'honneur d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nos vifs remerciements vont à toutes les personnes qui nous ont aidés à réaliser ce modeste travail.

Fella et Hanae

DEDICACE

C'est avec une énorme joie et un infini plaisir, que je dédie ce modeste travail Aux deux plus chères personnes de ma vie. Pour leur soutien, leurs Encouragement, leur Affection et leur judicieux conseils qui m'ont soutenu tout au long de mes Années D'instruction, mes parents que Dieu les garde pour moi.

A Monsieur Ramdani.

A Mes sœurs : Sihem Dalila et Bakhta.

A mes frères : Yagoub et Mustapha.

Aux anges de ma famille : Islem Céline Abderrahmene Nour et Djana

Toute ma famille.

A tous mes amis.

La promo de phytothérapie et santé 2014/2015

Fella

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

A mon père allahyarhmo

A ma très chère et adorablemaman, qui m'a toujours encouragé, aidé à surmonté tous les obstaclesque j'ai rencontré dans ma vie et être à mes côtés dans les moments les plus difficiles.

A mes frères et mes sœurs.

A mes cousins et cousines.

A tous mes amis.

A tous ceux qui m'aiment.

Hanae

Résumé

L'objectif de cette étude est l'évaluation de quelques activités biologiques des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*

Une extraction de l'huile essentielle est effectuée par hydro distillation adonné un rendement de 0,30%.

Le taux d'humidité des feuilles de la réglisse est de 54,23%.

Le Screening phytochimique réalisé sur la poudre et l'infusé des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*, a révélé la présence des tanins, les flavonoïdes, les saponosides, les glycosides et les coumarines. Le test de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur milieu solide a montré que l'extrait aqueux des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* a exercé un faible effet antimicrobien sur les souches : *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* et *Escherichia coli* et un fort pouvoir antibactérien contre *Bacillus cereus*, et aucun effet de cet extrait n'est trouvé sur *Staphylococcus aureus*, *Sarcinalutea*, *Aspergillus brasiliensis*.

Alors que l'extrait méthanolique a présenté une forte activité sur les souches testées sauf sur *Sarcinalutea*, qui est légèrement inhibiteur.

Pour les deux activités anti oxydante et anti inflammatoire nous avons utilisé l'extrait aqueux.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test au DPPH a montré que les différentes doses d'extrait aqueux présentent une grande capacité de piéger le radical de DPPH avec IC50 de 0,6mg/ml. En comparaison avec l'antioxydant standard, l'Acide ascorbique (IC50 de 0,9mg/ml), l'extrait aqueux s'est révélé plus actif.

En outre, l'activité anti-inflammatoire testée sur les souris a montré que notre extrait aqueux à 10% présente une activité comparable au produit de référence (le Clofenal) avec un pourcentage de réduction d'œdème au voisinage de la moitié pour l'extrait aqueux à 5%.

La pommade préparée à base de poudre des feuilles de la réglisse a exercé une activité cicatrisante plus importante que celle de la pommade de référence Madécassol.

Mots clés : Les activités biologiques, DPPH, IC50, Carraghénine.

Abstract

The objective of this study is the evaluation of some biological activities of *Glycyrrhizaglabra* L. leaves

An essential oil extraction is performed with hydrodistillation gave a yield of 0,30%. The moisture level of the leaves of the licorice is 54.23%.

The phytochemical screening performed on the powder and infused leaves of *Glycyrrhizaglabra* L., revealed the presence of tannins, flavonoids, saponin glycosides and coumarines. The test of antimicrobial activity by the method of solid dissemination showed that the aqueous extract of *Glycyrrhizaglabra* L. leaves had a low antimicrobial effect on strains: *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Escherichia coli* and a significant antibacterial effect against *Bacillus cereus*, and no extract effects were found in *Staphylococcus aureus*, *Sarcinalutea*, *Aspergillus brasiliensis*.

While the methanol extract showed a high activity on the strains tested except *Sarcinalutea*, who is slightly inhibitory.

For both antioxidant and anti-inflammatory activities we used the aqueous extract.

The evaluation of the antioxidant activity by DPPH test showed that the different doses of aqueous extract present a high capacity to trap the DPPH radical with IC₅₀ of 0.6 mg / ml. Compared with standard antioxidant, Ascorbic acid (IC₅₀ 0,9mg / ml), the aqueous extract has proven to be more active.

In addition, the anti-inflammatory activity tested on mice showed that this aqueous extract to 10% has an activity comparable to the reference product (the Clofenal) with a percentage reduction of edema in the region of half to the aqueous extract 5%.

The ointment prepared with powdered leaves of licorice had important healing activity of the Médécassol reference ointment.

Keywords: The biological activities, DPPH, IC₅₀, Carrageenan.

:

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم بعض الأنشطة البيولوجية لأوراق عرق السوس غلابرا L. تم تنفيذ استخراج الزيت العطري عن طريق التقطير المائي السوسهـو 54.23 .

tanins, les

الفحص الكيميائي النباتي الذي أجري على مسحوق ومحلول

flavonoïdes, les saponosides, les glycosides et les coumarines.

اختبار نشاط مضادات الميكروبات من خلال طريقة الأقراص الماصة على وسط صلب أظهر أن المستخلص المائي L. كان له تأثير قليلا ضد الميكروبات المدروس في حين أظهر مستخلص الميثانول النشاط Sarcinalutea، كان المثبط قليلا .

بالنسبة للنشاطات المضادة للأوكسدة و الالتهاب استعملنا المستخلص المائي

أظهر تقييم النشاط المضاد للأوكسدة عن طريق اختبار DPPH أن العينة لجرعات مختلفة من المستخلص المائي لها قدرة عالية على اعتراض DPPH IC50 0.6 / . مقارنة مع مضادات الأوكسدة القياسي ، حمض

زاد تركيزه

(IC50 9 /)

وبالإضافة لذلك، أظهر النشاط المضاد للالتهابات اختبار هـلـالفـنـر أن هذا المستخلص المائي 10 لديهنشاطمماثل)

5

(Clofenal) نسبة تخفيض الالتهاب تصل الى النصف

المرهم الذي أعد بأوراق مسحوق عرق السوس أظهر نشاط الشفاء أكبر من (Médécassol) مرهم المرجعية.

: النشاطات البيولوجية الكراجينين DPPH , IC50

Liste des abréviations

AFNOR : Association française de normalisation.

ATCC: American Type Culture Collection.

DO : Densité Optique.

DPPH: 2,2 Diphenyle-1-Picryl-Hydrazyle.

Gram + : Bactérie Gram-positive.

Gram - : Bactérie Gram-négative.

HE : Huile essentielle.

IC50 : Concentration Inhibitrice à 50%.

MH : Milieu Mueller Hinton.

Ph: Potentiel d'hydrogène.

SAB : Sabouraud.

UFC : Unité formant colonie.

UV-Vis : Ultraviolet/Visible.

.

Liste des figures

Figure 1 : <i>Glycyrrhizaglabra L</i>	9
Figure 2: Les feuilles de <i>Glycyrrhizaglabra L</i>	10
Figure 3: Les fleurs de <i>Glycyrrhizaglabra L</i>	11
Figure 4 : La structure chimique de la glycyrrhizine.....	12
Figure 5: <i>GlycyrrhizaglabraL</i> . Photo prise à « Benchikaw » (Originale.,2015).....	15
Figure6 : Forme libre et réduite du DPPH.....	23
Figure 7 : Deux scarifications parallèles dans chaque zone.....	29
Figure 8 : Application des trois produits.....	30
Figure 9 : Protocole de l'activité cicatrisante chez les lapins.....	32
Figure10 : Sensibilité des souches étudiées vis-à-vis les deux extraits aqueux et methanolique des feuilles de <i>Glycyrrhizaglabra L</i>	36
Figure 11: Représentation graphique du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait aqueux des feuilles de la réglisse et la vitamine C.....	38
Figure 12 : Variation du poids des pattes postérieures gauche et droite pour chaque lot.....	40
Figure 13: Variation de pourcentage d'œdème des pattes gauches et droites.....	41.
Figure 14: Variation de pourcentage de réduction d'œdème des pattes gauches et droites...	42
Figure 15 : Les variations de la profondeur des plaies Traitées.....	44
Figure 16 : variation de la présence du bourgeon.....	45
Figure 17 : les variations de l'apparition de la croute.....	46

Figure 18 : Préparation de la deuxième couche des milieux de culture.....	Annexe 2
Figure 19 : Préparation de l'extrait méthanolique.....	Annexe 2
Figure 20 : Ensemencement des souches.....	Annexe 2
Figure 21 : Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche : <i>Staphylococcus aureus</i>	Annexe2
Figure22 : Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche : <i>Escherichia coli</i>	Annexe2
Figure 23 : Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche : <i>Aspergillus brasiliensis</i>	Annexe2
Figure 24 : Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche : <i>Bacillus cereus</i>	Annexe2
Figure 25 : Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Annexe2
Figure 26 : Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche : <i>Candida albicans</i>	Annexe2
Figure27 : Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche : <i>Sarcinalutea</i>	Annexe2
Figure28 : étapes de cicatrisations.....	Annexe 2

Liste des tableaux

Tableau I: Les animaux utilisés pour les expérimentations.....	16
Tableau I: Caractérisation de souches microbiennes utilisées.....	17
Tableau III: Échelle de cotation de l'activité cicatrisante.....	31
Tableau IV: Résultats du screening phytochimique.....	34
Tableau V : Valeurs d'IC50.de l'extraits des feuilles de <i>Glycyrrhizaglabra L.</i> et l'acide ascorbique.....	39
Tableau VI: Résultat de l'analyse microbiologique du produit (pommade).....	43
TableauVII: Matériel non biologique utilisé durant toutes les expérimentations....	Annexe1
Tableau VIII: L'effet des deux extraits aqueux et metanolique des feuilles de la réglisse sur la croissance des souches bactériennes testées.....	Annexe 2
Tableau IX: Absorbances et Pourcentages d'inhibition de l'acide ascorbique et de l'extrait Aqueux des feuilles de la réglisse selon la méthode de DPPH.....	Annexe 2
Tableau X: Variation du poids des pattes postérieures gauche et droite pour chaque lot.....	Annexe 2
Tableau XI : Variation de pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème des pattes gauches et droites.....	Annexe2
Tableau XII: Résultat de l'activité cicatrisante du produit.....	Annexe 2

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	----------

Chapitre I : Partie Bibliographique

I.1. Phytothérapie.....	2
I.1.1. Définition de la phytothérapie	2
I.1.2. Définition de l'aromathérapie.....	2
I.1.3. Les avantages de la phytothérapie	2
I.1.4. Place de la phytothérapie en Algérie	3
I.2. Les plantes médicinales	3
I.2.1. Définition des plantes médicinales	3
I.2.2. Moments optimales de récolte.....	3
I.2.3. Définition des métabolites secondaires	4
I.2.3.1. Les terpénoïdes	4
I.2.3.2. Les alcaloïdes	4
I.2.3.3. Les composés phénoliques	5
I.3. Les Huiles Essentielles	5
I.3.1. Composition chimique des Huiles Essentielles	6
I.3.2. Utilisation des huiles essentielles	6
I.3.2.1. En pharmacie.....	6
I.3.2.2. Dans l'industrie.....	6
I.3.3. Activités biologique des huiles essentielles	7
I.3.4. Toxicité des huiles essentielles	7
I.3.5. Extraction des huiles essentielles	7
I.4. Présentation de la réglisse <i>Glycyrrhizaglabra L.</i>.....	8
I.4.1. Etymologie de <i>Glycyrrhizaglabra L</i>	8
I.4.2. Dénominations vernaculaires internationales	8
I.4.3. Taxonomie	9
I.4.4. Description botanique de la plante <i>GlycyrrhizaglabraL</i>	10
I.4.5. Habitat et origine de <i>Glycyrrhizaglabra L</i>	11
I.4.6. Étude chimique de l'espèce <i>Glycyrrhizaglabra L</i>	11
I.4.7. Effets thérapeutiques de <i>Glycyrrhizaglabra L</i>	13
I.4.8. La toxicité de la réglisse.....	14

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériel.....	15
II.1.1. Matériel biologique.....	15
II.1.1.1. Matériel végétal	15
II.1.1.2. Matériel animal	16
II.1.1.3. Les microorganismes	16
II.1.2. Matériel non biologique	17
II.2. Méthodes.....	17
II.2.1. Extraction de l'huile essentielle de <i>Glycyrrhizaglabra L.</i>	17
II.2.2. Détermination de la teneur en eau	18
II.2.3. Préparations de l'infusé et l'extraits méthanollique	18
II.2.4. Screening phytochimique	19
II.2.5. Etude des activités biologiques	21
II.2.5.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne	21
II.2.5.2. Evaluation de l'activité anti oxydante	22
II.2.5.3. Evaluation de l'activité anti inflammatoire	24
II.2.5.4. Evaluation de l'activité cicatrisante	26

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Rendement en huile essentielle des feuilles de <i>Glycyrrhizaglabra L.</i>	33
III.2 Teneur en eau	33
III.3 Résultats du screening phytochimique	34
III.4 Résultats d'évaluation de l'activité antimicrobienne	35
III.5 Résultats d'évaluation de l'activité antioxydante	37
III.6 Résultat du test de toxicité.....	39
III.7 Résultats de l'activité anti inflammatoire	39
III.8 Résultats d'évaluation de l'activité cicatrisante	43

Conclusion48

Références bibliographiques.....50

Annexe

Introduction

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances. Une croyance bien répandue est que toute plante soigne (**Salhi et al.,2010**).

Parfois injustement méprisée, durant l'engouement pour la médecine chimique et ses nombreux effets secondaires que les remèdes de nos ancêtres permettent parfois d'éviter, la phytothérapie aujourd'hui a prouvé son efficacité et ses bienfaits incontestables dans notre vie quotidienne (**Delille.,2007**).

De ce fait, l'exploitation de nouvelles molécules bioactives ayant des effets secondaires limités ou inexistantes depuis des sources naturelles et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques sont devenues des objectifs prioritaires pour les recherches scientifiques et les industries alimentaires et pharmaceutiques (**Benbrinis.,2012**).

De part sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée (**Makhloufi.,2009**).

Dans ce contexte, s'inscrit ce présent travail de recherche dont le but principal est d'étudier les feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*, ainsi que ses activités biologiques.

Notre choix est motivé par:

- L'importance de la racine de cette plante dans la médecine traditionnelle.
- Les travaux réalisés sur les feuilles de cette plante sont rares en Algérie malgré ses effets thérapeutiques importants.

Les objectifs que nous sommes assignées sont :

- Extraction d'huile essentielle des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*
- Une contribution à la connaissance de la composition en métabolites secondaires des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*
- Evaluation de ses activités biologiques (anti-inflammatoire, antimicrobienne, antioxydante et cicatrisante).

I.1 Phytothérapie :

I.1.1. Définition de la phytothérapie :

Ce mot vient du grec phuton qui signifie « plante » et therapeia qui signifie « traitement » (Gayet., 2013).

La phytothérapie va permettre de traiter ou prévenir des pathologies « Bénignes » mais surtout de formuler un conseil après que le diagnostic ait été posé clairement (Roux et Catier.,2007).

I.1.2. Définition de l'aromathérapie :

Elle désigne une branche particulière de la médecine par les plantes. Ce terme savant est composé de deux racines grecques : aroma signifiant parfum et thérapie, Méthode visant à soigner la maladie, à soulager la maladie.

L'aromathérapie met en œuvre des essences et des huiles essentielles extraites de différentes plantes aromatiques appréciées pour leurs propriétés thérapeutiques (Scimeca et Tétou., 2005).

I.1.3. Les avantages de la phytothérapie :

Toutefois malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments décroît tels que les antibiotiques (Isrin. ,2001).

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs

pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques (Isrin., 2001).

I.1.4. Place de la phytothérapie en Algérie :

Les produits de phytothérapie sont indubitablement à la mode en Algérie comme dans le monde. Pourtant, de nombreux praticiens algériens estiment qu'il n'est pas vraiment juste de parler d'effet de mode. «Les vertus des produits phyto, appelés à l'époque plantes médicinales, sont reconnues depuis la nuit des temps, sauf que maintenant cela s'est modernisé. Au lieu de boire des infusions et d'utiliser des cataplasmes, on utilise des sirops, des gélules et autres crèmes». Affirme le Dr DjillaliChikh, interniste (Hammadi., 2010).

I.2. Les plantes médicinales :

I.2.1. Définition des plantes médicinales :

Une plante dite « médicinale » est une plante qui a des propriétés thérapeutiques (Roux et Catier., 2007).

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth et al, 1986). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Zeghad. ,2009).

I.2.2. Moments optimales de récolte:

Des études scientifiques ont permis de définir le moment optimal de la récolte.

Ainsi, sont récoltées de préférence:

- les racines au moment du repos végétatif (automne, hiver).
- les parties aériennes, le plus souvent au moment de la floraison.

- les feuilles, juste avant la floraison.
- les fleurs à leur plein épanouissement, voir en bouton (aubépine).
- les graines, lorsqu'elles auront perdu la majeure partie de leur humidité naturelle (**Kalla.,2012**).

I.2.3. Définition des métabolites secondaires :

Les plantes contiennent des métabolites secondaires qui peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température...). (**Sarnimanchado et Cheynier., 2006**).

Les métabolites secondaires se classent en de nombreux groupes, dont trois grands groupes chez les plantes :

I.2.3.1. Les terpénoïdes :

Les terpénoïdes sont des molécules à nombre de carbones multiple de 5, et dont le précurseur est l'isopentényldiphosphate ou IPP. Ce sont des lipides synthétisés à partir de l'acétyl-CoA, Les terpénoïdes sont stockés dans les vacuoles au niveau de l'écorce, des épines, des racines ou encore des feuilles. On en retrouve également dans le latex.

De nombreux terpénoïdes ont la particularité de dégager de fortes odeurs : le menthol et le limonène permettent la fabrication d'huiles essentielles. Ils sont utilisés comme antiseptiques et dans certains domaines comme la cosmétique (**Hopkins.,2003**).

I.2.3.2. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont les principaux composants du métabolisme secondaire. Ils sont stockés dans les cellules végétales au niveau des vacuoles. Ils possèdent de nombreuses propriétés pour la plante jouant un rôle de défense et sont également utilisés en médecine et pharmacie. De nombreux alcaloïdes sont utilisés en pharmacie

- La morphine est un antalgique majeur extrait des graines du Pavot Somnifère.
- La codéine est utilisée en tant qu'analgésique et antitussif.

- La quinine permet de lutter contre le paludisme.
- La scopolamine est utile au traitement de certaines douleurs et pour la prévention du mal des transports.
- L'atropine dilate les pupilles, ce qui facilite les examens ophtalmologiques.
- La vinblastine est utilisée en chimiothérapie anticancéreuse.

D'autres alcaloïdes ont des usages plus courants comme la nicotine employée dans la fabrication d'insecticides et de cigarettes, ou encore la caféine (propriétés stimulantes ou sédatives). La cocaïne est une drogue ayant une action stimulante (**Hopkins., 2003**).

I.2.3.3. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des molécules aromatiques constituées d'un groupement phényle (C6) et d'un hydroxyle (-OH). Il en existe environ 4500. On peut nommer dans cette famille les tanins, les coumarines, la lignine ou encore les flavonoïdes.

Ces composés sont typiques des plantes vasculaires et ont colonisés l'environnement aérien. La plupart de ces composés phénoliques dérivent d'acides aminés aromatiques : la tyrosine et la phénylalanine.

La lignine fait partie des fibres alimentaires qui ont un rôle bénéfique dans le transit intestinal et stimulent la flore bactérienne (diminution des risques de cancer colorectal). Les flavonoïdes sont des substances cancéro-protectrices. Les coumarines et les tanins ont des propriétés anti-oxydantes. Les coumarines dégagent une odeur rappelant la vanilline, elles sont utilisées en parfumerie et également par de grands chefs cuisiniers (**Hopkins., 2003**).

I.3. Les Huiles Essentielles :

Ce sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil offrant à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs (**Iserin., 2001**).

Ils jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière et attirer les insectes pollinisateurs (**Dunstan et al., 2013**).

I.3.1. Composition chimique des Huiles Essentielles :

Dans les plantes, les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graines (**Brunetton., 1987**).

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**El Haib., 2011**).

I.3.2. Utilisation des huiles essentielles :

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que:

I.3.2.1. En pharmacie:

Les huiles essentielles peuvent être utilisées comme:

- L'aromatisation des médicaments destinés à la voie orale.
- Pour leurs actions physiologiques (**Menthes, Verveine, Camomille**).

I.3.2.2. Dans l'industrie:

- **Parfumerie et cosmétologie:** De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles essentielles constituent des bases des parfums. Exemples: Rose, Jasmine, Vétiver, Ylang-ylang, etc.
- **Alimentation:** Les huiles essentielles (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie). Quel que soit le secteur d'activité, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante qui, malgré les progrès constants des

différentes techniques de séparation et d'identification, demeure toujours une opération délicate nécessitant la mise en œuvre simultanée ou successive de diverses techniques (**Hameurlaine., 2009**).

I.3.3. Activités biologique des huiles essentielles :

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques.

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, en particulier leurs pouvoirs antifongiques, antibactériens, antioxydants, et insecticides (**Nait Achour. ,2012**).

I.3.4. Toxicité des huiles essentielles :

La toxicité chronique des huiles essentielle est assez mal connue; on manque aussi des données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes, tératogènes ou cancérogènes.

On connaît par contre beaucoup mieux le risque de toxicité aigüe lie à une ingestion massive, en particulier la neuro toxicité des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, tanaïsie, sauge, officinale) ou à pinocomphone (hysope): Ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant l'hospitalisation (**Kalla., 2012**).

En effet, les huiles essentielles ont un pouvoir allergène suite à un contacte cutané qui peut provoquer à long terme une sensibilisation de l'organisme avec possibilité d'apparition d'une dermatite de contact, d'urticaire, d'eczéma(**MAYER F., 2012**).

I.3.5. Extraction des huiles essentielles :

Les procédés d'extraction des huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes. Une forte demande

toujours plus exigeante basée sur différents phénomènes physiques : la distillation, l'extraction ou la séparation, ces techniques d'extraction seront présentées selon le principe sur lequel elles sont basées et classées en deux catégories distinctes selon le produit final obtenu, une huile essentielle ou un extrait aromatique, parmi ces méthodes on peut citer :

1. Extraction d'huile essentielle par hydro distillation.
2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.
3. Hydrodiffusion.
4. Extraction par du CO2 supercritique.
5. Extraction assistée par micro-onde.
6. L'expression à froid.
7. L'extraction par solvants volatils(El Haib., 2011).

I.4. Présentation de la réglisse *Glycyrrhizaglabra L* :

I.4.1. Etymologie de *Glycyrrhizaglabra L* :

L'étymologie de son nom botanique nous renseigne sur ses propriétés. En grec, glykyrrhidza ou glycyrrhiza se décompose en glycys- et -rhidza qui signifient respectivement « doux, sucré » et « racine ». Le nom du genre, glabra, dérive du latin glaber qui signifie « glabre » et se rapporte à la gousse imberbe. La lettre L. est un hommage à Linné, nom du botaniste suédois ayant décrit cette espèce. Elle a été nommée ainsi en raison de la saveur sucrée de son bois (Caël., 2009).

I.4.2. Dénominations vernaculaires internationales :

- **Arab** : arq es-sus, sus, shajaret es-sus
- **Français** : réglisse, régalisse, bois doux, bois sucré, racine douce.
- **Anglais** : liquorice, sweet-wort(Goetz et al .,2010).

I.4.3. Taxonomie :

- Règne : *Plantae*.
- Embranchement : *Spermatophyta*.
- Sous embranchement : *Angiospermae*.
- Classe : *Eudicotyledonae*.
- Sous classe : *Rosidae*.
- Ordre : *Eurosida I (= Fabidées)*.
- Sous ordre : *Fabales*.
- Famille : *Fabaceae (= Leguminosae)*.
- Sous famille : *Faboideae Mimosoideae Caesalpinoideae*.
- Genre : *glycyrrhiz*.
- Espèce : *Glycyrrhiza glabra L (APG II.,2009)*.



Figure 1 : *Glycyrrhiza glabra L (Lachenani., 2012)*.

I.4.4. Description botanique de la plante *Glycyrrhizaglabra* L :

La réglisse est une plante herbacée glabre, de 30 cm à 2 m de hauteur, sa tige florifère est dressée et striée longitudinalement. Les feuilles sont relativement grandes (de 2 à 5 cm de long sur 1 à 2,5 cm de large), ovales, obtuses et alternes. Elles sont composées de 7 à 17 folioles. (Cael., 2009).



Figure 2: Les feuilles de *Glycyrrhizaglabra* L (Cael., 2009).

Les fleurs, normalement de coloris bleu, peuvent être plus ou moins violacées. Celles-ci sont relativement petites (10 à 13 mm de longueur) et groupées en grand nombre (20 à 30 fleurs), en grappes allongées. Les rameaux florifères sont plus courts que les feuilles. Le fruit, oblong, est une gousse très aplatie, bosselée par les graines, mesurant 20 à 30 mm de longueur, sur 4 à 6 mm de largeur, à sutures épaisses. (Cael., 2009).



Figure 3: Les fleurs de *Glycyrrhiza glabra* L (Heymonet., 2013)

Les racines sont grosses, ligneuses, traçantes, jaune à l'intérieur et marron foncé à l'extérieur, aromatiques, sucrées et forment des rhizomes cylindriques (Cael., 2009).

I.4.5. Habitat et origine de *Glycyrrhiza glabra* L :

La réglisse est une plante originaire de Chine, mais cultivée surtout dans un large bassin méditerranéen, elle est cultivée en Espagne depuis le X^{ème} siècle et en Italie depuis le XIII^{ème} siècle. La réglisse se naturalise rarement. Le principal exportateur de racine est actuellement la Turquie ; pour la poudre c'est la Chine. L'Italie les transforme en rubans et pastilles (Henry., 1991).

I.4.6. Étude chimique de l'espèce *Glycyrrhiza glabra* L :

D'une façon générale, elle renferme :

1. eau : 48 % pour la racine fraîche et 8 % pour la racine sèche.
2. matières minérales (cendres) : 2 à 6 % de fer, manganèse, zinc, baryum,
3. glucides : 20 à 30 % d'amidon, 1,3 à 3 % de glucose, 2,5 % de glucose, du mannitol, et des polysaccharides comme glycyrrhizane GA,

4. lipides : 0,5 à 1 %,
5. résines : 5 à 14 %,
6. composés volatils aromatiques : environ 0,04 à 0,06 % d'anéthole, estragole, géraniol, acides aliphatiques, aldéhydes, cétones, alcools et hydrocarbures, qui sont responsables de l'arôme de la réglisse,
7. phytostérols : glizestrone, stigmastérol, -sitostérol.
8. asparagine (2 à 4 %), gommes, albumine, pectine, cire, lignine, acides aminés (**Petit. ,2011**).

Les principes actifs de la réglisse appartiennent à:

I. 4.6.1. Saponosidestriterpéniques :

Les saponosides représentent 2 à 15 % de la masse de la drogue sèche avec principalement la glycyrrhizine, et un mélange de sels de potassium et de calcium correspondants. La glycyrrhizine possède un pouvoir sucrant 50 fois supérieur au sucre de canne (**Heymonet., 2013**).

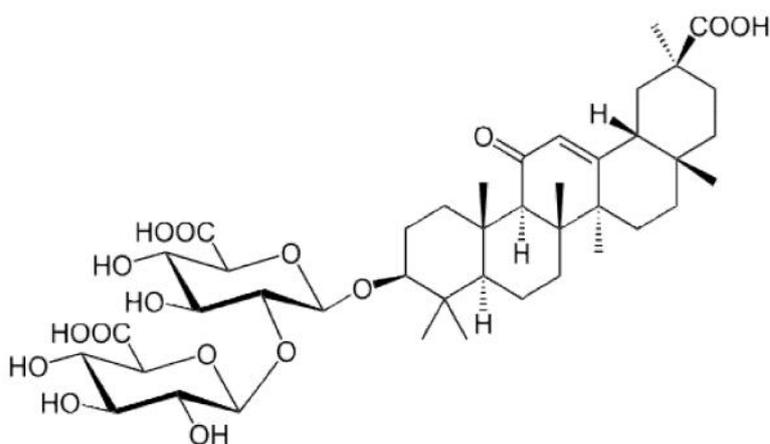


Figure 4 : La structure chimique de la glycyrrhizine (**acide glycyrrhizique**) (**Heymonet. ,2013**).

Ces molécules ont plusieurs propriétés : elles sont immunodépressives de l'immunité innée et acquise, anti-inflammatoires, antibactériennes et antifongiques (**Bachelet .,2013**).

I.4.6.2. Composés phénoliques :

- **Les flavonoïdes sont classés en différentes familles :**

- Flavanones : des liquiritosides (liquiritigénine, liquiritine...)
- Flavones et pyranoflavones : hispaglabrine, hispaglabridine et glabridine,
- Isoflavones : formononétine,
- Chalcones: licochalcones, isoliquiritigénine, isoliquiritine.
- Isoflavonols, isoflavènes et coumestanes(**Bruneton., 1999**).

Ces Molécules ont des propriétés anti-inflammatoires et anti-enzymatiques, Ils jouent de plus un rôle dans la protection des muqueuses contre les micro-organismes pathogènes (**Bachelet .,2013**).

- **Les polysaccharides :**

La racine de réglisse renferme 25 à 30 % d'amidon et environ 10 % d'autres polysaccharides dont le constituant majeur est le glycyrrhizane GA ainsi que deux autres polysaccharides acides GPI et GPII respectivement à effet immunomodulateur et mitogène (**Heymonet., 2013**).

La Réglisse est également composée des coumarines antibactériennes (glycyrol, glycyrine et glycy coumarine) (**Bachelet .,2013**).

I.4.7. Effets thérapeutiques de *Glycyrrhizaglabra L* :

Glycyrrhizaglabra L a longtemps été utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires, antiulcéreuses, expectorantes, antibactériennes.

Depuis quelques années, on lui découvre de nouvelles activités, notamment antivirales et anti cancéreuses. Certaines de ces propriétés restent encore à prouver chez l'homme.

La médecine chinoise lui reconnaît les mêmes propriétés que la médecine traditionnelle et lui accorde en plus, la capacité d'augmenter l'énergie vitale, de purifier le corps des toxines et du 'feu' (la mauvaise énergie) et de calmer les instabilités émotionnelles (**Caël., 2009**).

Par application externe, La réglisse est employée dans le traitement de l'acné et des dermatites inflammatoires, Elle est aussi retrouvée dans le traitement de plaies, inflammation des paupières, les gingivites et en cosmétologie pour les peaux irritées, sensibles (**Ghediraet al.,2010**).

I.4.8.La toxicité de la réglisse :

La réglisse n'est pas une plante toxique. Cependant, sa consommation excessive et prolongée peut entraîner des troubles consécutifs à son activité minéralocorticoïde. En réalité, ces intoxications sont rares puisqu'elles nécessitent une prise très élevée et prolongée de la substance (**Ghediraet al., 2010**).

La racine et les stolons de la réglisse renferment de nombreuses molécules dont la glycyrrhizine et son aglycone l'acide glycyrrhétic. La structure chimique de ce dernier présente quelques similitudes avec celle des hormones surrénaliennes. De par ce fait, l'acide glycyrrhétic est responsable des troubles qui peuvent être observés lors d'une consommation déraisonnable de produits à base de réglisse. (**Bruneton .,2005**).

II.1. Matériel :

Notre étude expérimentale s'est étalée sur une période de trois mois, de mois de Mai jusqu'au Juillet 2015. Les différentes expérimentations que nous avons réalisées, ont été faites dans les structures suivantes :

- Le laboratoire de phytopharmacie département d'agronomie université Blida 1, pour faire l'extraction d'huile essentielle des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*
- Le laboratoire de fin d'étude (PFE) département de biologie, université Blida 1, pour réaliser le screening phytochimique et l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Glycyrrhizaglabra L.* par méthode de réduction des radicaux libres DPPH.
- Le laboratoire d'hygiène et sécurité de la wilaya de Blida pour la mise en évidence de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de *GlycyrrhizaglabraL.*
- le laboratoire de pharmacotoxicologies -Micobiologie-physico chimie Filiale ANTIBIOTICAL- SAIDAL de Médéa pour réaliser l'activité anti-inflammatoire et cicatrisante de *Glycyrrhizaglabra L.*

II.1.1. Matériel biologique :

II.1.1.1. Matériel végétal :

La figure suivante montre notre matériel végétal dans le lieu de récolte :



Figure 5: *GlycyrrhizaglabraL.* Photo prise à « Benchikaw »
(Originale.,2015)

- **Récolte** : Les feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* ont été récoltées au mois d'avril 2015, dans la wilaya de Médéa, région de « Benchikaw ».
- **Identification** : L'identification botanique de *Glycyrrhizaglabra L.* a été faite par Mme Bentaoula (botaniste à la direction du développement agricole de la wilaya de Médéa).
- **Traitements préliminaires des Feuilles** :

Les feuilles fraîchement récoltées sont séchées à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant une semaine. Une fois séchées, les feuilles sont broyées à l'aide d'un broyeur maison, une poudre plus ou moins fine est obtenue (Chouitah, 2012).

II.1.1.2. Matériel animal :

Pour la réalisation de la partie expérimentale, nous avons utilisé des lapins et des souris provenant de l'animalerie du laboratoire de Pharmacotoxicologie du Complexe Antibiotique SAIDAL, Médéa.

Animal	Race	Poids	Nombre de lots	Nombre d'animaux par lot	Activité
Souris	Albinos	17-24 g.	1	5	Test de toxicité
Souris	Albinos	17-24 g.	4	5	Anti inflammatoire
Lapin	Californien	2500 à 3500g	6	1	Cicatrisante

Tableau I: Les animaux utilisés pour les expérimentations.

II.1.1.3. Les microorganismes :

Les souches utilisées ont été fournies par le laboratoire d'hygiène et sécurité de la wilaya de Blida. Ces souches, ont été identifiées et caractérisées par l'Institut PASTEUR d'Algérie (IPA).

Nous avons utilisé sept souches microbiennes récoltées dans le tableau suivant :

Les souches utilisées		Références
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
	<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	ATCC 27853
Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
	<i>Sarcinalutea</i>	Culture
Levures	<i>Candidaalbicans</i>	ATCC 24433
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Culture

Tableau II: Caractérisation de souches microbiennes utilisées.

II.1.1.4. Matériel non biologique :

L'ensemble du matériel de laboratoire (verrerie, réactifs, appareillage) utilisé au cours de notre travail expérimental, sont regroupés en Annexe I.

II.2. Méthodes :

II.2.1. Extraction de l'huile essentielle de *Glycyrrhizaglabra L.* :

Le matériel végétal séché est soumis à une hydro distillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clevenger. Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale séchée (**Feuille *Glycyrrhizaglabra L.***) dans un grand ballon en verre, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium anhydre, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile et enfin conservée dans des flacons

opaques bien scellés à température basse (4-5 C°). L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition (GoumniatSalhi., 2013).

- **Observation macroscopique de l'huile récoltée.**

- **Calcul du rendement :**

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite Ph et le poids de la plante traitée Pv. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R = \text{Ph}/\text{Pv} \times 100 \quad (\text{MAKHLOUFI., 2009})$$

II.2.2. Détermination de la teneur en eaux :

Le contenu en humidité des plantes a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve (à 105°C) et de peser chaque une heure la plante jusqu'au l'obtention d'un poids constant (La différence entre deux pesées consécutives n'est pas significative) (Simpson., 1999).

$$H\% = (A - B / A) 100$$

Avec :

A : Poids de la plante fraîche.

B : Poids de la plante sèche.

H (%) : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

II.2.3. Préparations de l'infusé et l'extraits méthanollique :

- **Préparation de l'extrait aqueux infusé:**

A 10 g de poudre végétale, sont ajoutés à 100 ml d'eau distillée bouillante, laissé infuser pendant 15 min avec agitation de temps en temps, le filtrat est ajusté à 100 ml d'eau distillée (Bruneton., 1999).

Nous avons effectué une dilution pour avoir l'extrait aqueux à 5%.

- **Préparation de l'extrait méthanolique :**

L'extrait méthanolique des Feuilles *Glycyrrhizaglabra L.* a été préparé à partir de 50 g de broyat des feuilles, qui ont été mis à macérer dans un mélange de 60 ml de méthanol et 140 ml d'eau à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24 heures, avec un maximum d'agitation. Ensuite le mélange est filtré sur la gaze et une deuxième fois sur papier Wattman

Les filtrats obtenus sont additionnés et évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 40 - 50 °C. L'extrait sec est conservé au réfrigérateur (Harrar.,2012).

II.2.4. Screening phytochimique :

Le but de ces tests est de connaître la composition en métabolites secondaires de *Glycyrrhizaglabra L.*

Nous avons suivi pour les réactions du Screening phytochimique le protocole du (BRUNETON, 1999).

- **Caractérisation de quelques métabolites secondaires de *Glycyrrhizaglabra L.***

- a. Caractérisation des Anthocyanes :**

A 5 ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'ammoniaque ½.

L'apparition d'une couleur rouge, indique la présence des anthocyanes.

- b. Caractérisation des leuco anthocyanes :**

2 g de poudre végétale, sont additionnés à 20 ml d'un mélange de propanol / acide chlorhydrique (v/v).

Le mélange est porté à l'ébullition dans un bain-marie pendant quelques minutes.

L'apparition d'une couleur rouge indique la présence des leuco-anthocyanes.

- c. Caractérisation des tanins :**

A 5 ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 5%.

La réaction donne une coloration bleue noir en présence des tanins.

d. Tanins galliques :

A 5 ml d'infusé, sont ajoutés 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl_3 .

La réaction donne une coloration bleue foncée en la présence des tanins galliques.

e. Les flavonoïdes :

A 5 ml d'infusé, sont additionnés 5 ml d'HCL, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool isoamylique.

La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

f. Les saponosides :

A 2 ml d'infusé, sont additionnés quelques gouttes d'acétate de plomb.

Un précipité blanc est formé en présence des saponosides.

g. Les glucosides :

A 2 g de poudre végétale, sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique.

La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

h. Les coumarines :

2 g de poudre végétale sont mis à l'ébullition dans 20 ml d'alcool éthylique (éthanol), pendant 15 minutes dans un bain-marie puis filtrer. A 5 ml du filtrat, rajouter 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH et quelques gouttes d'HCL à 10%. La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.

i. Les quinones :

• **Les quinones libres :**

2 g de poudre végétale humectée par HCL à 1N, sont mis en contact pendant 3 heures dans 20 ml de chloroforme, puis filtrer. Le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque 1/2.

La formation d'une coloration rouge indique la présence des quinones libre.

• **Les quinones combinées :**

2g de poudre végétale, sont additionnées à 5ml d'acide sulfurique 2N et portées au reflux pendant 2 heures. La solution extraite est filtrée puis épuisée par 20ml de chloroforme, la solution chloroformique est évaporée à sec (en bain marie sous la hotte ventilée), puis ajouter l'ammoniaque.

La réaction donne une coloration rouge en présence des quinones combinées.

II.2.5. Etude des activités biologiques :

II.2.5.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne :

Cette activité a pour but d'étudier qualitativement l'effet antimicrobien de L'infusé et l'extrait méthanollique de *Glycyrrhizaglabra L.* par la méthode de diffusion sur milieu solide.

a. Principe :

Des disques absorbants stériles de 9mm sont imprégnés d'une quantité d'extrait aqueux ou méthanollique à tester, et sont déposés sur une gélose inoculée avec les souches testées. La diffusion de ces extraits à tester dans la gélose permet d'avoir après incubation une zone d'inhibition.

La lecture des résultats après incubation est faite par mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenus pour chacune des souches.

b. Protocol expérimental, (Pharmacopée européenne ,2008) :

➤ Préparation de la première couche de milieu :

- Faire fondre les milieux Mueller-Hilton (MH) et Sabouraud (SAB) dans un bain marie à 95°C.
- Verser aseptiquement une première couche des deux milieux dans des boites de Pétri à raison de 20ml par boite.
- Laisser refroidir et solidifier sur la paillasse.

➤ Préparation de l'inoculum :

- A partir d'une culture jeune de 18 à 24 h pour les bactéries et 48h pour les levures, réaliser des suspensions microbiennes troubles en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées, qu'on dépose dans 5 à 10 ml d'eau physiologique.
- Agiter au vortex.

NB : l'inoculum doit être utilisé dans les 15 min suivant sa préparation.

➤ **Préparation de la deuxième couche du milieu :**

- Faire fondre les milieux MH et SAB,
- Laisser refroidir jusqu'à une température de 45°C,
- Ensemencer 50 ml du milieu MH et SAB avec 200µl de chaque suspension,
- agiter manuellement,
- Déposer rapidement 6ml de chaque milieu et ensemencer sur la surface de la première couche de gélose solidifiée,
- Etaler la couche en faisant pivote la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme,
- Laisser solidifier sur paillasse.

➤ **Dépôt des disques :**

- A l'aide d'une pince stérile, prélever à chaque fois un disque stérile .Ce disque est imbibé avec l'échantillon à tester (L'infusé et l'extrait méthanolique des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*) en mettant seulement 25µl qui vont être absorbé progressivement jusqu'à imprégnation totale de tout le disque,
- Déposer les sur la surface de la gélose,
- Laisser diffuser les boites sur paillasse pendant 30 min,
- Incuber à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures.

II.2.5.2.Evaluation de l'activité anti oxydante :

Cette activité a pour but d'étudier le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de *Glycyrrhizaglabra L.* par la méthode au DPPH (Test de piégeage du radical libre DPPH).

a. Principe

Le DPPH est un radical stable ; cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en (2,2 Diphényl-1- pieryl hydrazine) de couleur jaune (**Tundieta**., 2012).

On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :

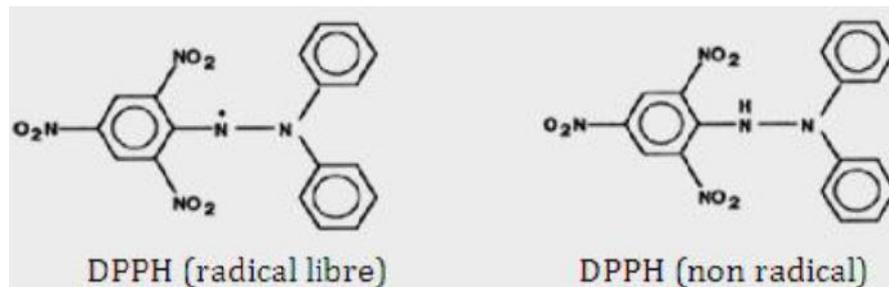


Figure 6: Forme libre et réduite du DPPH (**Brand-Williams**et al., 1995).

b. Mode opératoire (Pharmacopée européenne ,2008) :

- **Préparation de la solution DPPH :**

La solution de DPPH (C₁₈H₁₂ N₅ O₆) est préparée par solubilisation de 2,4mg de DPPH dans 100ml de Méthanol absolu.

- **Préparation des échantillons :**

L'échantillon a été préparé par dissolution dans le méthanol absolu.

Nous avons préparé des dilutions pour avoir différentes concentrations de notre échantillon (extrait aqueux de *Glycyrrhizaglabra L.*) :1/0.8/0.6/0.4/0.2 mg/ml

- **Test au DPPH :**

Le test du DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par (**Mansouri**et al.,2005), où 25µl de chaque solution méthanolique de l'extrait testé à différentes concentrations sont ajoutés à 975 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,024g/l), le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30min.

Après 30 min, la décoloration des mélanges par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm, nous procédons de la même manière pour l'antioxydant de référence : l'Acide ascorbique.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (% d'inhibition) :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

- **Calcul des IC50 :**

L'IC50 ou concentration inhibitrice de 50 %, c'est la concentration de l'échantillon testé qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Ces IC50 sont déterminées graphiquement à partir des graphes tracés, dont l'abscisse représente la concentration des fractions testés et l'ordonnée représente l'activité antioxydante en pourcentage.

II.2.5.3. Evaluation de l'activité anti inflammatoire :

- ❖ **Test de toxicité limite :**

Avant d'étudier l'activité anti-inflammatoire nous avons réalisé un test de toxicité dans le but de chercher la toxicité de notre plante chez les souris.

- **Principe de test de toxicité :**

L'essai consiste à chercher chez la souris des symptômes anormales ou des mortalités après administration d'une dose unique efficace du produit à tester.

- **Protocole :(Pharmacopée européenne 1997)**

- L'essai est pratiqué sur 5 souris privées de nourriture pendant 18 heures mais recevant de l'eau.
- Administrer à chaque souris par voie orale (1ml) du produit à tester (dans notre cas extrait aqueux des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* dosé à 10%.
- Les animaux sont mis en observation pendant 24 heures jusqu'à 5 jours dans les conditions habituelle de température et d'alimentation.
- L'essai est satisfaisant si aucun des animaux ne meurt dans les 24 heures qui suivent l'administration du produit à tester

- ❖ **Activité anti-inflammatoire :**

La mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode de Levy, citée par (Berkan et al. ,1991).

➤ **Principe :**

Le principe de ce test consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de notre extrait à différentes doses, chez les souris, en provoquant l'inflammation sur l'œdème des pattes gauches par une injection de carraghénine.

L'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire des pattes gauches des souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par notre extrait.

➤ **Choix des doses :**

- L'extrait aqueux de *Glycyrrhizaglabra L.*, à différentes doses : 5%, 10%.
- Clofénal 1% : anti-inflammatoire utilisé en médecine, a été pris comme référence pour vérifier l'efficacité anti-inflammatoire de notre extrait.

➤ **Préparation des lots :**

- 4lots de 5 souris ont été préparés :
- Un lot témoin.
- Un lot d'essais 1 de 5%
- Un lot d'essais 2 de 10%
- Un lot de référence.

Les souris ont été mises à jeûne 18h avant le test avec accès par gavage.

➤ **Mode opératoire :**

• **Au temps T₀ :**

Administrer aux 4 lots les suspensions suivantes :

- Le témoin : chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau physiologique.
- Lot essais 1 : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'extrait aqueux des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* à 5%.
- Lot essais 2 : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'extrait aqueux de des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* à 10%.
- Lot de référence : chaque souris reçoit 0,5 ml de produit de référence (Clofénal).

• **Au temps T = 30 minutes :**

- Injecter la solution de carraghénine 1%, sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche à raison de 0,025 ml à toutes les souris mis en expérience.

- **Au temps T₀+ 4 h :**

- Sacrifier toutes les souris mis en expérience par une forte concentration d'éther di éthylique.
- Couper les pattes postérieures à hauteur de l'articulation
- Peser les pattes droites et gauches des souris avec une balance analytique.

- **Expression des résultats :**

- Calculer les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot.
- Calculer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) par la formule suivante :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{moyennedespoidsdelapattegauche} - \text{moyennedespoidsdespattesdroite} \times 100}{\text{moyennedespoidsdespattesdroite}}$$

- Calculer le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins.

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\%}{\frac{\text{l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème traité}}{\% \text{ de l'œdème témoin}}} \times 100$$

II.2.5.4. Evaluation de l'activité cicatrisante :

La recherche de la propriété cicatrisante des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* est réalisé selon le protocole suivit par (Pourrat.,1993).

- **Principe :**

Ce test consiste à évaluer l'activité cicatrisante d'une pommade formulée à base des feuilles *Glycyrrhizaglabra L.* sur des scarifications cutanées profondes à la limite des saignements chez les lapins et comparer son activité par rapport à une autre pommade de référence.

➤ **Mode opératoire :**

• **Préparation de la pommade (méthode mentionnée par la pharmacopée européenne 1997) :**

Pour avoir une pommade à base de feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* d'une concentration de 20% et de 100 g de poids, les constituants suivants sont pesés à l'aide d'une balance analytique de précision :

- 20 g de poudre de feuilles séchées, fine et stérile (stérilisé suite à une exposition à l'UV sous une hotte à flux laminaire pendant 20 min).
- 30g de l'huile de vaseline.
- 50g de vaseline.

La pommade est préparée dans un mortier en porcelaine à la température ambiante du laboratoire, dans les conditions d'asepsie rigoureuses (Sous hottes à flux laminaire).

La vaseline est portée au bain marie à 36°C pour faciliter le malaxage et pour y pouvoir dissoudre plus facilement la poudre (**Le Hir., 2001**).

Le malaxage du mélange doit être effectué jusqu'au complet refroidissement afin d'éviter la séparation des constituants.

La pommade a été conditionnée dans des boites fermées stérilisées pour éviter toute contamination extérieure.

• **Contrôle physicochimique et microbiologique de la pommade :**

✓ **Mesure du Ph :**

Pour connaître le Ph de la pommade ,10g de cette dernière sont triturés avec de l'eau distillée dont le Ph est ensuite mesuré par un Ph mètre. Selon la pharmacopée européenne 1997 les normes de pH est: 6 pH 8.

✓ **Homogénéité de la pommade :**

Vérifiermacroscopiquement par étalement de la pommade en couche mince sur une surface plane (paillasse du laboratoire) à l'aide d'une spatule (Le Hir, 2001).

• **Contrôle microbiologique de la pommade :**

Les analyses microbiologiques ont pour but de rechercher les germes responsable de toute contamination du produit fini (pommade), le protocole suivi est celui énuméré par la **pharmacopée européenne en 1997**.

- ✓ **Préparation de l'échantillon** : 10g de pommade sont pesés et introduits dans un flacon de 100ml de solution tampon pH 7, puis chauffés au bain marie à 45°C jusqu'à l'obtention d'une émulsion.
- ✓ **Dénombrement des germes aérobies viables totaux** : à l'aide d'une pipette stérile 1ml de l'émulsion préparée et 20ml de milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (Soja agar) liquéfié dont la température n'est pas supérieure à 45°C sont introduits dans une boîte de Pétrie qui est ensuite remuée dans le sens circulaire et laissée reposer jusqu'à solidification puis incubée à 35°C pendant 5 jours pour faire le dénombrement.
- ✓ **Dénombrement des moisissures et levures** : la même procédure citée précédemment est suivie en utilisant cette fois le milieu gélose Sabouraud liquéfié qui est incubé à 25°C pendant 5 jours pour faire le dénombrement.

Remarque :

Le nombre de germes aérobies viables totaux est la somme du nombre de bactéries et du nombre de moisissures et levures trouvées dans les deux boîtes des milieux Soja agar et Sabouraud.

- **Recherche des entérobactéries et autres grammes négatif** : 10ml de l'émulsion sont introduites dans 90 ml du milieu liquide lactosé (BL) à l'aide d'une pipette stérile et incubés à 35°C pendant 2h. Après incubation, le flacon est bien agité d'où on prélève 1ml de la solution prélevée dans un tube contenant 9ml du milieu d'enrichissement Mossel stérile, ce dernier est incubé à 35°C pendant 2h. Une subculture est effectuée sur le milieu gélosé d'isolement XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate) et incubé à 35°C pendant 24h.
- **Recherche de *Staphylococcus aureus*** : à l'aide d'une pipette stérile, 10ml de l'émulsion sont introduite dans 90 ml du milieu liquide aux peptones de caséine et de Soja (BS), et incubé à 35°C pendant 24h, une structure est ensuite réalisée sur milieu gélosé Chapman et incubée à 35°C pendant 24h.

L'apparition de colonies dorées et la dégradation de la couleur du milieu confirme la présence de *Staphylococcus aureus*.

- **Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*** : à partir du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja (BS) précédemment ensemencé, une culture sur milieu gélosé cétrimide (CAB) est réalisée puis incubée à 35°C pendant 24h.

L'apparition des colonies verdâtres et le virement de couleur du milieu de culture confirme la présence de *Pseudomonas aeruginosa*.

- **Recherche d'*Escherichia coli***: le milieu liquide aux peptones de caséine et de Soja(BS) est ré incubé à 43°C pendant 24h, dépassé ce délai des subcultures sont faites sur milieu gélosé éosine bleu de méthylène(EMB) et incubés à 35°C pendant 24h.

La présence de colonies rouges indique une présomption d'*Escherichia coli*.

➤ **Essai pharmacologique de la pommade :(Pourrat.,1993).**

• **Mode Opérateur :**

Nous avons réalisé notre étude sur 6 lapins, Sur chacun d'entre eux trois zones distinctes sont délimitées sur l'une des faces dorsales de surface environ 18 cm² à l'aide d'une tendeuse électrique.

Dans chacune des trois zones on effectue deux scarifications parallèles à la limite du saignement à l'aide d'une aiguille de seringue stérile comme le montre la figure 7.



Figure 7 : Deux scarifications parallèles dans chaque zone (Originale., 2015).

Sur la figure 8 c'est l'étape d'application du traitement pour chaque lot :

- Zone 1 : L'application du produit à tester Pommade a base des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*
- Zone 2 :L'application du témoin blanc,la vaseline.
- Zone 3 :L'application du produit de référence Pommade cicatrisante Madécassol.



Figure 8 : Application des trois produits (Originale., 2015).

Afin de suivre l'évolution de processus de la cicatrisation durant 14 jours, un examen macroscopique est réalisé, une échelle de cotation a été fixée en tenant compte de quatre paramètres :

- La profondeur de la plaie.
- L'apparition ou non d'œdème.
- La présence ou non d'un bourgeon.
- L'épaisseur de la croûte.

Chacun de ces quatre paramètres est qualifié par une valeur numérique de 0 à 4, définie dans le tableau suivant :

	Profondeur	Bourgeon	œdème.	L'épaisseur de la croute
0	Profonde nulle	Absence de bourgeon	Pas d'œdème	Pas de croute
1	Légèrement creusée	Petit bourgeon	Très léger	Début de croute
2	Peu profonde	Gros bourgeon	Œdème Visible	croute en voie d'épaississement
3	Assez profonde	Bourgeonnement Massif	Œdème Moyen	Croute épaisse
4	Très profonde	Excès de bourgeonnement	œdème grave	Croute très Epaisse, Granuleuse

Tableau III: Échelle de cotation de l'activité cicatrisante (Pourrat.,1993)

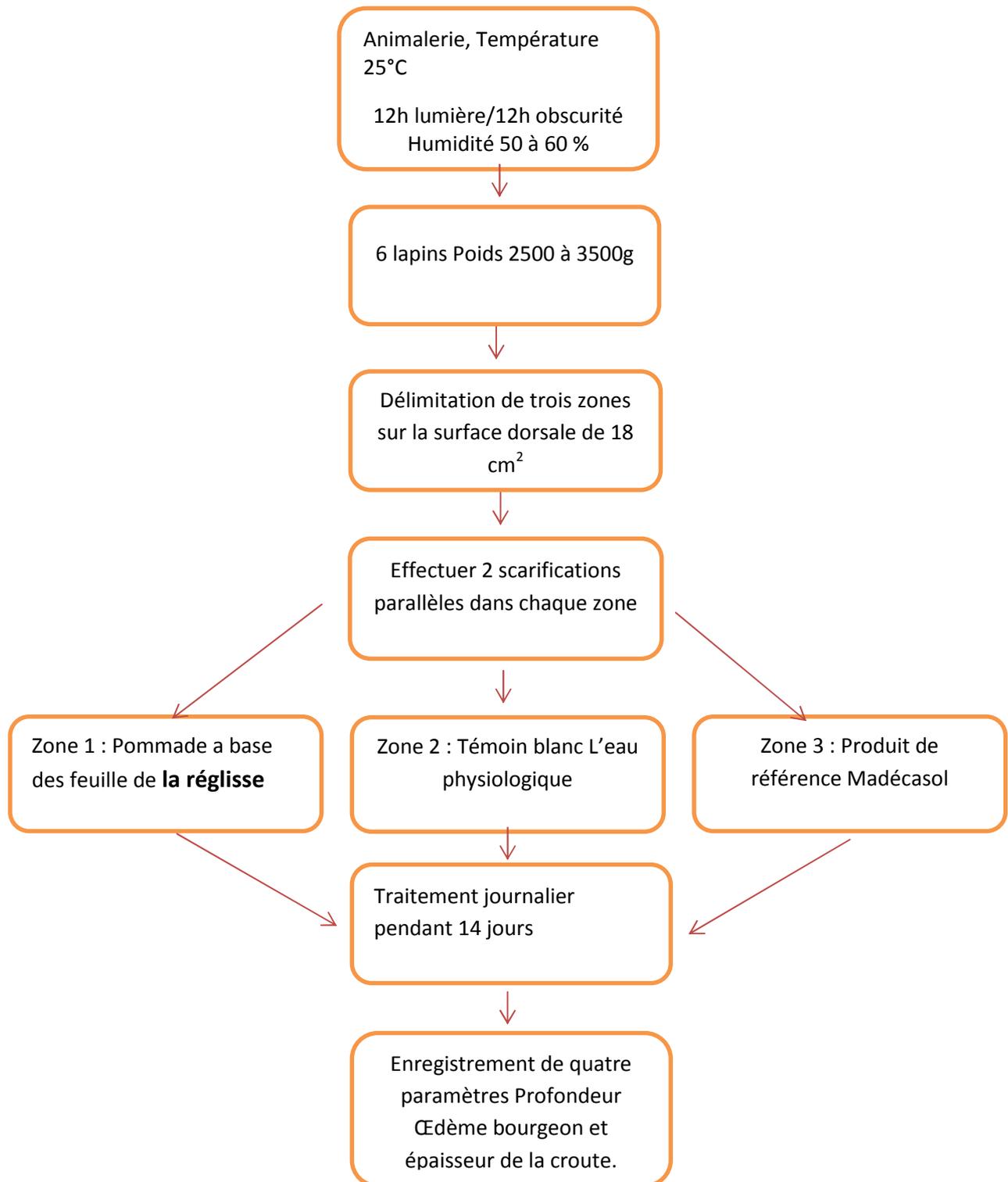


Figure 9: Protocole de l'activité cicatrisante chez les lapins (Pourrat.,1993).

III. Résultats et discussion :

III.1. Contrôle macroscopique et rendement en huile essentielle des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* :

Selon Afnor en 2000 les huiles essentielles sont généralement liquides à température ambiante et volatiles. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en générale inférieure à celle de l'eau.

La couleur de l'huile essentielle des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* est jaune claire, elle est mobile.

Dans notre étude le rendement en huile essentielle des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* calculé en fonction de la masse végétale sèche est de 0.30%. Cette quantité est faible par rapport à l'étude faite par (Chouitah, 2012), qui a trouvé un rendement de 0.65% en huile essentielle des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* récoltées dans la région de Rélizane.

Lachenani en 2012 a montré que les rendements en huile essentielle des tiges séchées de *Glycyrrhizaglabra L.* récoltées dans la région de « Benchikaw » est de 0.022%. Les variations dans le rendement en huile essentielle peuvent être attribuées non seulement à la nature de la plante, le moment de récolte et les techniques d'extraction, mais aussi à l'origine géographique et la partie utilisée de la plante.

Remarque : Nous avons obtenu une faible quantité d'huile essentielle, pour cela nous avons réalisé les tests d'activités biologiques en utilisant l'extrait aqueux.

III.2. Teneur en eau :

Les plantes sont riches en eau, ce dernier est nécessaire pour le métabolisme cellulaire, les analyses de notre plante ont révélées une teneur en eau importante (54,23%) ce qui signifie que l'eau constitue plus que la moitié du poids total de notre plante fraîche.

III.3. Résultats du screening phytochimique :

Ces tests ont été effectués pour mettre en évidence la présence de certains métabolites secondaires, qui peuvent être responsables des activités biologiques étudiées. Les résultats sont indiqués dans le tableau :

Composés	Couleurs	Réactions
Anthocyanes	–	–
Leuco-anthocyanes	–	–
Tanins Totaux	Bleu noir	+
Les tanins galliques	Bleu foncé	+
Flavonoïdes	Rouge orangé	+
Saponosides	Formation d'un précipité Blanc	+
Glycosides	Violette	+
Coumarines	La formation d'un Trouble	+
Quinones libres	–	–
Quinones combinés	–	–

Tableau IV: Résultats du screening phytochimique.

(+) : Réaction positive / (-) : Réaction négative.

Le test phytochimique réalisé sur la poudre et l'infusé des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* révèle la présence de plusieurs familles de métabolites.

Ces résultats montrent que la plante est très riche en polyphénols tel que : les Tanins totaux; les Tanins galliques ; Saponosides ; les Flavonoïdes et les glycosides.

On note aussi la présence des coumarine, d'autre part, l'absence remarquable des Quinones libres et combinés et des anthocyanes et leuco anthocyanes .

Nos résultats sont en conformité avec ceux obtenus par (CAËL,,2009) qui a montré dans ses travaux sur la même plante la présence des tanins, des flavonoïdes, des coumarines, et des glycosides.

III.4.Résultats d'évaluation de l'activité antimicrobienne :

Nous avons étudié in vitro l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides, Mueller -Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons.

L'activité antimicrobienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'un Pied à Coulisse le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques.

- Présence de zone claire autour de disque : présence d'activité inhibitrice.
- Absence de zone claire autour de disque : absence d'activité inhibitrice.

Selon l'échelle (Elaetal., 1996) :

Fortement inhibitrice lorsque : diamètre de ZI >28 mm

Modérément inhibitrice lorsque : 16mm > diamètre de ZI < 28mm

Légèrement inhibitrice lorsque : 10mm > diamètre de ZI < 16mm

Non inhibitrice lorsque : diamètre de ZI < 10mm.

Ces résultats sont représentés sur la figure suivante :

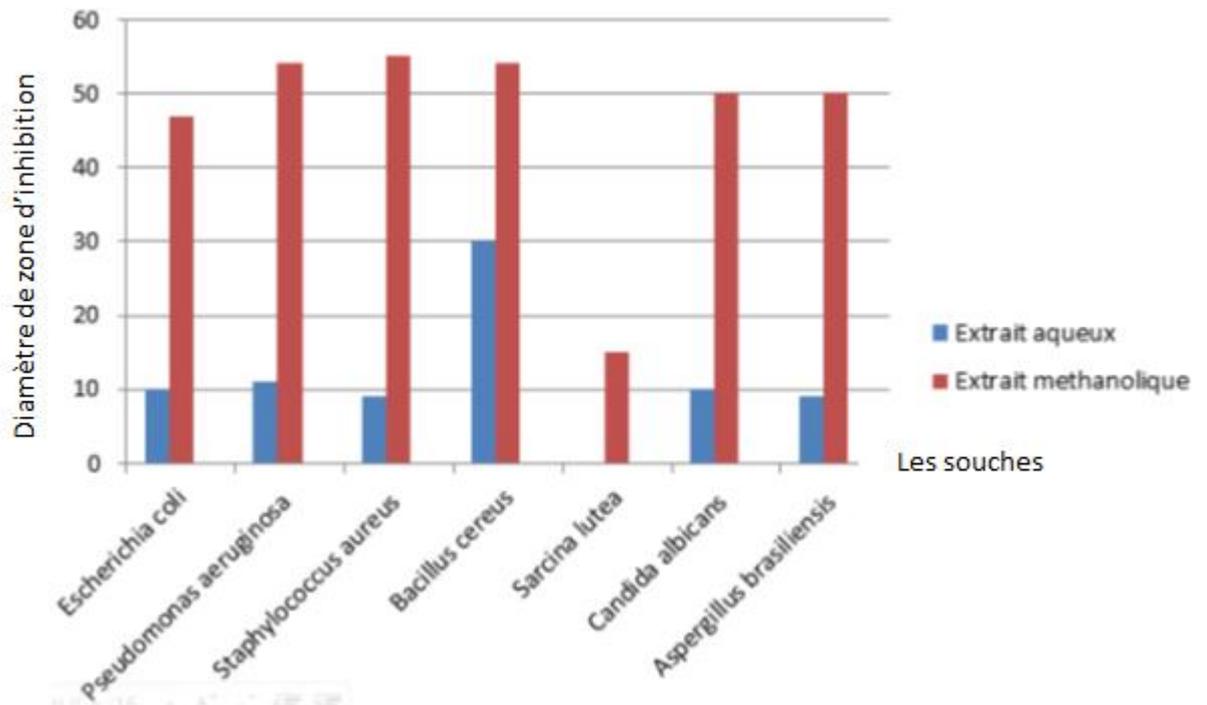


Figure10 : Sensibilité des souches étudiées vis-à-vis les deux extraits aqueux et methanolique des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*

Selon l'échelle de (Elaet *al.*, 1996), et d'après la **figure10** nous constatons que l'extrait aqueux des feuilles de la réglisse a eu un fort effet sur *Bacillus cereus* avec un diamètre d'inhibition de 30 mm.

Sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* et *Escherichia coli* l'extrait aqueux des feuilles de la réglisse est légèrement actif avec des diamètres d'inhibition égale à : 11mm, 10mm, 10mm respectivement.

Par contre, nous n'avons remarqués aucun effet d'extrait aqueux des feuilles de la réglisse sur *Staphylococcus aureus*, *Sarcinalutea*, *Aspergillus brasiliensis*.

L'extrait methanolique des feuilles de la réglisse a une activité fortement inhibitrice sur les souches : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis* avec des zones d'inhibition égales à : 47mm, 54mm, 55mm, 54mm, 50 mm, 50mm respectivement.

Sur la souche : *Sarcinalutea*, l'extrait methanolique des feuilles de la réglisse est légèrement actif avec une zone d'inhibition de 15mm.

D'après les résultats obtenus, on remarque que la nature de l'extrait (aqueux ou méthanolique) a fortement influencé la sensibilité des souches testées avec des différences importantes des diamètres de zones d'inhibition.

L'extrait méthanolique des feuilles de la réglisse a réagi positivement sur les deux souches : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. mais avec des diamètres de zones d'inhibition plus élevés que ceux trouvés par (Chouitah, .2012), qui a travaillé sur l'huile essentielle des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*

Selon (CAËL, .2009), la réglisse possède un fort pouvoir antibactérien sur les Bacillus ce qui est conforme avec nos résultats par rapport aux effets des deux extraits méthanolique et aqueux des feuilles de la réglisse sur *Bacillus cereus*.

Concernant l'effet des deux extraits méthanolique et aqueux de la réglisse sur la souche *Pseudomonas aeruginosa*, nos résultats sont très loin à ceux indiqués par (Petit, .2011) qui a trouvé que les deux extraits n'exercent aucune activité sur cette souche ; cette divergence est probablement due aux facteurs influençant la composition de la plante (lieux et périodes de récolte ...).

ROSS en 2001 a montré que la racine de la réglisse possède une activité contre les levures et les champignons, d'où nous avons trouvé un fort effet de l'extrait méthanolique des feuilles de la réglisse sur *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*.

On peut justifier la différence de pouvoir antimicrobien des deux extraits par la capacité du méthanol d'extraire plus de principes actifs par rapport à l'eau.

III.5. Résultats d'évaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* et le témoin l'acide ascorbique vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par la déviation de la couleur violette à la couleur jaune à 517 nm.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes présentées dans la figure ci-dessous :

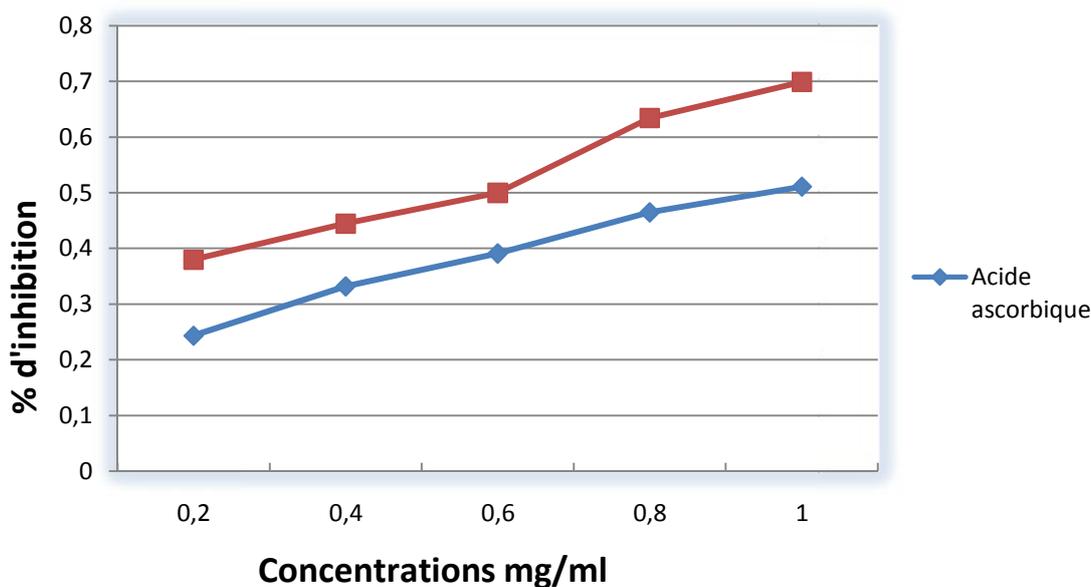


Figure 11: Représentation graphique du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait aqueux des feuilles de la réglisse et la vitamine C.

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti radicalaires des extraits végétaux (Yi *et al.*, 2008).

Les profils des activités anti radicalaires obtenus révèlent que l'extrait aqueux des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* et l'acide ascorbique possèdent une activité anti radicalaire à dose dépendante.

D'après la figure, nous remarquons que notre extrait possède un pouvoir antioxydant du radical DPPH plus élevé par rapport à celui de l'acide ascorbique.

A partir des résultats obtenus et pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons déterminés à partir des graphes le paramètre IC50 ou :

La concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC50) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Maidi, 2013).

Les valeurs d'IC50 de l'extrait des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* et l'acide ascorbique sont enregistrés dans le tableau :

Echantillon	IC50 mg/ml
Acide ascorbique	0.9
l'extrait aqueux des feuilles de <i>Glycyrrhizaglabra L.</i>	0.6

Tableau V: Valeurs d'IC50.de l'extraits des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* et l'acide ascorbique.

L'extrait des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* présente une IC50 de l'ordre de 0,6 mg /l. En comparaison avec l'antioxydant standard (Acide ascorbique), l'extrait des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* est plus actif.

Ce pouvoir antioxydant est fort probablement dû aux composés phénoliques présents dans les feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*

Des études sur le potentiel antioxydant de la réglisse affirment que L'acide glycyrrhétinique inhibe de façon dose-dépendante, la formation de radicaux libres. Les chalcones, les isoflavones et les isoflavanes isolées à partir de la racine de la réglisse sont des piègeurs de radicaux libres (Heymonet., 2013).

III.6.Résultat du test de toxicité :

Suite à l'administration de l'extrait aqueux des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* à 10% nous n'avons observé aucun changement au niveau comportemental des souris en parallèle aucune mortalité n'a été observée. Caël en 2009 affirme que Les manifestations cliniques apparaissent en général après une ingestion chronique d'au moins 2 à 7 g de glycyrrhizine par jour pendant plusieurs mois, ce qui confirme que le dosage d'extrait aqueux utilisé de notre plante est très loin d'être toxique.

III.7.Résultats de l'activité anti inflammatoire :

Nous avons réalisé l'activité anti inflammatoire pour tester les deux concentrations de notre extrait aqueux à 10% et 05%.

Après ½ heure, les souris des quatre lots reçoivent une injection de la Carraghénine dans la patte gauche. Une réaction immédiate et persistante a été

constituée. Elle consiste à l'apparition d'un œdème d'intensité variable selon les quatre lots.

Les résultats des poids des pattes gauches et droites sont représentés dans la figure suivante :

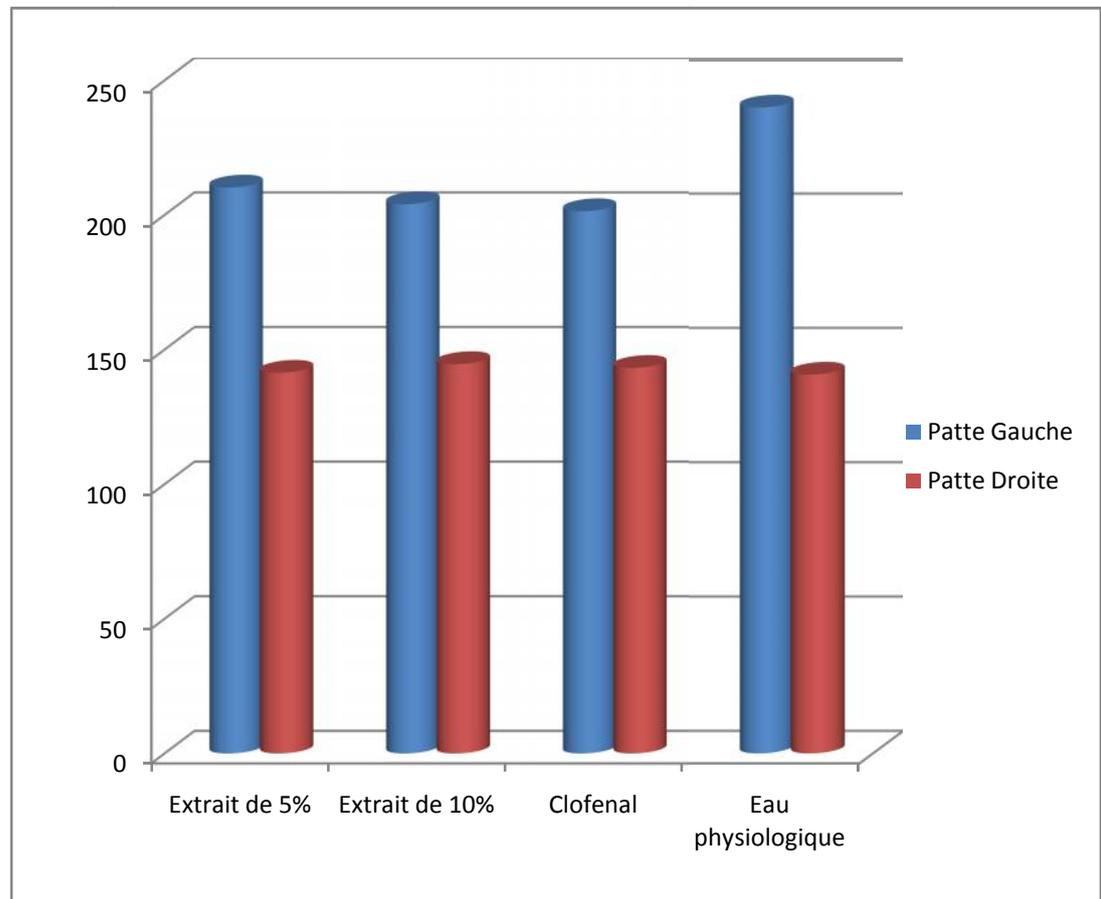


Figure 12 : Variation du poids des pattes postérieures gauche et droite pour chaque lot.

Nous avons observé une augmentation du moyen de poids des pattes gauches des quatre lots (lot témoin, lot de référence, lot d'extrait 5% et lot d'extrait 10%) par rapport à celui des pattes droites.

Cette différence s'explique par la présence d'un œdème au niveau des pattes postérieures gauches, ce qui confirme l'effet pro-inflammation de la Carraghénine.

Nous avons évalués, le pourcentage de l'œdème des pattes enflammées par rapport aux pattes saines, les résultats son représenté dans la figure suivante :

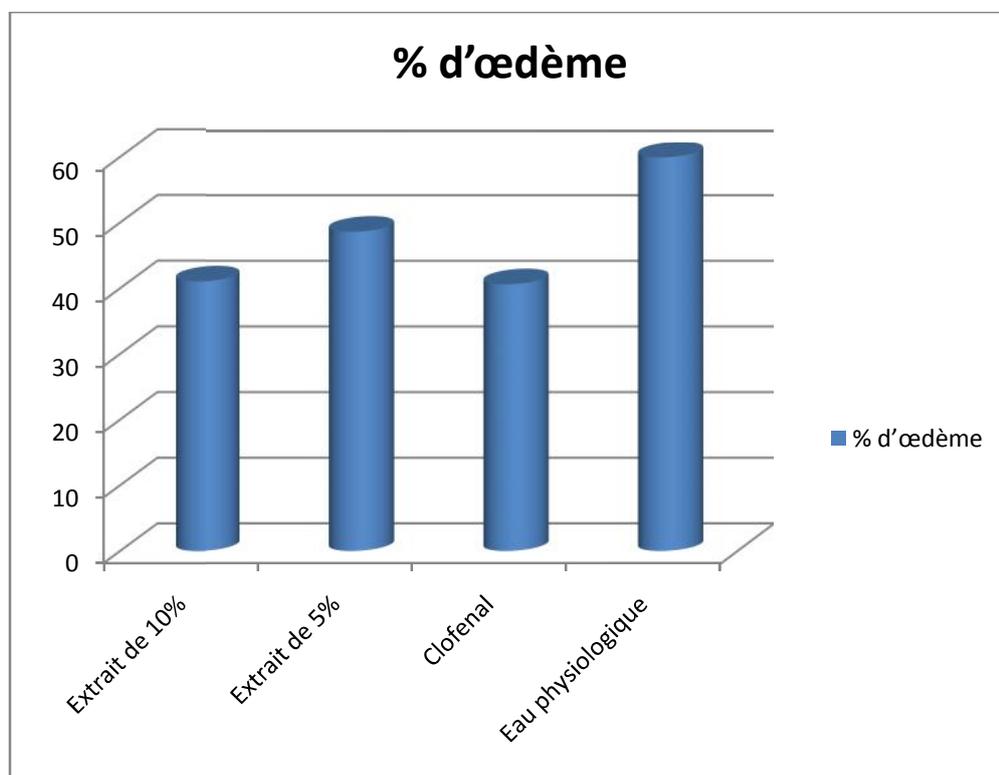


Figure 13: Variation de pourcentage d'œdème des pattes gauches et droites.

Le Lot témoin traité avec l'eau physiologique a présenté le pourcentage d'œdème le plus élevé (60 %) en comparaison avec les trois autres lots respectivement ($E_{5\%}$, $E_{10\%}$, Clofenal) = 48,65%, 41.07%, 40,64%.

Après quatre heures de suivi du traitement nous avons mesuré les pourcentages de réduction d'œdème des pattes gauches et droites pour les quatre lots et les résultats sont récoltés dans la figure :

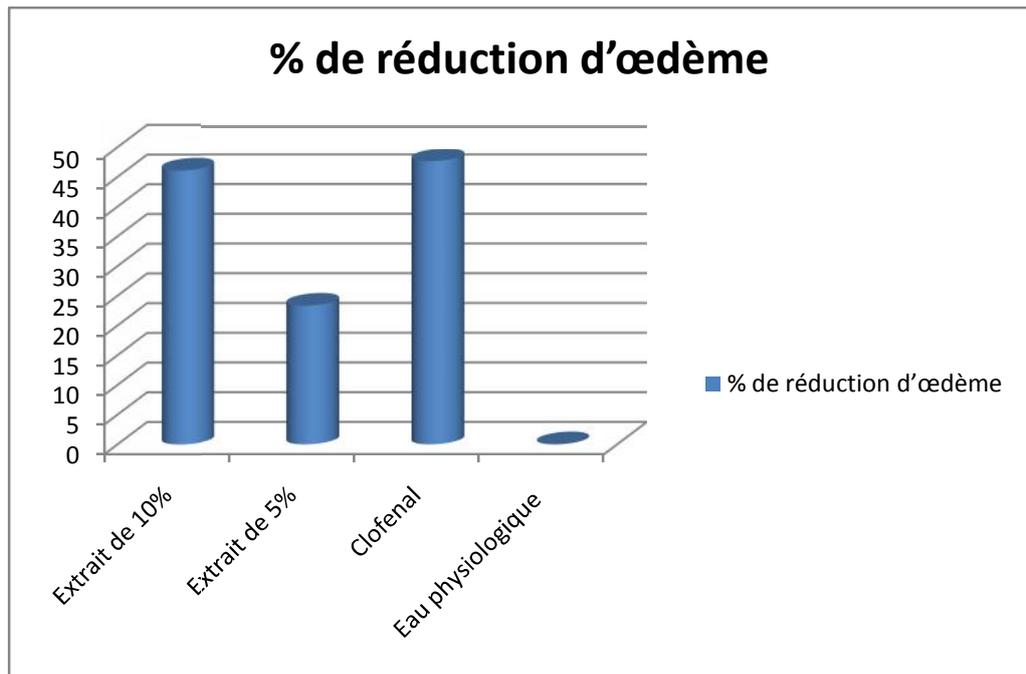


Figure 14: Variation de pourcentage de réduction d'œdème des pattes gauches et droites.

Nous avons remarqué que l'extrait aqueux de *Glycyrrhizaglabra L.* a induit un taux de réduction d'œdème qui est de : 23.32%, 46.09% pour les lots traités par E_{5%} et E_{10%} respectivement et pour le lot traité par Clofenal un pourcentage de 47,63%.

Le pourcentage de réduction d'œdème est influencé par le dosage de l'extrait aqueux.

A travers ces résultats, nous pouvons dire que l'extrait aqueux des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* exerce une action anti inflammatoire comparable à celle du Clofenal.

Nous supposons que les constituants présents dans l'extrait des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* soient responsables de son pouvoir anti-inflammatoire.

Notre recherche théorique a déjà mis en évidence la richesse de notre plante en acide glycyrrhétic.

Bruneton en 2009 rapporte que l'acide glycyrrhétic agit indirectement en potentialisant les corticoïdes. Il joue un rôle dans le métabolisme du cortisol en inhibant plusieurs enzymes de dégradation afin d'augmenter l'action anti inflammatoire.

III.8. Résultats d'évaluation de l'activité cicatrisante :

➤ . Contrôle de la pommade :

Les résultats sont exprimés en colonie formant unité (CFU), le produit est déclaré conforme si les résultats sont inférieurs aux limites sous citées :

- Germes aérobies viables totaux : 5.10^2 UFC/ml
- Levures et moisissures : 5.10^2 UFC/ml
- Entérobactéries et Gram(-) : 10 UFC/ml
- *Staphylococcus aureus* : absence
- *Pseudomonas aeruginosa* : absence
- *Escherichia coli* : absence.

• Résultats du contrôle physicochimique :

En étalant une couche mince sur la paillasse, nous avons remarqué macroscopiquement que notre pommade présente un aspect homogène, ne contient pas de grumeaux, brillante, d'une couleur vert foncé, et d'une odeur fraîche qui distingue le produit.

Le **Ph** de la pommade préparée est égale à 6,80 proche du neutre, nous pouvons dire que la pommade est conforme avec les normes de la (**Pharmacopée européenne, 1997**).

• Résultat du contrôle microbiologique :

Les résultats du contrôle de la qualité microbienne obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Germes	Pommade de <i>Glycyrrhizaglabra L.</i>	Normes (pharmacopée européenne)
Germes aérobies viables totaux	40UFC/g	200UFC/g
Levures et moisissures	6UFC/g	20UFC/g
<i>Echerichiacoli</i>	Absence	Absence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence	Absence
<i>Staphylocoques aureus</i>	Absence	Absence
<i>Sarcinalutea</i>	Absence	Absence

Tableau VI: Résultat de l'analyse microbiologique du produit (pommade).

Selon les normes de la **pharmacopée européenne 2014**, les résultats obtenus du contrôle microbiologique de notre pommade montrent l'absence de toute contamination bactérienne ou fongique, nous pouvons dire que notre produit est d'une bonne qualité microbiologique.

➤ **Résultat de l'activité cicatrisante:**

D'une façon générale le suivi des quatre paramètres de cicatrisation montre :

- **Profondeur de la plaie :**

La figure suivante illustre les variations des profondeurs durant les 14 jours :

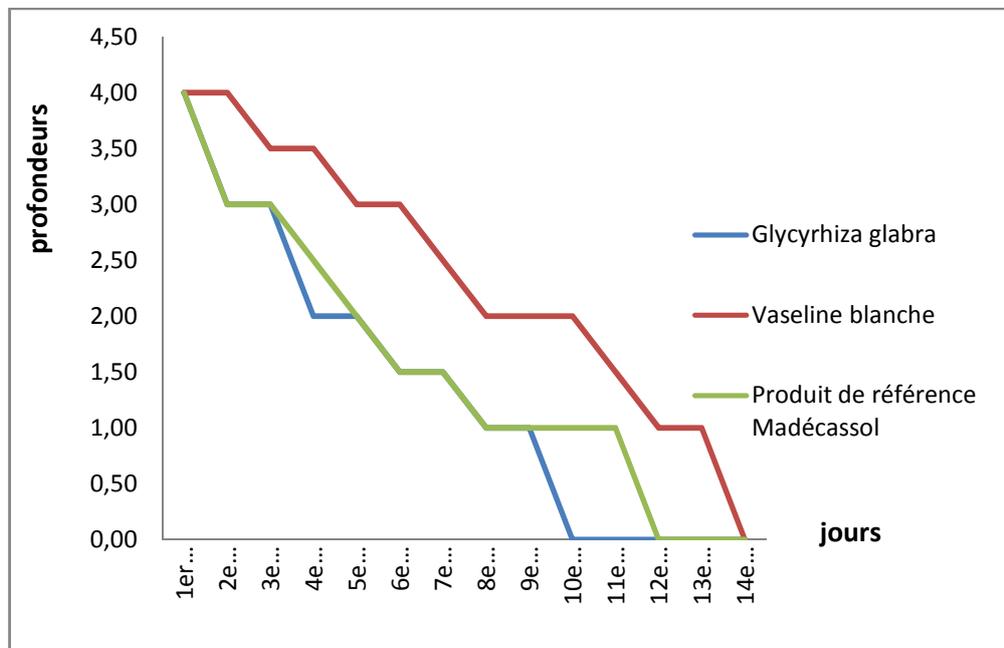


Figure 15 : Les variations de la profondeur des plaies Traitées.

Les scarifications sont nettement plus profondes pour la zone non traitée (témoin) que pour celle traitée, au bout du premier jour.

Le 4^{ème} jour nous observons que la profondeur des scarifications traitées par la pommade de *Glycyrrhizaglabra L.* est moins importante (2) par rapport aux plaies traitées par le produit de référence (Madécassol (2-3) et la vaseline blanche (4)).

Nous avons remarqués que les deux traitements ont donnés une bonne cicatrisation, mais avec une période de guérison différente qui est le 10^{ème} jour pour les plaies traitées par la pommade de *Glycyrrhizaglabra L.*, et pour les plaies traitées par Madécassol, elle est au 12^{ème} jour.

Tandis ce que la cicatrisation des plaies traitées par la vaseline blanche n'est complète qu'au bout du 14^{ème} jour.

- **Apparition de l'œdème :**

D'après les résultats observés au cours de la période de traitement nous remarquons l'absence d'œdème pour les zones traitées par la pommade de *Glycyrrhizaglabra L.* et par la pommade de référence Madécassol.

Cela veut dire que ces deux traitements n'incitent pas une inflammation.

Cependant pour la plaie traitée par la vaseline blanche un très léger œdème apparaît au bout du premier jour et disparaît le 3^{ème} jour.

- **Présence de bourgeon :**

Les variations de la présence du bourgeon sont présentées dans le tableau suivant :

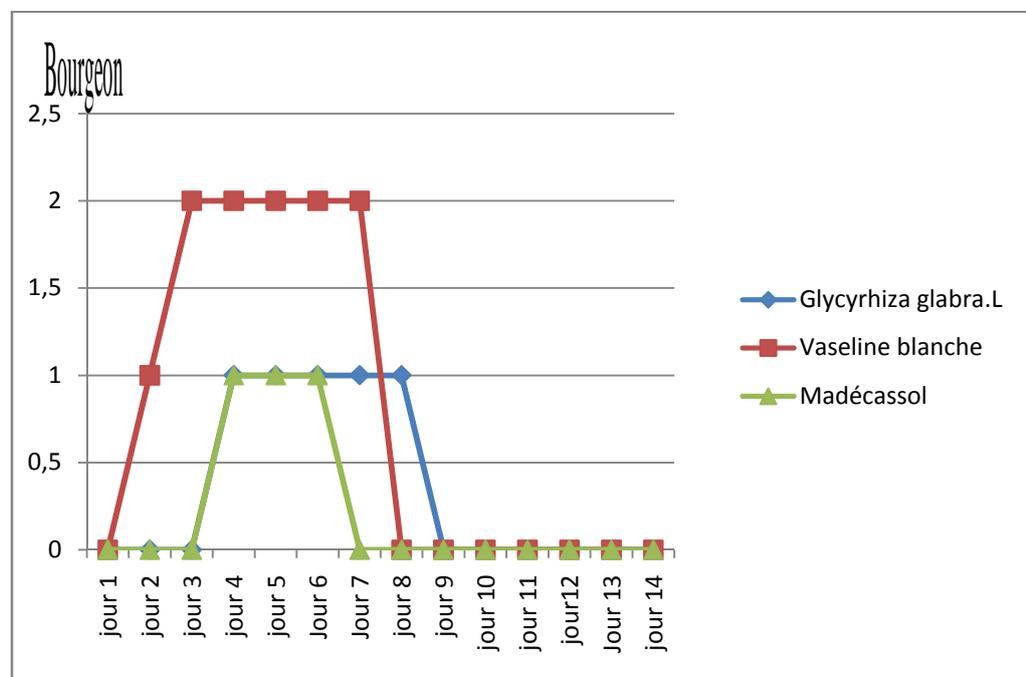


Figure 16 :variation de la présence du bourgeon

D'après nos résultats l'apparition du bourgeon est peu marqué, il apparait au 2^{ème} jour pour la plaie témoin (vaseline blanche) et disparaître le 7^{ème} jour.

Cependant pour les plaies traitées par la pommade de *Glycyrrhizaglabra L.* et Madécassol, le bourgeon apparait le 4^{ème} jour pour s'estomper rapidement et disparaître le 8^{ème} jour.

- **Apparition de la croute :**

La figure suivante présente les variations de l'apparition de la croute :

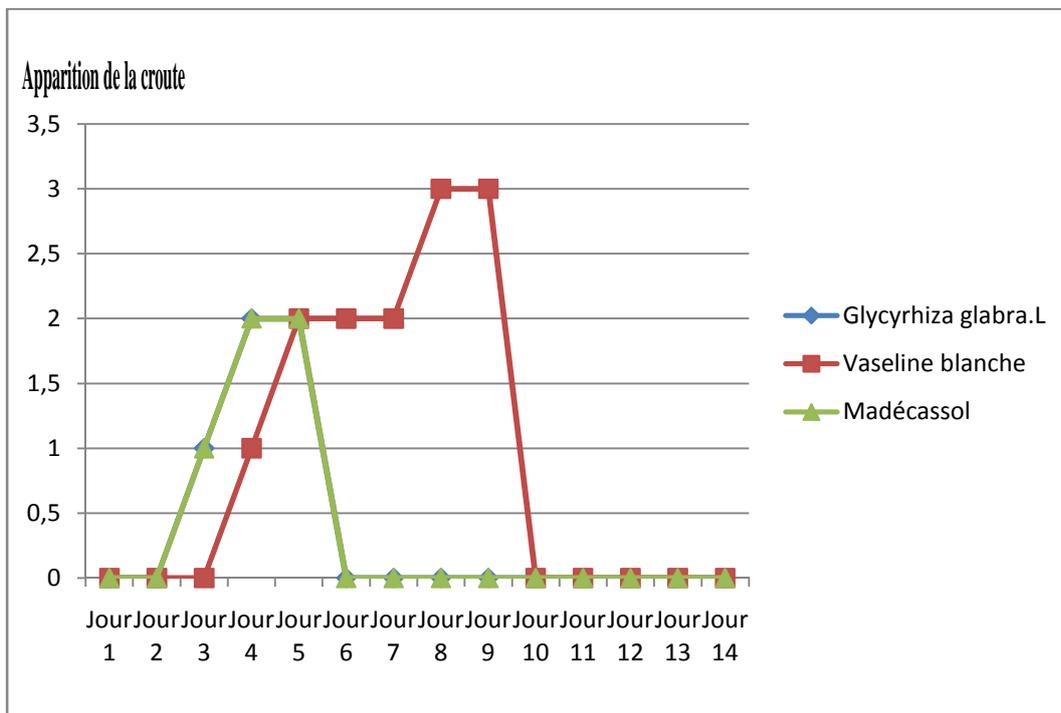


Figure 17: les variations de l'apparition de la croute.

Nous observons que la croute chez les lapins traités par la pommade et Madécassol apparait le 3^{ème} jour et persiste jusqu'à le 8^{ème} jour.

Pour les lapins traités par la vaseline blanche, l'apparition de la croute est au 4^{ème} jour et persiste jusqu'au 11^{ème} jour.

D'après les résultats nous pouvons dire que le produit de référence et la pommade préparé ont donné des résultats positifs sur les paramètres de cicatrisation cités précédemment.

En effet nos résultats prouvent une cicatrisation de la pommade à base de *Glycyrrhizaglabra L.* qui s'accomplit au 10^{ème} jour par rapport au Madécassol, elle est au 12^{ème} jour.

Ces observations nous permettent de constater que la plante étudiée possède une activité cicatrisante meilleure que celle du produit de référence (Madécassol).

L'absence d'œdème est justifiée par l'activité anti-inflammatoire que possède la plante et qui a été déjà démontrée précédemment.

Nous supposons que l'effet cicatrisant de cette plante peut être dû aux composés qu'elle renferme d'après le screening phytochimique de *Glycyrrhizaglabra L.* qui a montré :

- La présence des saponosides qui possèdent une activité cicatrisante selon **(Bruneton 1999)**.
- Les tanins qui activent la multiplication et la régénération cellulaires ce qui contribue à augmenter la vitesse de cicatrisation **(Iserin, 2001)**.

HEYMONET en 2013 apporte que la réglisse renferme les Polysaccharides, qui ont la capacité de régénérer et protéger les tissus enflammés par exemple la peau sèche et irritée, ce qui confirme nos résultats par rapport au fort pouvoir cicatrisant des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*

Selon la recherche bibliographique la racine de la réglisse présente les propriétés thérapeutiques suivantes : cicatrisante ; anti inflammatoire ; anti microbienne et anti oxydante, donc à travers cette recherche nous avons mis en évidence ces activités sur une autre partie de cette plante qui est la feuille.

Conclusion

La découverte de ressources naturelles du règne végétale reste capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques

Dans le présent travail, on a tenté de contribuer à la valorisation d'une plante très utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour ces vertus thérapeutiques en établissant une relation entre sa composition chimique et ses activités biologiques.

L'extraction d'huile essentielle des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.*, nous a permis de calculer le rendement de cet extrait, qui est de 0,30%.

La détermination de la teneur en eau a montré la richesse des feuilles de la réglisse en eau avec un pourcentage de 54,23%.

Le criblage phytochimique réalisé sur les feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* basé sur des tests spécifiques a permis de montrer que la plante est riche en métabolites secondaires, notamment les tanins, les flavonoïdes, les saponosides, les glycosides et les coumarines.

En ce qui concerne le pouvoir antimicrobien, nous avons eu des résultats satisfaisants par notre plante sur les souches testés avec une variation de ce pouvoir en fonction de la nature de l'extrait testé et la souche utilisée.

Il ressort de l'étude de l'activité antioxydante, évaluée par le test DPPH, que la plante exerce une activité antioxydante à dose dépendante plus importante que celle de l'acide ascorbique avec des valeurs d'IC50 égales à : 0,6 /0,9 respectivement.

Nous déduisons que l'extrait aqueux des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* exerce une action anti-inflammatoire comparable à celle du Clofenal (33,11%), avec un pourcentage de réduction de l'œdème de 17,35% pour l'extrait à 5% et 28,87 % pour l'extrait à 10%. Ces résultats sont très encourageants quant à l'utilisation de cet extrait pour le traitement des inflammations.

Enfin, la pommade à base de poudre des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* est d'une qualité physicochimique et microbiologique conforme aux normes cités par la pharmacopée européenne 1997, cette pommade a révélé une bonne activité cicatrisante (cicatrisation totale après 10 jours), meilleurs que celle obtenue par le médicament de référence Madécassol (12 jours de cicatrisation totale) alors que la cicatrisation totale de la plaie témoin s'effectue au bout de 14 jours.

Pour conclure, cette étude reste préliminaire, nécessite des études approfondies par des méthodes analytiques performantes pour déterminer d'une part, les composés chimiques des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* qui peuvent être responsables de tels effets, d'autre part, le mécanisme absolu par lequel ces composées accomplissent leurs rôles.

Il serait intéressant donc de poursuivre ce travail par des perspectives qui consistent en :

- Identification de la composition chimique des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L* par des méthodes plus performantes.
- Evaluation d'autres activités biologiques des différentes parties de *Glycyrrhizaglabra L*
- Déterminer de nouvelles substances bioactives de la réglisse pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

Références bibliographiques

AFNOR., 2000 : Huiles essentielles .Echantillonnage et méthodes d'analyse Monographies relatives aux huiles essentielles (tome2).

Anonyme.,1997 : Pharmacopée européenne Direction de la qualité du médicament du conseil d'Europe (DEQM), troisième addendum de la troisième Ed, Série des traités européens N°50,Strasbourg,France .

Anonyme ., 2008 Pharmacopée européenne.Ed. Sixième.

Anton R.,EberhardTeuscher.,AnneliseLobstein., 2005 : Plantes aromatiques .Edition. Lavoisier.P522.

Bachelet B.,2013 : Impacte de la phytothérapie sur le système immunitaire la faculté de médecine de Créteil.Unv. Créteil. P : 30-31.

BenbrinisS., 2012 : Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de Santolinachamaecyparissus. UnivFerhat Abbas-SETIFP 13.

Berkan T., Ostunes I., Lermioglu F. etOzer A., 1991: Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of an aqueous extract of Neute, plantamedican 57. P: 34.37.

Brand-Williams W., CuvelierM E., BersetC., 1995: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, Lebensm. Wiss. Technol n28. P : 25-30.

Brunetton.J., 1987:Elément de phytochimie et pharmacognoise.Ed .Lavoisier TEC et DOC.P587.

Bruneton. J., 1993 : Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales.2ème édition : Lavoisier. Paris. P : 915.

Bruneton. J., 1999 :« Pharmacognosie: élément de phytochimie et pharmacognosie »3eme édition, TEC et DOC, Paris. P : 405-446.

Bruneton, J.,2005 : Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux. 3ème édition revue et augmentée. Paris Editions Tec & Doc ; Cachan: Éditions Médicales internationales. P 618.

Bruneton J., 2009: Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales, 4 èmeédition Tec et doc. Paris, P 1269.

Caëld., 2009 : Contribution à l'étude de la réglisse (*Glycyrrhizaglabra L.*) : ses utilisations thérapeutiques et alimentaires pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie université d'Henri Poincare- Nancy1. P 06-58.

Cartier O ., Roux Daniel., 2007 : Botanique pharmacognosie phytothérapie 3^{ème} édition Wolters Kluwer. P09.

- Chouitah O., 2012 :** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhizaglabra L.* Thèse doctorat en Biochimie Université d'Oran P :64-90.
- Delile L., 2007:** Les plantes médicinales en Algérie, édition : Berti. Alger. P240.
- Dunstan.H.,Florentine.S.K.,CalvinoCancela.M.,Westbrooke.M.E.,Palmer.G.C.,2013:**Dietary Characteristics of Emus in semi –arid.CsirPublishins.P: 113-176.
- El Haib A.,2011 :** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Mémoire pour l'obtention du DOCTORAT en Chimie organique et catalyse par l'Université Toulouse III - Paul Sabatier Discipline ou spécialité : Chimie organique et catalyse. P : 06- 11.
- Ela F., Kara S. and Varani, G., 1996:** Structure of HIV-ITAR RNA in the absence of ligands reveals a novel configuration of the trinucleotide bulge. Nucleic Acids Res. n24. P : 3974-3981.
- Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z. 1986:**Plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé. , 64 (2) P : 159-164.
- Gayet Caroline., 2013 :** Guide de poche de phytothérapie .quotidien Malin édition. P 13.
- Ghedira K., Goetz P, Le Jeune R.,2010 :***Glycyrrhizaglabra L.* (Fabaceae) Réglisse. Phytothérapie; 8(3). P : 185-190.EditionSpringer-Verlag France.
- Goumni Z, Salhi A ., 2013 :** Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extrait de la plante *LaurusNobilisL.* Université KasdiMerbahOurgla P :12.
- Guedouari R.,2012 :** ETUDE comparative de la pharmacognosie des différentes parties du *LaurusNobilis L.* essais de formulations thérapeutiques. P : 02.
- Hameurlaine S., 2009 :** Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* de la région de Ghardaia. P : 21- 22.
- Hammadi S., 2010 :** Journal de Liberté 13/04/2010. Page: Populaire mais faiblement prescrite, la phytothérapie en Algérie.
- HARRAR A.,2012 :**Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternusL.* Université Ferhat Abas. P : 21- 42.
- Henry.M., 1991 :***Glycyrrhizaglabra L.* (Licorice cell culture ,regeneration and the production of glycyrrhizin)Journal of Biotechnology in agriculture and forestry V15.P: 82.
- Heymonet C., 2013 :** Les plantes à visée anti-inflammatoire utilisées en phytothérapie. Mémoire pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie université d'Henri Poincaré- Nancy1. P : 87- 112.
- Isrin P ., 2001 :** Encyclopédie des plantes médicinales .Edition : Larousse –Bordas. P : 10-15.

- Kalla A., 2012 :** Etude et valorisation des principes actifs de quelque plante du sud Algérien. P : 04.
- Lachenani A., 2012 :** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de *Pistacialentiscusl* ., *Marrubiumvulgarel.*, *GlycyrrhizaglabraL*. Mémoire de master en chimie des procédés pharmaceutiques université de Médéa .P :16.
- Laïb I., 2011 :** Etude des activités anti-oxydantes et antifongique de l'huile essentiel des fleurs sèches de Lavandre *Officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Revue de Génie Industriel Université Mentouri Constantine, Algérie P : 28.
- Le Hir A., 2001 :** « Pharmacie galénique : Bonnes pratiques de fabrication de médicament » Ed. Masson, Belgique. P : 402.
- Maidi H., 2013 :** Évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles du Genévrier rouge (*Juniperusphoenicea L.*). Université de Blida. P :46.
- Makhloufi A., 2009 :** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricariapubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis L.*) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Doctorat d'état en Biologie. P : 01- 42.
- Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P., 2005 :** Phenolic profile antioxydant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). Food Chemistry. n 89. P: 411-420.
- MAYER F., 2012 :** Utilisations Thérapeutiques des huiles essentielles: Etude de cas en maison de retraite. Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie Université de Lorraine.
- Nait Achour., 2012 :** Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de TiziOuzou. Magister en chimie appliquée université Mouloud Maamri TiziOuzou. P:26.
- Petit A., 2011 :** Toxicité et utilisation de quelques Fabaceae Alimentaires et médicinales. Université Henri Poincare-Nancy 1. Docteur en Pharmacie. P : 104-121.
- Pourrat A., 1993 :** Cicatrisation des plaies chez le lapin et le rat. Ed. J.P.
- Ross I., 2001:** Medicinal plants of the world. Totowa: Humana Press, vol. 2. P: 487.
- Scimeca D., Tétau M., 2005 :** Votre santé par les huiles essentielles (le guide pratique pour prévenir et guérir tous les maux quotidiens). Ed. Alpen. P : 09.
- Sarnimanchado et Cheynier V., 2006 :** Les polyphénols en agroalimentaire .Collection sciences et techniques agroalimentaires .Ed. TEC et DOC Paris. P :308.
- Simpson W.T., 1999:** Drying and control of moisture content and dimensional changes, Gen. Tech. Rep. FPL-GTR-113. Madison, Forest Productslaboratory. P : 463.
- Salhi S, Fadli M, Zidane L & Douira A.; 2010 :** Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). P :133.

Tundis R., Peruzzi L., Colica C .,2012 :Iridoid and bisirdoid glycosides from *Globulariameridionalis* (Podp.) Schwarz aerial and underground parts, *Biochemical Systematic and Ecology*, 40. P: 71-74.

Yi Z., Yan Y., Liang Y., Zeng B. ,2008 : In vitro antioxidant and antimicrobial activities of *PericarpiumCitriReticulatae* of a new Citrus Cultivar and its main flavonoids. *LWT*, n41. P: 597-603.

Zeghad N.,2009 :Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Université MentouriConstantine.P : 04.

Annexe 1

Appareils	Verrerie et accessoire	Réactifs/ Produit
-Agitateur. -Balance analytique. -Balance pour les animaux. -Hotte -Hotte à flux laminaire - Bain marie. -Bec-Benzen. -pH mètre. -Incubateur à 25°C. -Incubateur à 35°C. -Incubateur à 37°C. -Broyeur cuisine. -Etuve. -Haute pour solvants. -Rota vapeur. -Plaque chauffante. -Spectrophotomètre UV -Réfrigérateur -Montage Clevenger	- Burettes à décanté. -Béchers (petits et grands). -Boites de pétrie. -Ciseaux. -Coton. -Disques absorbants -Entonnoir en verre. -Eprouvette de 100ml. -Erlen Mayer. -Fioles en verre. -Flacons en verre. -Gants à usage unique. -La gaze pour filtrer. -Papiers aluminium. -Pince stérile. -Pipettes graduées. -Seringue de 2.5ml et de 1ml. -Sonde gastrique pour gavage. -Spatule -Support pour ampoule -Tubes à essais -tendeuse électrique.	-Ammoniaque ½.-Propanol -Acide chlorhydrique (v/v). -Acide chlorhydrique 10%. -Acide chlorhydrique 2N. -Acide Sulfurique (H ₂ SO ₄) -Acétate de plomb. -Acétate d'éthyle-HCL à 10%. -Alcool éthylique-Alcool isoamylique. -Soja Agar(SA)-Chloroforme (3/1). -Chlorure ferrique (FeCL ₃). -Copeaux de magnésium. -Clofénal-DPPH-Eau de javel. -Eau distillée-Eau physiologique -Ethanol-Ether diéthylique. -Hydroxyde de potassium (KOH) à 10%-Propanol. -Suspension de carragénine 1%. -Méthanol-Vaseline blanche -Madécassol-l'huile de vaseline -Sabouraud (SAB).-Mueller-Hinton (M H).-milieu liquide lactosé -milieu gélosé cétrimde (CAB) -milieu gélosé Chapman -milieu gélosé éosine bleu de méthylène- milieu d'enrichissement Mossel -XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate)

Tableau VII: Matériel non biologique utilisé durant toutes les expérimentations.

Annexe 2

Souches	Diamètre de Zone d'inhibition en mm Extrait aqueux brut	Diamètre de Zone d'inhibition en mm Extrait méthanolique
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10	47
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11	54
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	9	55
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	30	54
<i>Sarcinalutea</i> Culture	0	15
<i>Candida albicans</i> ATCC 24433	10	50
<i>Aspergillus brasiliensis</i> Culture	09	50

Tableau VIII: L'effet des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la croissance des souches bactériennes testées.



Figure 18: Préparation de la deuxième couche des milieux de culture.

Annexe 2



Figure 19: Préparation de l'extrait méthanolique.



Figure 20: Ensemencement des souches.

Annexe 2



Figure 21 : Effets des deux extraits aqueux et méthanollique des feuilles de la réglisse sur la souche : *Staphylococcus aureus*.



Figure 22: Effets des deux extraits aqueux et méthanollique des feuilles de la réglisse sur la souche : *Escherichia coli*.



Figure 23: Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche : *Aspergillus brasiliensis*.



Figure 24: Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche : *Bacillus cereus*.



Figure 25: Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche : *Pseudomonasaeruginosa*.



Figure26 : Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche : *Candida albicans*.



Figure27 : Effets des deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles de la réglisse sur la souche :*Sarcinalutea*.

DO blanc : 0.542

Concentration mg /ml	Acide ascorbique		Extrait aqueux	
	DO	% d'inhibition	DO	% d'inhibition
0.2	0.410	24.35	0.336	38.00
0.4	0.362	33.21	0.301	44.46
0.6	0.330	39.11	0.271	50
0.8	0.290	46.49	0.198	63.46
1	0.265	51.10	0.163	69.92

Tableau IX: Absorbances et Pourcentages d'inhibition de l'acide ascorbique et de l'extrait Aqueux des feuilles de la réglisse selon la méthode de DPPH.

Annexe 2

Patte Gauche	Patte Droite	Patte Gauche	Patte Droite	Patte Gauche	Patte Droite	Patte Gauche	Patte Droite
Extrait de 5 %		Extrait de 10 %		Clofenal		Eau Physiologique	
200 mg	143 mg	192 mg	150 mg	219 mg	139 mg	230 mg	137 mg
221 mg	137 mg	212 mg	151 mg	205 mg	145 mg	232 mg	154 mg
201 mg	140 mg	192 mg	145 mg	160 mg	147 mg	222 mg	140 mg
214 mg	142 mg	189 mg	142 mg	223 mg	148 mg	225 mg	133 mg
215 mg	145 mg	235 mg	135 mg	200 mg	137 mg	219 mg	141 mg
210.2 mg	141.4mg	204 mg	144.6 mg	201.4 mg	143.2mg	225.6mg	141 mg

Tableau X: Variation du poids des pattes postérieures gauche et droite pour chaque lot.

% d'œdème	% de réduction d'œdème
Ex de 10% : 41,07%	Ex de 10% : 46,09%
Ex de 05% : 48,65%	Ex de 05% : 23,32%
Clofenal : 40,64 %	Clofenal : 47.63%
Eau physiologique : 60%	Eau physiologique : 0%

Tableau XI: Variation de pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème des pattes gauches et droites.

Annexe 2

Produit Jour	Paramètres	Glycyrrhizaglabra.L	Vaseline blanche	Produit de référence Madécassol
1^{er} jour	Profondeur	4	4	4
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	0	0	0
	Crôte	0	0	0
2^{ème} jours	Profondeur	3	4	3
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	0	1-2	0
	Crôte	0	0	0
3^{ème} jours	Profondeur	3	3-4	3
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	0	2	0
	Crôte	1	0	1
4^{ème} jours	Profondeur	2	3-4	2-3
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	1-2	2	1
	Crôte	1	1	1
5^{ème} jours	Profondeur	2	3	2
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	1-2	2	1
	Crôte	2	1-2	2
6^{ème} jours	Profondeur	1-2	3	1-2
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	1-2	2	1
	Crôte	2	2	2
7^{ème} jours	Profondeur	1-2	2-3	2
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	1-2	1	0

	Crôte	0	2	0
8^{ème} jours	Profondeur	1	2	1
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	1	0	0
	Crôte	0	3	0
9^{ème} jours	Profondeur	1	2	1
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	0	0	0
	Crôte	0	3	0
10^{ème} jours	Profondeur	0	2	1
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	0	0	0
	Crôte	0	0	0
11^{ème} jours	Profondeur	0	1-2	1
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	0	0	0
	Crôte	0	0	0
12^{ème} jours	Profondeur	0	1	0
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	0	0	0
	Crôte	0	0	0
13^{ème} jours	Profondeur	0	1	0
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	0	0	0
	Crôte	0	0	0
14^{ème} jours	Profondeur	0	0	0
	Œdème	0	0	0
	Bourgeon	0	0	0
	Crôte	0	0	0

Tableau XII: Résultat de l'activité cicatrisante du produit.

Annexe 2



Figure28 : étapes de cicatrisations.