

UNIVERSITE DE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie et physiologie cellulaire

Laboratoire de biotechnologies, environnement et santé

THESE DE DOCTORAT

en Biologie

Option : Biologie et santé

EXTRACTION, CARACTERISATION ET IDENTIFICATION DE QUELQUES
METABOLITES SECONDAIRES ACTIFS D'UNE PLANTE SPONTANEE *Allium*
triquetrum L., ET ACTIVITES BIOLOGIQUES

Présentée et soutenue publiquement le 29 septembre 2019 par

MENACER Amel

Devant le jury composé de :

D. GUETARNI	Professeur, Université de Blida 1	Président
K. HOUALI	Professeur, Université de Tizi Ouzou	Examineur
H. BOUTOUMI	Professeur, Université de Blida 1	Examineur
M. KHALI	Professeur, Université de Blida 1	Examineur
F. SAIDI	Professeur, Université de Blida 1	Promoteur

RESUME

Le présent travail est porté sur l'étude phytochimique et certaines activités biologiques d'une plante spontanée, *Allium triquetrum* L.

L'analyse des minéraux a montré que la plante est riche en K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , PO_4^{3-} et SO_4^{2-} . La plante contient également des oligo-éléments en particulier le Fe^{++} et le Zn^{++} .

Le screening phytochimique a révélé principalement la présence de polyphénols, flavonoïdes, glycosides, iridoïdes, saponosides et terpènes avec absence d'alcaloïdes, anthocyanines, quinones et tanins. L'analyse des fractions apolaires par la GC-MS a montré la présence d'acides gras, d'alcane et d'autres molécules comme le Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl), 14-Beta.-H-pregna, Neophytadiene, Methyl-trans-propenyl-disulfide et Trans propenyl methyl disulfide 1,3-dithiane. L'HPLC a permis d'identifier quelques composés phénoliques présents dans les fractions polaires, en particulier l'acide gallique. Les meilleures teneurs en composés phénoliques ont été trouvées dans l'extrait aqueux des feuilles avec des concentrations égales à $14,31 \pm 0,36$ mg EAG/g ext de polyphénols et $22,12 \pm 0,33$ mg EQ/g ext de flavonoïdes.

La plante n'a présenté aucune toxicité aiguë. Le jus des bulbes pur a présenté le meilleur effet antimicrobien avec des zones d'inhibition appréciables à savoir *Streptococcus* sp. : 25.5 ± 0.50 mm, *K. pneumoniae* : 25 ± 1.00 mm, *Acinetobacter* sp. : 24.5 ± 0.50 mm, *C. albicans* : 26 ± 0.50 mm et *S. cerevisiae* : 30 ± 1.00 mm. À l'inverse, l'extrait aqueux des feuilles possède l'activité antioxydante la plus élevée, il a piégé 90% des radicaux DPPH à la concentration de 3 mg/ml avec un EC50 égale à 0.97 mg/ml. Ainsi, cet extrait a présenté à la dose de 50 mg/ml des pouvoirs anti-inflammatoire et antalgique avec des taux d'inhibitions respectivement de 59.45 ± 3.45 % et de 72.94 ± 1.10 %.

Mots clés : *Allium triquetrum* L., composition minérale, étude phytochimique, toxicité aiguë, activité antimicrobienne, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, activité antalgique.

SUMMARY

The present work is focused on phytochemical and some biological activities study of a spontaneous plant of the Mediterranean flora, *Allium triquetrum* L.

The analysis of the minerals showed that the plant is rich in K⁺, Na⁺, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, PO₄³⁻ and SO₄²⁻. The plant also contains trace elements especially Fe⁺⁺ and Zn⁺⁺.

Phytochemical screening revealed mainly the presence of polyphenols, flavonoids, glycosides, saponosides, iridoids and terpenes with absence of alkaloids, anthocyanins, quinones and tannins. The analysis of apolar fractions by GC-MS showed mainly the presence of fatty acids, alkanes and other molecules such as Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl), 14-Beta. -H-pregna, Neophytadiene, Methyl-trans-propenyl-disulfide and Trans propenyl methyl disulfide 1,3-dithiane. HPLC has allowed the identification of some phenolic compounds present in the polar fractions, in particular gallic acid. The highest levels of phenolic compounds were found in the aqueous extract of leaves with concentrations equal to 14.31 ± 0.36 mg GAE/g ext of polyphenols and 22.12 ± 0.33 mg QE/g ext of flavonoids.

The plant showed no acute toxicity. Pure juice of bulbs presented the best antimicrobial effect with significant zone of inhibition namely *Streptococcus* sp. : 25.5 ± 0.50, *K. pneumoniae* : 25 ± 1.00 mm, *Acinetobacter* sp. : 24.5 ± 0.50 mm, *C. albicans* : 26 ± 0.50 mm and *S. cerevisiae* : 30 ± 1.00 mm. In contrast, aqueous extract of leaves has the highest antioxidant activity; it scavenged 90% of the DPPH radicals at the concentration of 3 mg/ml with an EC50 equal to 0.97 mg/ml. Thus, it presented at the dose of 50 mg/ml anti-inflammatory and antalgic powers with inhibition rates equal to 59.45 ± 3.45% and 72.94 ± 1.10%, respectively.

Keywords: *Allium triquetrum* L., mineral composition, phytochemical study, acute toxicity, antimicrobial activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, analgesic activity.

ملخص

يرتكز العمل الحالي حول دراسة الخصائص الكيميائية و بعض الوظائف البيولوجية لنبتة برية
Allium triquetrum L.

إن تحليل المعادن قد أظهر أن النبتة غنية بالبوتاسيوم K^+ ، الصوديوم Na^+ ، الكالسيوم Ca^{++} ، المغنيزيوم Mg^{++} ، الفوسفات PO_4^{3-} و الكبريت SO_4^{2-} ، كما أن النبتة تحتوي أيضا على عناصر أخرى مثل الحديد Fe^{++} و الزنك Zn^{++} .

كشفت الفحص الفيتوكيميائي عن وجود عدة مركبات ثانوية كالبوليفينول، الفلافونويد، الجلوسيدات، الصابونين، التربين و الايريديويد مع عدم وجود الالكلويد، الانثوسيانين، الكينون، والتانين. و أظهر تحليل المواد الدهنية عن طريق تقنية GC-MS و بصورة خاصة وجود الأحماض الدهنية، الألكانات، وغيرها من الجزيئات مثل 14-Beta.-H-pregna ، Neophytadiene ، Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl) ، Methyl-trans-propenyl-disulfide و Trans propenyl methyl disulfide 1,3-dithiane . في المقابل، فإن تقنية ال HPLC قد سمحت بتحديد بعض المركبات الفينولية الموجودة في مستخلصات النبتة القابلة للذوبان في الماء ولا سيما حمض الغاليك. من ناحية أخرى، تم العثور على أفضل مستويات الفينول في المستخلص المائي للأوراق حيث أن نسبة البوليفينول تساوي 0.3 ± 14.31 ملغ حمض الغاليك /مطابق/غ في حين نسبة الفلافونيد تقدر ب 0.33 ± 22.12 ملغ كارستين مطابق/غ.

لم يظهر النبات أي سمية حادة. أثبتت البحث أن عصير البصلات المركز يتميز بأفضل تأثير مضاد للميكروبات مع أقطار تثبيط هامة ك: *Streptococcus sp.* : 0.50 ± 25.5 مل.م، *K. pneumoniae* : 1.00 ± 25 مل.م ، *Acinetobacter sp.* : 0.50 ± 24.5 مل.م ، *C. albicans* : 0.50 ± 26 مل.م و *S. cerevisiae* : 30 ± 1.00 مل.م). على عكس ذلك، فقد فإن المستخلص المائي للأوراق يتميز بأعلى خاصية مضادة للأكسدة، حيث أنه اختزل 90 ٪ من المادة الكيميائية المؤكسدة DPPH بجرعة 3 ملغ/مل، كما أن معامل التركيز الذي يؤدي إلى تثبيط 50 ٪ من المؤكسد أو EC50 يساوي 0.97 ملغ/مل. بالإضافة إلى ذلك، فإن هذا الأخير و بجرعة 50 ملغ/مل قد أثبت أنه يمتاز بصورة معتبرة بخصائص مضادة للالتهاب و مسكنة للألام، إذ أن معدلات التثبيط تساوي 59.45 ± 3.45 ٪ و 72.94 ± 1.10 ٪، على التوالي.

الكلمات المفتاح: *Allium triquetrum L.*، التركيب المعدني، الدراسة الفيتوكيميائية، السمية الحادة، الخاصية المضادة للجراثيم، الخاصية المضادة للأكسدة، الخاصية المضادة للالتهابات، الخاصية المسكنة للألام.

REMERCIEMENTS

Merci à Dieu le Tout Puissant de m'avoir donné le courage, la santé et la puissance pour achever ce travail.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur GUETARNI .D, qui m'a fait l'honneur de présider ce jury

Je remercie vivement Monsieur HOUALI K., Professeur à l'université de Tizi-Ouzou, d'avoir accepté de juger ce travail.

Mes sincères remerciements et mon profond respect vont à Monsieur BOUTOUMI H., Professeur au département de chimie industrielle à l'université de Blida 1, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail. Un grand merci également pour son aide et ses conseils durant la réalisation de cette thèse.

Un grand merci est également adressé à Monsieur KHALI M., Professeur au département de biologie, à l'université de Blida 1, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements et ma vive reconnaissance à Madame le Professeur SAIDI F., ma directrice de thèse, pour avoir accepté de diriger ce travail et pour ses conseils et son aide en toutes circonstances.

Particulièrement, j'adresse ma gratitude et mes sincères remerciements à Dr Benhelal A., enseignant à l'université de Blida 1, pour son soutien et son aide afin de réaliser ce travail.

Ma reconnaissance est aussi exprimée à Mr le Professeur Tounsi S., responsable du laboratoire de bio-insecticides au Centre de Biotechnologie de Sfax CBS-Tunisie de m'avoir acceptée au sein de son laboratoire. Ainsi, je remercie Mme Rezgui F., responsable du service analyses et les doctorantes du CBS pour leur accueil et leur aide.

Un grand merci au personnel des unités de Microbiologie et Pharmacotoxicologie au centre de recherche et de développement CRD – SAIDAL d'EL-HARRACH.

Mes vifs remerciements sont adressés au personnel de la filiale Antibiotical-SAIDAL Médéa et surtout Mme Bakhti, responsable du laboratoire Physico-chimique et Mlle Negab I. chef de l'unité Pharmaco-Toxicologie.

Je remercie également le personnel du laboratoire de chimie analytique de la police scientifique surtout Mme Saidani S.

Je remercie chaleureusement Monsieur le Professeur Badis A., Monsieur le Professeur el-Hattab M. et Monsieur Boucherit A., de la faculté des sciences et Monsieur Boukhatem M.N., Maitre de conférences A du département de biologie et physiologie cellulaire de l'université de Blida 1 pour leur aide.

J'adresse également mes remerciements aux ingénieurs et techniciennes de laboratoires et à la secrétaire de post-graduation du département de Biologie et physiologie cellulaire de l'université de Blida.

Un grand merci à Mr Benaliouat Y., coordinateur de laboratoire d'hématologie au centre anti cancer de Blida qui m'a permis de poursuivre mes études tout en exerçant ma profession.

Enfin, j'adresse ma reconnaissance à tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Ma mère qui m'a entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour ma réussite, que dieu la garde

Mon père que dieu le garde et le protège

Ma petite princesse Ines

Mon mari, pour sa patience, sa gentillesse et sa présence à mes côtés dans les moments les plus durs

Mes frères et sœurs ainsi qu'à leurs époux

Ma belle famille

Mes neveux

Mes amies

Mes collègues

Tous les doctorants de la promotion 2012-2013

En témoignage de ma profonde reconnaissance et mon affection.

TABLE DES MATIERES

RESUME	2
SUMMARY	3
ملخص	4
REMERCIEMENTS	5
Dédicaces	7
TABLE DES MATIERES	8
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	10
INTRODUCTION	13
CHAPITRE 1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
1.1. Le genre <i>Allium</i>	15
1.1.1 Description générale	15
1.1.2. Utilisation et effets biologiques	16
1.2. L'espèce <i>Allium triquetrum</i> L.	17
1.2.1. Origine et Habitat	17
1.2.2. Nomenclature et Taxonomie	18
1.2.2.1. Nomenclature	18
1.2.2.2. Taxonomie	19
1.2.3. Description botanique	19
1.2.4. Utilisation de <i>A. triquetrum</i>	20
1.3. Les métabolites secondaires	25
1.3.1. Les composés phénoliques	26
1.3.2. Les terpènes	31
1.3.3. Les saponines	32
1.3.4. Les alcaloïdes	33
1.3.5. Les composés soufrés	33

CHAPITRE 2 MATERIEL ET METHODES

2.1. MATERIEL -----	36
2.1.1. Matériel végétal-----	36
2.1.2. Matériel animal-----	36
2.1.3. Les souches microbiennes -----	37
2.2. Méthodes -----	37
2.2.1. Etude histologique des feuilles et tiges -----	37
2.2.2. Teneur en eau-----	38
2.2.3. Etude de la composition minérale -----	39
2.2.3.1. Teneur en cendres-----	39
2.2.3.2. Dosage des ions et oligo-éléments-----	40
2.2.4. Etude des principes actifs d' <i>A. triquetrum</i> -----	42
2.2.4.1. Screening phytochimique -----	42
2.2.4.2. Extraction des composés apolaires et polaires -----	45
2.2.4.3. Analyse des extraits par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG-SM ou GC-MS -----	46
2.2.4.4. Analyse qualitative et quantitative des composés phénoliques-----	47
2.2.5. Etude de la toxicité aigue et des activités biologiques de <i>A. triquetrum</i> -----	50
2.2.5.1. Etude de la toxicité aigue-----	50
2.2.5.2. Etude de l'activité antimicrobinenne-----	52
2.2.5.3. Evaluation de l'activité antioxydante -----	55
2.2.5.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire-----	57
2.2.5.5. Etude de l'activité analgésique-----	59
2.3. Analyse statistique -----	60

CHAPITRE 3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Résultats de l'étude histologique -----	61
3.2. Résultats de la détermination de la teneur en eau -----	65
3.3. Résultats de la composition minérale -----	67

3.3.1. La teneur en cendres	67
3.3.2. Résultats du dosage des éléments minéraux	69
3.4. Résultats de l'étude des principes actifs d' <i>A. triquetrum</i>	75
3.4.1. Le screening phytochimique	75
3.4.3. Résultats de l'analyse des extraits par GC-MS	79
3.4.4. Résultats de l'étude qualitative et quantitative de certains composés phénoliques	89
3.4.4.1. Résultats de l'analyse des composés phénoliques par HPLC	89
3.4.4.2. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux	94
3.5. Résultats de l'étude toxicologique et des activités biologiques	97
3.5.1. Toxicité aiguë	97
3.5.2. Activité antimicrobienne	98
3.5.3. Activité antioxydante	104
3.5.3.1. Piégeage du radical libre DPPH	104
3.5.3.2. Pouvoir réducteur du fer FRAP	106
3.5.4. Activité anti-inflammatoire	108
3.5.5. Activité analgésique	111
CONCLUSION	115
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
APPENDICE	138

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1 : Caractéristiques optimales du sol pour la croissance d' <i>A. triquetrum</i> -----	18
Figure 1.2 : Caractéristiques climatiques optimales pour la croissance d' <i>A. triquetrum</i> -----	138
Figure 1.3 : <i>Allium triquetrum</i> L. (vue générale)-----	20
Figure 1.4 : Vue d'un plant d' <i>A. triquetrum</i> -----	21
Figure 1.5 : La tige triquète d' <i>A. triquetrum</i> -----	21
Figure 1.6 : Détails de la fleur d' <i>A. triquetrum</i> -----	22
Figure 1.7 : Fruits d' <i>A. triquetrum</i> -----	23
Figure 1.8 : Graines d' <i>A. triquetrum</i> -----	23
Figure 1.9 : Bulbes et racines d' <i>A. triquetrum</i> -----	24
Figure 1.10 : Bulbes et bulbilles d' <i>A. triquetrum</i> -----	24
Figure 1.11 : Les différents types des acides phénoliques -----	27
Figure 1.12 : Structure de base des flavonoïdes et leurs différentes classes-----	28
Figure 1.13 : Structure chimique du kaempferol 3-O-[2-O-(<i>trans-p</i> -coumaroyl)-3-O- β -D-glucopyranosyl]- β -D-glucopyranoside de <i>A. triquetrum</i> -----	29
Figure 1.14 : Structure de base des tanins hydrolysables -----	29
Figure 1.15 : Structure chimique de base des tanins condensés -----	30
Figure 1.16 : Structure de base des coumarines (Benzo-2-pyrone)-----	31
Figure 1.17 : Classification des terpènes -----	31
Figure 1.18 : Structure chimique des saponines d' <i>A. triquetrum</i> -----	32
Figure 1.19 : Exemple d'alcaloïde isoquinoléique d' <i>Amaryllidacea</i> -----	33

Figure 1.20 : Structures chimiques de quelques composés soufrés -----	35
Figure 2.1 : Principe de la méthode de diffusion sur milieu gélosé-----	53138
Figure 2.2 : Réduction du radical libre DPPH par un antioxydant-----	55
Figure 3.1 : Coupe transversale de la feuille d' <i>A. triquetrum</i> vue au microscope photonique Gx10 -----	62
Figure 3.2 : Observation microscopique du tissu conducteur primaire au niveau de la feuille Gx40 -----	62
Figure 3.3 : Coupe transversale de la tige d' <i>A. triquetrum</i> observée au microscope photonique Gx10 -----	63138
Figure 3.4 : Teneur en eau des feuilles d' <i>A. triquetrum</i> (%)-----	66
Figure 3.5 : Teneur en eau des bulbes d' <i>A. triquetrum</i> (%) -----	66
Figure 3.6 : Taux de polyphénols dans les différents extraits d' <i>Allium triqueterum</i> --	93
Figure 3.7 : Taux de flavonoïdes dans les différents extraits d' <i>Allium triqueterum</i> -----	95
Figure 3.8 : Piégeage du radical libre DPPH (%) des extraits aqueux et méthanoliques d' <i>A.</i> <i>triquetrum</i> .-----	138
Figure 3.9 : Le pouvoir réducteur du fer des extraits d' <i>A. triquetrum</i> -----	106
Figure 3.10 : Taux d'inhibition de l'œdème des pattes (%) chez les souris par les extraits d' <i>A. triquetrum</i> et le Diclofénac-----	138
Figure 3.11 : Taux d'inhibition des spasmes (%) par les extraits d' <i>A. triquetrum</i> -----	111
Tableau 1.1 : Classification taxonomique classique et phylogénétique d' <i>Allium triquetrum</i> L. -----	19
Tableau 2.1 : Les conditions opératoires de la chromatographie ionique-----	41
Tableau 2.2 : Les conditions opératoires de la SAA -----	41
Tableau 2.3 : Classes de toxicité selon l'échelle de Hodge et Sterner -----	52
Tableau 3.1 : Résultats de la teneur en eau chez <i>A. triquetrum</i> (%) -----	65

Tableau 3.2 : La teneur en cendres chez <i>A. triquetrum</i> (%)-----	68
Tableau 3.3 : Concentration des macro-éléments chez <i>A. triquetrum</i> -----	70
Tableau 3.4 : La concentration des oligo-éléments chez <i>A. triquetrum</i> -----	71
Tableau 3.5 : Résultats du screening phytochimique d' <i>A. triquetrum</i> -----	75
Tableau 3.6 : Teneur des extraits d'éther de pétrole et méthanoliques d' <i>A. triquetrum</i> (%) -----	78
Tableau 3.7 : Composition chimique de l'EEPB analysé par GC-MS-----	80
Tableau 3.8 : Composition chimique de l'EEPF analysé par GC-MS -----	81
Tableau 3.9 : Composition chimique de l'EMB analysé par GC-MS -----	83
Tableau 3.10 : Composition chimique de l'EMF analysé par GC-MS-----	84
Tableau 3.11. Les composés phénoliques identifiés dans l'EMB analysé par HPLC -----	89
Tableau 3.12 : Les composés phénoliques identifiés dans l'EMF analysé par HPLC -----	90
Tableau 3.13 : Les composés phénoliques de l'IB identifiés par HPLC -----	90
Tableau 3.14 : Les composés phénoliques de l'IF analysés par HPLC -----	91
Tableau 3.15 : Effet antibactérien des extraits d' <i>A. triquetrum</i> sur les bactéries Gram positif -----	97
Tableau 3.16 : Effet antibactérien des extraits d' <i>A. triquetrum</i> sur les bactéries Gram négatif -----	99
Tableau 3.17 : Effet antifongique des extraits d' <i>A. triquetrum</i> sur les levures -----	101
Tableau 3.18 : Les valeurs de l'EC50 des différents extraits d' <i>A. triquetrum</i> -----	138
Tableau 3.19 : Effet antalgique des extraits de feuilles et bulbes de <i>A. triquetrum</i> -----	111

INTRODUCTION

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent des vertus thérapeutiques, leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme sont très anciennes et traditionnelles [1].

Selon l'OMS, dans certains pays en voie de développement, 80% de la population dépend de la médecine traditionnelle surtout en milieu rural du fait de la proximité et de l'accessibilité de ce type de soins au coût abordable et surtout en raison du manque d'accès à la médecine moderne de ces populations [2]. Dans les pays développés par contre, les populations sont surtout soucieuses des prescriptions abusives des médicaments tels que les anti-inflammatoires et les antibiotiques. Ceci a pour conséquence l'apparition de souches multirésistantes. Ainsi beaucoup pratiquent de plus en plus une automédication à base de plantes [3]. Cependant, cette utilisation est principalement fondée sur l'idée que les plantes sont un moyen naturel de traitement dénué de tout risque. Les consommateurs croient souvent que naturel est le synonyme d'inoffensif. Or une plante peut à la fois être utile et toxique, c'est une question de dose [4]. Il est important de s'assurer de l'innocuité d'une plante, de connaître ses possibilités et ses limites et de savoir dans quelles conditions on peut l'utiliser.

Bien qu'une grande partie du XX^e siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a conduit à la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines [5]. Ainsi, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes. Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées soit pour leur composition chimique soit pour leurs propriétés pharmacologiques. On estime à environ 400 000 à 500 000 le nombre d'espèces végétales sur la surface de la

terre et à environ 15 % le nombre de plantes qui ont fait l'objet d'une étude systématique en vue de la recherche de composés bioactifs [3].

La flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15 % endémiques [1], reste très peu explorée. De telles études permettent la contribution à la valorisation des plantes de la flore nationale et sera d'un grand apport pour l'industrie pharmaceutique algérienne et aura un impact économique certain, ce qui répond bien aux besoins actuels.

Dans ce contexte nous avons choisi d'étudier l'ail triquètre ou *Allium triquetrum* L., une plante spontanée de la flore algérienne. Elle appartient au genre *Allium* qui représente le plus grand genre de la famille des *Liliaceae* [6]. De plus, l'étude de la composition chimique ainsi que les effets biologiques de ces espèces, surtout celles cultivées comme l'ail et l'oignon, ont fait l'objet de nombreux travaux scientifiques, mais rares sont les travaux réalisées sur les espèces spontanées tel que *Allium triquetrum* L.

Notre problématique a donc pour but de valoriser *Allium triquetrum* L. de la Mitidja (Chebli, Blida), par l'évaluation des propriétés biologiques de ses extraits et d'en connaître éventuellement les principes actifs mis en jeu. Pour atteindre cet objectif, ce travail s'organise en trois chapitres :

Le premier chapitre portant sur une synthèse bibliographique de l'ensemble de notre thématique.

Le deuxième chapitre décrit l'ensemble des démarches méthodologiques de la partie expérimentale :

- Etude histologique
- Etude de la teneur en eau et de la composition minérale
- Etude de certains principes actifs
- Etude préliminaire de la toxicité aigue
- Etude biologique portant sur l'activité antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire et antalgique des différents extraits d'*A. triquetrum*

Dans le dernier chapitre, sont rapportés et discutés nos résultats. Les perspectives de travail concluent notre manuscrit.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Le genre *Allium*

1.1.1 Description générale

Allium L. est le plus grand et le plus important genre de la famille des *Amaryllidaceae* avec plus de 750 espèces. Les plantes de ce genre sont largement répandues dans les régions qui ont une saison sèche, notamment en Asie centrale, Asie orientale, Asie du Sud-Ouest, l'Amérique du Nord, l'Europe de l'Est et l'Afrique du Nord [7].

Auparavant, le genre *Allium* faisait partie de la famille des *Liliaceae* et plusieurs botanistes le rangent encore dans cette famille, mais d'après l'APG III (2009) de nombreux botanistes rangent ce genre dans la famille des *Amaryllidaceae* [8].

Les *Allium* appartiennent à la classe des monocotylédones. Ce sont des plantes herbacées, bulbeuses et à feuilles toutes basales ou presque qui sont insérées sur une tige aérienne.

Le bulbe est une tige souterraine en forme de masse aplatie, le plateau, sur lequel sont insérés :

- à la face inférieure des racines adventives,
- au centre de la face supérieure le bourgeon terminal qui se développera en donnant une tige aérienne caduque (elle ne vit qu'un an),
- autour du bourgeon terminal, des feuilles peu différenciées: tuniques ou écailles (les externes minces sèches, écailleuses et protectrices ; les internes gorgées de substances de réserves)

Les ails développent, à partir du bulbe, une hampe florale portant au sommet une ombelle de fleurs qui, avant l'épanouissement, est enfermée dans une spathe membraneuse, parfois caduque, formée d'une ou deux bractées. Chaque fleur est constituée de six tépales (trois pétales et trois sépales pétaloïdes identiques). Elle comporte six étamines qui entourent un style émergeant de trois carpelles soudés. Ovaire supère à trois loges avec deux ovules par loge. Le fruit est une capsule. Les fleurs de l'ombelle peuvent être remplacées par des organes charnus, peu différenciés, de multiplication végétative: les bulbilles. Le bulbe lui-même peut développer également, à la base de ses écailles, des organes de multiplication végétative: les caïeux [9] [10].

Beaucoup d'espèces ont une odeur d'ail (ou d'oignon), mais certaines sont totalement inodores [9].

Outre l'ail (*Allium sativum* L.) et l'oignon (*Allium cepa* L.) qui sont les espèces les mieux connues, plusieurs autres espèces sont largement cultivées pour usage culinaire, comme le poireau (*Allium porrum* L.), la ciboule (*Allium fistulosum* L.), l'échalote (*Allium ascalonicum* Hort.), l'ail des ours (*Allium ursinum* L.), l'ail éléphant (*Allium ampeloprasum* L.), la ciboulette (*Allium schoenoprasum*) et la ciboulette chinoise (*Allium tuberosum* L.) [11]. Ainsi, le genre *Allium* contient de nombreuses espèces sauvages ou spontanées à usage culinaire et/ou ornemental tels que l'ail des ours (*Allium ursinum* L.), l'ail rosé (*Allium roseum* L.) et l'ail triquetre (*Allium triquetrum* L.) [6] [11] [12].

1.1.2. Utilisation et effets biologiques

Dans les anciennes civilisations ; l'ail, l'oignon et le poireau occupaient une place importante dans l'alimentation notamment chez les Grecs et les Romains, ainsi que de nombreux bienfaits pour la santé qui leur étaient attribués. En effet, l'ail a été utilisé au cours des siècles pour traiter les morsures d'animaux, la lèpre, la peste, les maladies du cœur et le cancer. en 1858, Louis Pasteur a montré que l'ail avait de puissantes propriétés antibactériennes ce qui a par la suite conduit à son utilisation dans les première et deuxième guerres mondiales pour prévenir la gangrène [13].

Actuellement, les plantes *Allium* spp. sont considérées comme les légumes les plus importants, ils sont consommés frais ou cuits dans différents plats, utilisés pour le traitement de nombreuses maladies et dans l'industrie agro-alimentaires en raison de leur teneur en phytonutriments. En effet, les espèces *Allium* sont utiles pour réduire le risque de maladies cardiovasculaires en raison de leurs effets antithrombotiques, antihypertenseurs, hypolipidémiques, hypocholestérolémians et antihyperhomocystéiniques. Ils sont également connus pour d'autres propriétés biologiques telles que antimicrobien, antiviral, antidiabétique, antiprotozoaire, antispasmodique, anticarcinogène, antimutagène, antiasthmatique, anti-inflammatoire, hépatoprotecteur, neuroprotecteur, hypotenseur, hypoglycémiant, immunosuppresseur, propriétés prébiotiques et de fortes propriétés antioxydantes. Toutes ces activités sont principalement attribuables aux teneurs élevées en composés bioactifs et en d'autres substances telles que les composés organosulfurés, flavonoïdes, terpénoïdes, caroténoïdes, phytoestrogènes, minéraux et vitamines [14] [15].

1.2. L'espèce *Allium triquetrum* L.

1.2.1. Origine et habitat

Selon PARSONS et CUTHBERTSON (2001), *A. triquetrum* est originaire des zones méditerranéennes, occidentales et centrales, d'Afrique et d'Europe. Elle est naturalisée sur les îles britanniques et au sud d'Australie [16].

En Algérie, elle est commune dans le nord, surtout au Tell et assez rare à l'Ouest [17] [18].

Les plantes poussent sur des sols secs à frais et préfèrent une exposition ensoleillée à semi-ombragée [19].

Les caractéristiques du sol et les conditions climatiques optimales pour la croissance de l'ail triquètre sont montrées dans les figures 1.1 et 1.2.

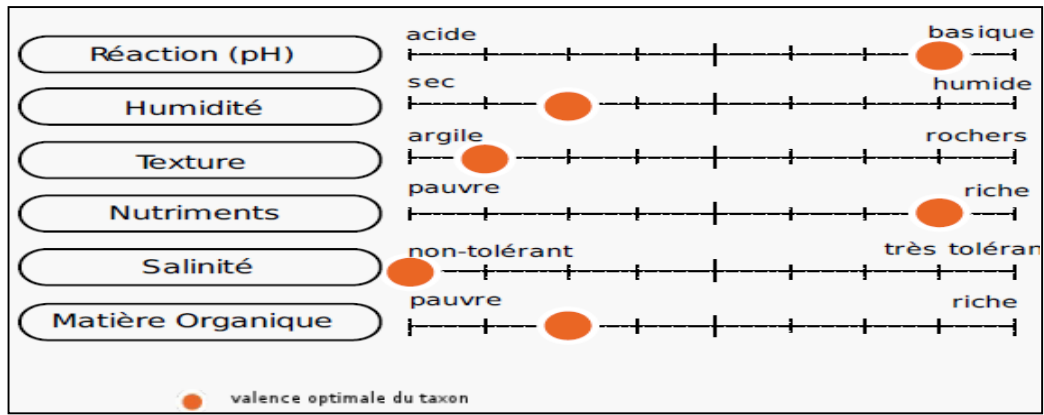


Figure 1.1 : Caractéristiques optimales du sol pour la croissance d'*A. triquetrum* [19]

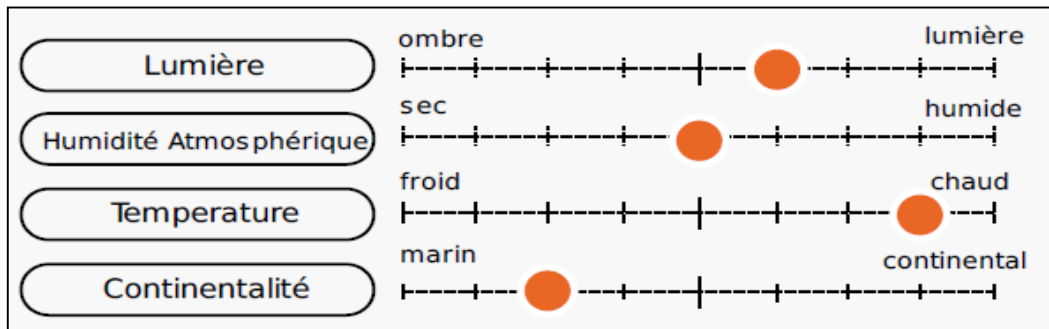


Figure 1.2 : Caractéristiques climatiques optimales pour la croissance d'*A. triquetrum* [19]

1.2.2. Nomenclature et Taxonomie

1.2.2.1. Nomenclature

“*Allium*” est le mot latin de l'ail qui se réfère à l'odeur caractéristique de l'ail associée à la plante, tandis que, “*triquetrum*” est le mot latin qui signifie trois angles et qui se réfère à l'aspect triangulaire de la tige à fleurs [20].

A. triquetrum possède plusieurs noms vernaculaires [17] [6] [20]:

Français: Ail triquètre, Ail campanulé, Ail à tige triquètre, Ail à trois angles, Ail sauvage.

Anglais: Angled Onion, Three-cornered Garlic, Three-cornered Leek, Triangular-stalked Garlic, Triangle Onion.

Arabe : Thoum el ghaba , Beçal eddib, Boubraïs

Kabyle : Vivrace

1.2.2.2. Taxonomie

Allium triquetrum L. est le nom botanique de l'ail triquètre.

Il existe deux types de classifications : la classification classique de Cronquist (1981) [21] et la classification phylogénétique III (2009) [8] (Tableau 1.1).

Tableau 1.1 : Classification taxonomique classique et phylogénétique d'*Allium triquetrum* L. [8] [21]

Classification classique des Angiospermes (Cronquist, 1981)	Classification phylogénétique des Angiospermes (APG III, 2009)
<p>Règne : <i>Plantae</i></p> <p>Sous-règne : <i>Tracheobionta</i> - Plantes vasculaires</p> <p>Embranchement : <i>Spermatophyta</i> - Plante à graines</p> <p>Division: <i>Magnoliophyta</i> - plantes à fleurs</p> <p>Classe : <i>Liliopsida</i>-Monocotylédones</p> <p>Sous-classe : <i>Liliidae</i></p> <p>Ordre : <i>Liliales</i></p> <p>Famille : <i>Liliaceae</i></p> <p>Sous-famille : <i>Alliaceae</i></p> <p>Genre : <i>Allium</i></p> <p>Espèce : <i>Allium triquetrum</i> L.</p>	<p>Règne : <i>Plantae</i></p> <p>Sous-embranchement : <i>Angiosperms</i></p> <p>Classe : <i>Monocot</i></p> <p>Ordre : <i>Asparagals</i></p> <p>Famille : <i>Amaryllidaceae</i></p> <p>Sous-famille : <i>Allioideae</i></p> <p>Genre : <i>Allium</i></p> <p>Espèce : <i>Allium triquetrum</i> L.</p>

1.2.3. Description botanique

A. triquetrum (Figure 1.3) est une plante vivace, bulbeuse, dont la longueur varie selon la provenance et les conditions environnementales [22].

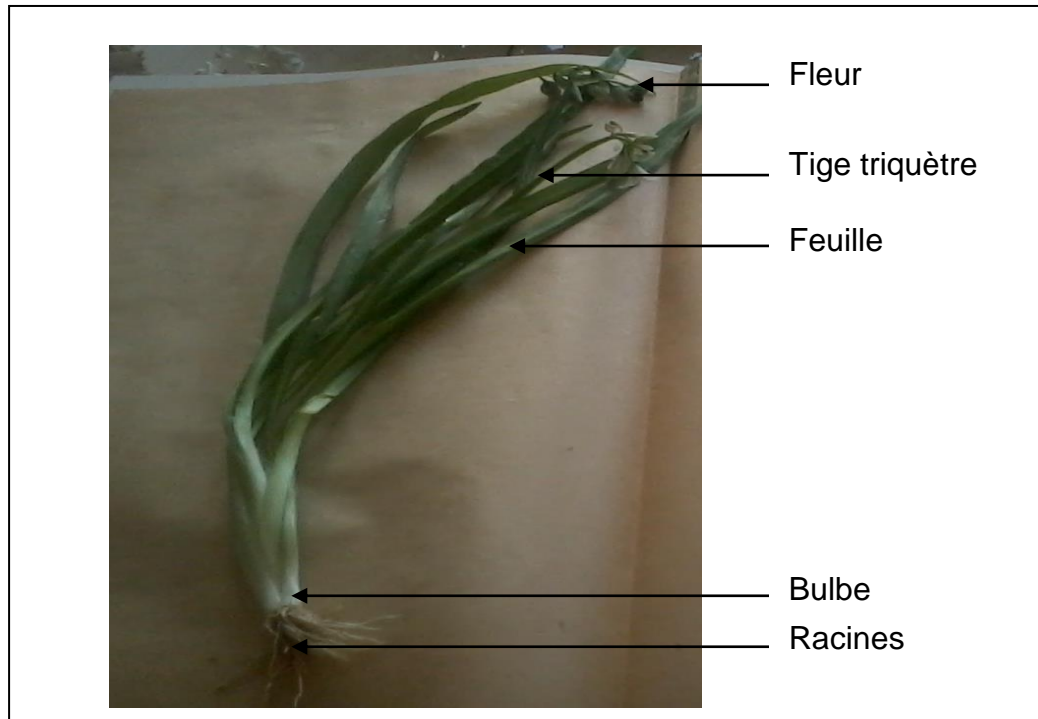


Figure 1.3 : *Allium triquetrum* L. (vue générale) (Originale, 2013)

1.2.3.1. Feuilles et tiges florales

Habituellement, les feuilles ont une longueur de 30 à 40 cm, d'environ 1,5 cm de large, et proviennent directement du bulbe. Leur nombre varie d'une plante à une autre, mais chacune se compose habituellement de 2 à 5 feuilles et 1 à 3 tiges florales par bulbe. Ces feuilles sont vertes, lancéolées et ont une forte odeur d'oignon lorsqu'elles sont coupées ou écrasées. La tige est triangulaire en coupe, érigée, provenant directement du bulbe et plus longue que les feuilles, habituellement de 30 à 50 cm. Elle se termine par une ombelle, chacune contenant 5 à 10 fleurs (Figures 1.4 et 1.5) [16].



Figure 1.4 : Vue d'un plant d'*A. triquetrum* [23]

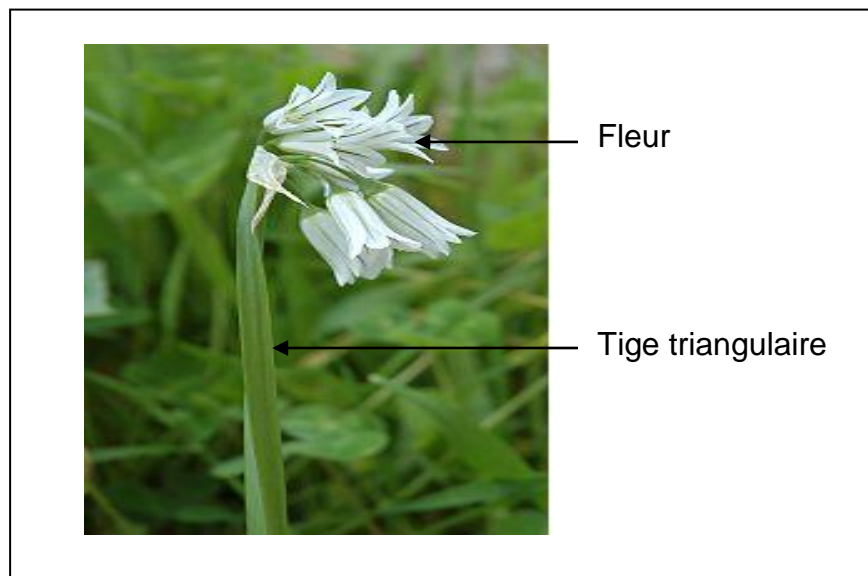


Figure 1.5 : La tige triquète d'*A. triquetrum* [24]

1.2.3.2. Fleurs

Les fleurs d'*A. triquetrum* (figure 1.6) sont campanulées, pendantes et en ombelle (5 à 10 fleurs), qui est sous-tendue par une spathe. Elles sont

hermaphrodites (dioïques possédants des étamines et des carpelles) chasmogames et actinomorphes avec six tépales (péricorolle) qui présentent une raie verte centrale. Le pédicelle est plus long que la fleur et le gynécée (pistil) comprend un ovaire supère à trois loges, un style court et un stigmate divisé en trois. L'ovaire a trois carpelles unis, chacun avec 1 à 2 ovules par loge. L'androcée est composé de six étamines, soudées à la base des tépales. [22].

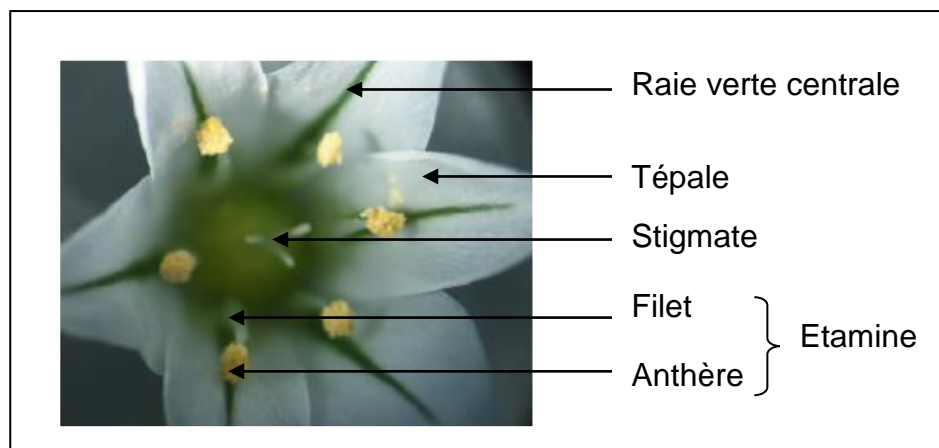


Figure 1.6 : Détails de la fleur d'*A. triquetrum* [22].

Généralement, la période de floraison a lieu en fin de l'hiver au début du printemps, mais elle peut être significativement modifiée par les conditions saisonnières et la température après la maturation des bourgeons. Les bulbes stockés entre 5 à 10°C s'épanouissent plutôt que ceux stockés à 15°C [22].

1.2.3.3. Fruits et graines

Après fécondation, les fleurs se transforment en fruits qui sont sous forme de capsules globulaires, vertes, de 3 à 6 mm de diamètre et contenant les graines (Figure 1.7). Celles-ci sont généralement en nombre de six par capsule, noires et oblongues de 2 à 3 mm de long [16] [25] (Figure 1.8). Les graines ont une courte durée de vie (1 an) et chaque plante peut produire jusqu'à 50 graines par saison [22].



Figure 1.7 : Fruits d'*A. triquetrum* [22]



Figure 1.8 : Graines d'*A. triquetrum* [22]

1.2.3.4. Bulbes et racines

Les bulbes tuniqueés sont des organes de stockage souterrains lorsque le feuillage disparaît et forment les jeunes plantes pour la prochaine saison de croissance. Les bulbes et les bulbilles d'*A. triquetrum* sont habituellement petits, ovoïdes, blanc-crème, de 4 à 22 mm de diamètre et de 0,5 à 2 cm de long, avec une forte odeur semblable à l'oignon. Les bulbes se situent à la base de la tige triquète avec des racines blanches qui ne se propagent pas profondément, mais qui peuvent s'étendre jusqu'à 30 cm de long selon la saison et le type du sol [22].



Figure 1.9 : Bulbes et racines d'*A. triquetrum* (Originale, 2013)



Figure 1.10 : Bulbes et bulbilles d'*A. triquetrum* (Originale, 2013)

1.2.4. Utilisation de *A. triquetrum*

L'ail triquètre est une plante comestible et ornementale. En Italie, elle est utilisée comme ingrédient principal dans les salades et les soupes à cause de son goût doux semblable à celui de l'oignon [6].

En Algérie, dans certaines régions telles que la Kabylie et Blida, la plante entière est consommée sous forme d'omelette et utilisée pour aromatiser les galettes de pain ou assaisonner les salades. Ainsi, Les jeunes feuilles se mangent crues ou cuites et peuvent accompagner d'autres légumes dans le couscous.

Selon plusieurs études ethnobotaniques, l'ail triquètre est considéré comme une plante condimentaire et médicinale. En effet, elle possède des vertus anti-inflammatoire, antiseptique et anti parasitaire [26]. Le bulbe est hypotenseur et vermifuge [27] [28]. Ainsi, la plante entière et les fleurs sont utilisées pour la prévention des reins et des intestins et présentent également des effets soporifiques [29].

1.3. Les métabolites secondaires

Le terme «métabolite secondaire», qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques. Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale extraordinaire [30]. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique [31].

Ces substances représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agro-alimentaire.

Les métabolites secondaires peuvent être classés en plusieurs grands groupes, dont les plus importants sont les polyphénols, les composés terpéniques et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine [32].

En parallèle, il existe d'autres classes de métabolites secondaires, qui sont spécifiques à certaines plantes, tels que les composés soufrés. Ces derniers représentent les molécules clés chez les plantes *Allium*; ils confèrent les saveurs caractéristiques à ces espèces et sont responsables de la plupart de leurs effets biologiques [11] [13].

1.3.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent le groupe de composés chimiques le plus distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues. L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction (éther, ester, hétéroside).

Les principales classes des polyphénols sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines [33] [34].

1.3.1.1. Les acides phénoliques

Un acide-phénol (ou acide phénolique) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ces composés sont formés de deux catégories :

La première catégorie contient les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque qui par monohydroxylation et/ou polyhydroxylation forme des acides phénoliques et des acides polyphénoliques respectivement l'acide gallique et l'acide protocatéchique.

La deuxième catégorie regroupe les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique. De même avec l'acide cinnamique, l'hydroxylation conduit à l'acide *p*-coumarique et à l'acide caféique [33].

Les espèces *Allium* contiennent plusieurs types d'acides phénoliques, parmi lesquelles on cite : l'acide férulique, l'acide gallique, l'acide coumarique, l'acide hydroxybenzoïque, l'acide cafféique et l'acide chlorogénique [15].

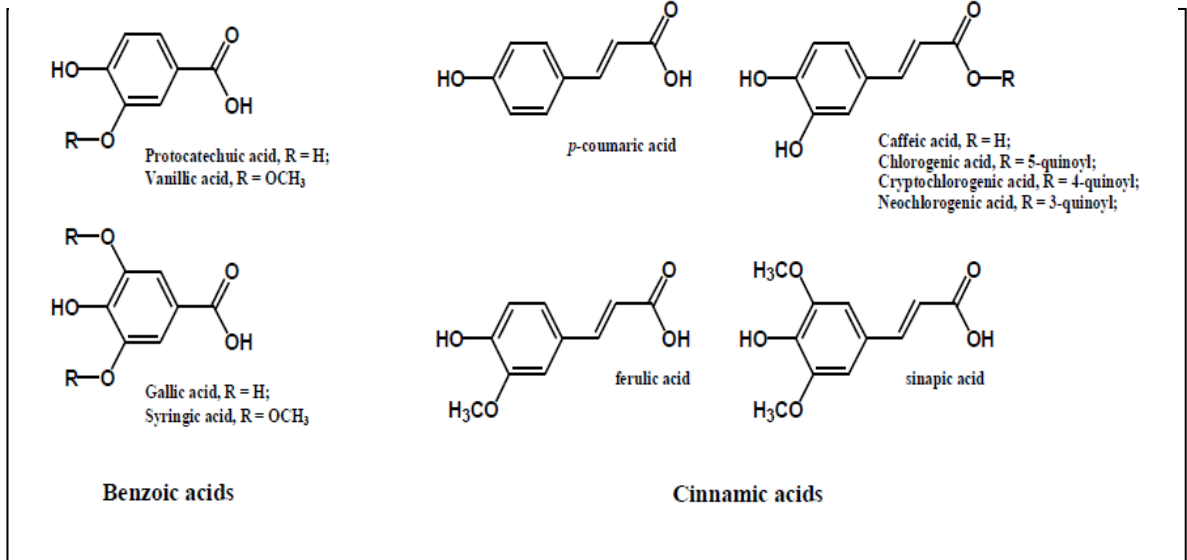


Figure 1.11 : Les différents types des acides phénoliques [33]

1.3.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent la plus vaste classe de composés phénoliques. A présent plus de 4000 composés ont été identifiés. Ces composés ont une structure de base C₆-C₃-C₆ formé de 2 noyaux benzéniques A et B reliés par un noyau C qui est un hétérocycle pyranique. En fonction du carbone du cycle C sur lequel le cycle B est attaché et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C, les flavonoïdes peuvent être subdivisés en différents sous-groupes. Les flavonoïdes dans lesquels le cycle B est lié en position 3 du cycle C sont appelés isoflavones. Ceux dans lesquels le cycle B est lié en position 4 sont appelés néoflavonoïdes, tandis que ceux dans lesquels le noyau B est lié en position 2 peuvent être subdivisés en plusieurs sous-groupes sur la base des caractéristiques structurelles du noyau C. Ces sous-groupes sont: les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanols ou les catéchines, les anthocyanes et les chalcones [33] [35].

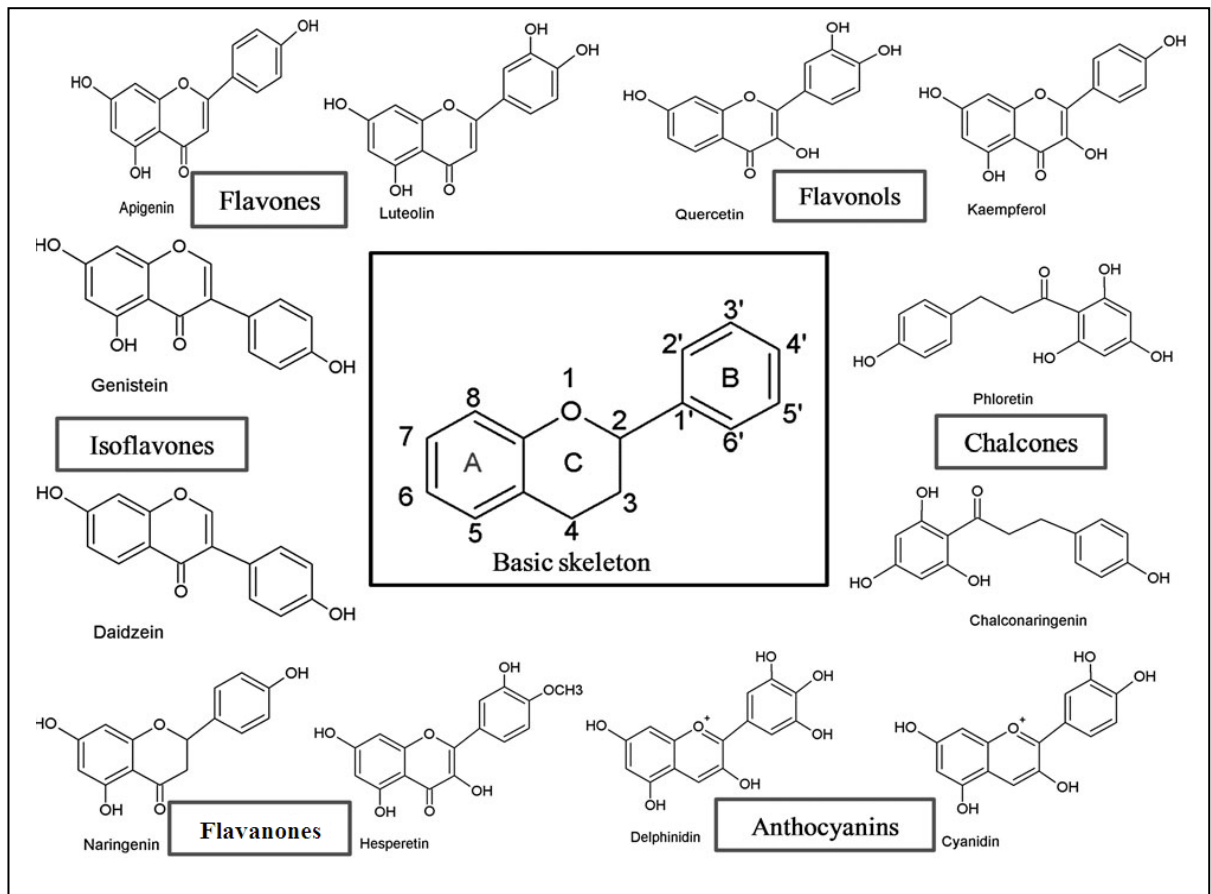


Figure 1.12 : Structure de base des flavonoïdes et leurs différentes classes [35]

Les flavonols et les anthocyanes sont les principales sous-classes de flavonoïdes présents dans le genre *Allium* [14].

Corea *et al.* (2003) ont montré la présence de grandes quantités de flavonoïdes de type kaempférol aussi bien dans les bulbes que dans les fleurs de *A. triquetrum*. Les sept glycosides kaempférol isolé sont 3-O-(2-O-*trans-p*-coumaroyl) glucoside, kaempferol 3-O-(2-O-*trans-p*-feruloyl) glucoside, kaempferol 3-O-glucoside, kaempferol 3-O-rutinoside, kaempferol 7-O-glucoside, 8-hydroxykaempferol 8-Oglucoside et kaempferol 3-O-[2-O-(*trans-p*-coumaroyl)-3-O- β -D-glucopyranosyl]- β -D-glucopyranoside [6].

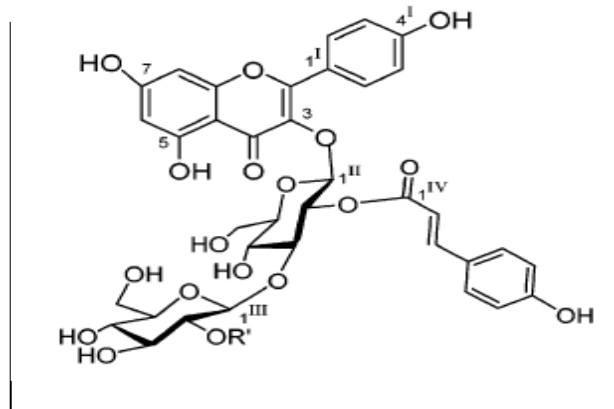


Figure 1.13 : Structure chimique du kaempferol 3-O-[2-O-(*trans-p*-coumaroyl)-3-O- β -D-glucopyranosyl]- β -D-glucopyranoside de *A. triquetrum* [6]

1.3.1.3. Les tanins

Les tanins sont naturellement un groupe hétérogène de composés phénoliques ayant diverses structures qui partagent leurs capacités de liaison et de précipitation des protéines. On distingue deux groupes de tanins: les tanins hydrolysables et les tanins condensés également appelés proanthocyanidines.

Les tanins hydrolysables sont constitués d'un noyau de polyol (généralement du D-glucose), qui est estérifié avec des acides phénoliques (principalement l'acide gallique ou l'acide hexahydroxy diphénique). Ils sont sensibles à l'hydrolyse par des acides, des bases ou des estérases [36].

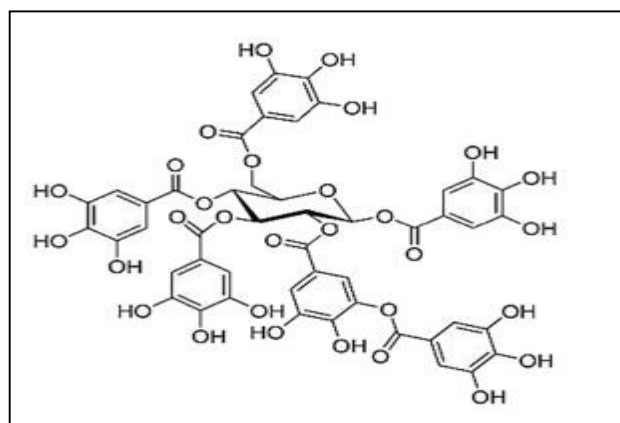


Figure 1.14 : Structure de base des tanins hydrolysables [36]

Les tanins condensés sont des flavonoïdes oligomères ou polymères constitués d'unités de type flavan-3-ol, comprenant la catéchine, l'épicatéchine, la gallocatéchine et l'épigallocatéchine. Contrairement aux tanins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seuls des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader [36].

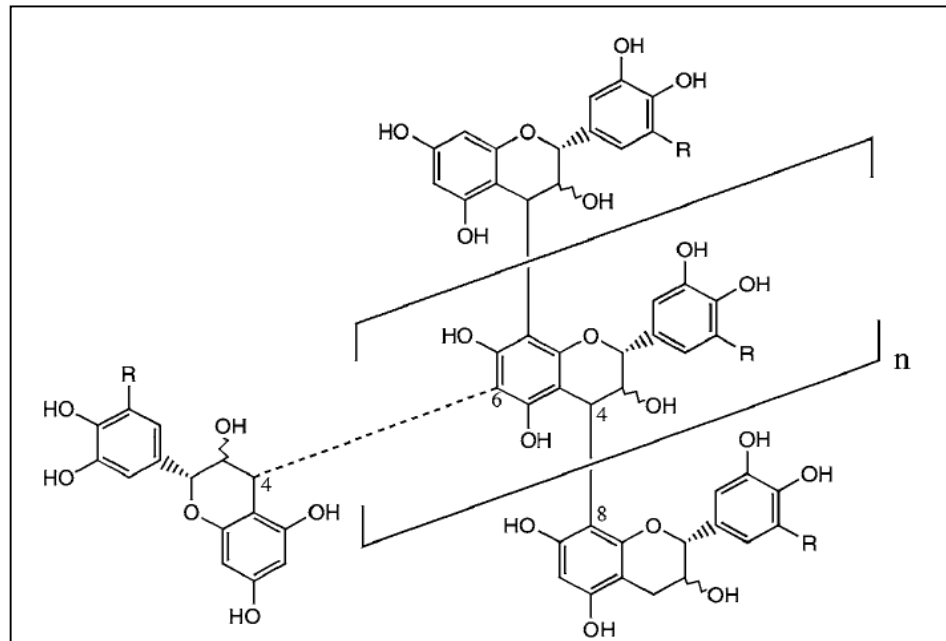


Figure 1.15 : Structure chimique de base des tanins condensés [37]

1.3.1.4. Les coumarines

Les coumarines sont une famille de benzopyrones (1,2 benzopyrones ou 2H-1-benzopyran-2-ones) largement répandues dans la nature. Ils représentent une famille importante d'hétérocycles naturels contenant de l'oxygène, portant un cadre typique de benzopyrone.

Structurellement, ils sont considérés comme des dérivés de l'acide ortho-hydroxy-cinnamique. Généralement, elles peuvent être classées chimiquement selon les noyaux les plus courants: les coumarines simples, les coumarines complexes et diverses coumarines. Les coumarines plus complexes sont généralement fusionnées avec d'autres hétérocycles. Par conséquent, elles

peuvent être classées comme suit: coumarines simples, furocoumarines, dihydrofurocoumarines, pyranocoumarines (linéaires et angulaires), phénylcoumarines et biscoumarines [38].

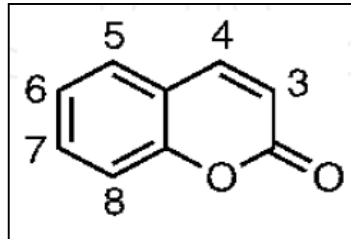


Figure 1.16 : Structure de base des coumarines (Benzo-2-pyrone) [38]

1.3.2. Les terpènes

Les terpènes appartiennent à la plus grande classe de métabolites secondaires et constituent l'une des plus polymorphes et des plus grandes familles de composés naturels. Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène C_5H_8 et ont pour formule de base des multiples de celle-ci $(C_5H_8)_n$. Selon le nombre d'entités isoprène, les terpènes sont subdivisés en : hémiterpènes C_5H_8 , monoterpènes $C_{10}H_{16}$, sesquiterpènes $C_{15}H_{24}$, diterpènes $C_{20}H_{32}$, sesterpènes $C_{25}H_{40}$, triterpènes $C_{30}H_{48}$ et tetraterpènes $C_{40}H_{64}$ [39].

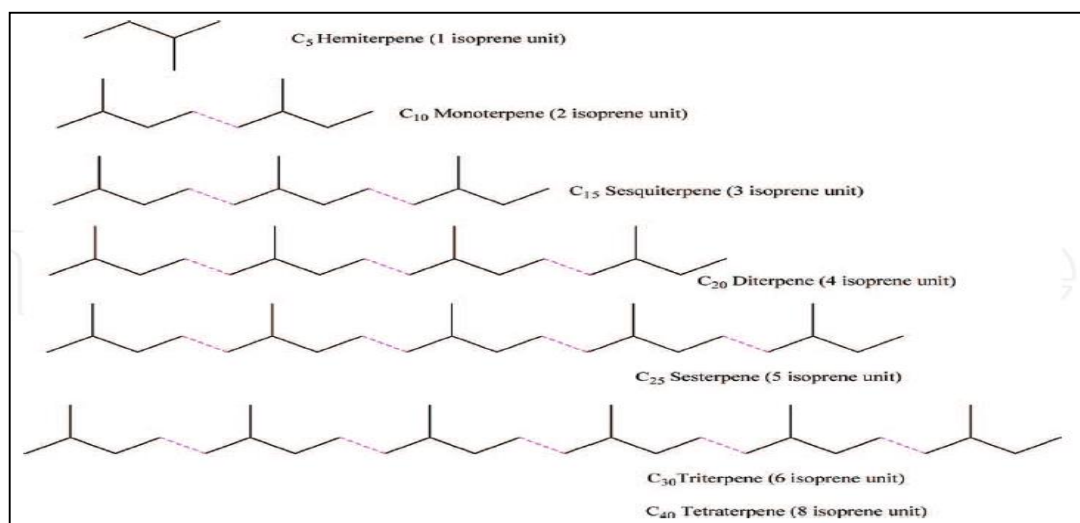


Figure 1.17 : Classification des terpènes [39]

1.3.3. Les saponines

Les saponines, également appelées saponosides, sont des hétérosides. Leur hydrolyse libère un ou plusieurs oses et une sapogénine (partie aglycone). Ce sont des composés avec des propriétés détergentes (tensioactives, émulsionnantes).

Selon le type de sapogénine présent, les saponines peuvent être divisées en trois classes principales: saponines triterpéniques, saponines stéroïdiques et saponines alcaloïdiques. Les saponines stéroïdes sont elles-mêmes divisées en saponines furostanol et saponines spirostanol. Les saponines furostanol sont plutôt contenues dans la plante fraîche, et sont ensuite progressivement converties en saponines spirostanol pendant le séchage, via une réaction enzymatique [40].

Généralement, les espèces *Allium* possèdent des saponines de type stéroïde [41]. Selon *corea et al.* (2003), les fleurs et les bulbes d'*A. triquetrum* contiennent des saponines stéroïdiques de type furostanol nommés triquetrosides. Cependant, les saponines sont plus concentrées dans les fleurs et ne sont présentes qu'à l'état de traces dans les bulbes [6].

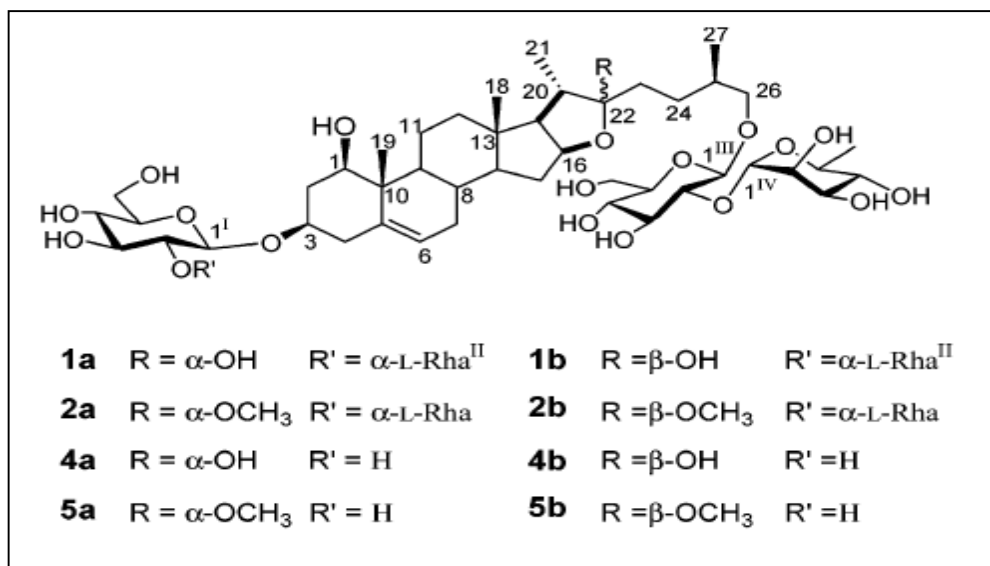


Figure 1.18 : Structure chimique des saponines d'*A. triquetrum* [6]

1.3.4. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des structures hétérocycliques contenant un ou plusieurs atomes d'azote. La classification des alcaloïdes tient compte de deux paramètres distincts : la position de l'atome d'azote au sein de la structure et les différentes fonctions qui en découlent, et la famille de plantes dont ils sont extraits. On compte cinq grandes classes d'alcaloïdes, chacune divisée en plusieurs sous familles : les alcaloïdes hétérocycliques, les alcaloïdes portant un atome d'azote exocyclique, les alcaloïdes de type putrescine, spermidine et spermine, les alcaloïdes peptidiques et les alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens. La grande majorité des alcaloïdes fait partie de la classe des alcaloïdes hétérocycliques. Celle-ci est divisée en plusieurs familles suivant le motif hétérocyclique qui la compose (pyrrole, indole, pipéridine, tropane, imidazole, isoquinoline) [42].

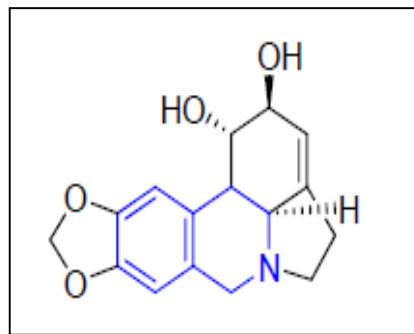


Figure 1.19 : Exemple d'alcaloïde isoquinoléique d'*Amaryllidacea* [31]

1.3.5. Les composés soufrés

Les composés soufrés, encore appelés composés organosulfurés, sont des molécules avec un ou plusieurs atomes de soufre dans leur formule chimique. Certains de ces composés soufrés sont solubles dans l'eau, tandis que d'autres sont hydrophobes [43].

1.3.5.1. Les gamma-glutamyl-peptides

Ce sont des composés solubles dans l'eau et non volatiles. Ils sont présents dans les plantes *Allium* à l'état frais et intact, au niveau du cytoplasme des cellules.

Les γ -glutamyl peptides jouent le rôle de source de réserves pour l'azote et le soufre et servent d'intermédiaires dans la biosynthèse des S-alk(en)ylcystéine sulfoxydes qui sont les précurseurs des substances aromatiques. Plus de 24 molécules de γ -glutamyl-peptides ont été identifiées dont les plus importants sont : γ -glutamyl-S-allylcystéine, γ -glutamyl-S-propyl cystéine γ -glutamyl-S-propenylcystéine et γ -glutamyl-S-méthylcystéine [13] [43].

1.3.5.2. Les S-alk(en)ylcystéine sulfoxydes

Les cystéine-sulfoxydes sont des composés moins volatils et moins actifs et sont les précurseurs des substances aromatiques émises à la suite de blessures ou des agressions. Les quatre principaux précurseurs sont l'alliine (S-allyl-L-cystéine sulfoxyde, AICSO), l'isoalliine (S-1-propényl-L-cystéine sulfoxyde, PeCSO), la méthiine (S-méthyl-L-cystéine sulfoxyde, MCSO) et la propiine (S-propyl-L- cystéine sulfoxyde, PCSO) [13].

La contenance en sulfoxydes chez les *Allium* cultivées ou sauvages varie considérablement entre les espèces et entre les différents échantillons de la même espèce. C'est la propiine qui domine chez le poireau, l'isoalliine chez l'oignon et les échalotes et l'alliine chez l'ail. *A. triquetrum* contient les précurseurs des composés aromatiques avec les proportions suivantes: 43 – 56 % de méthiine, 21 – 31 % d'alliine, 19 – 26 % d'isoalliine et 0 – 4 % de propiine [44].

Ces composés sont localisés dans des compartiments au sein du cytoplasme des cellules, uniquement quand la plante est intacte et sont isolés d'une enzyme hydrolytique appelée allinase qui est une S-alkyl-L-cystéine sulfoxyde lyase présente dans les vacuoles des cellules intactes de la plante (Les *Allium* en ont tous, mais la structure de l'enzyme varie entre les espèces). Les composés cystéine-sulfoxydes ne sont pas responsables des saveurs caractéristiques des espèces *Allium*, mais les substances qui en dérivent [13] [43].

1.3.5.3. Les thiosulfates

Dès que les cellules sont lésées ou broyées, l'alliinase entre en contact avec les cystéine-sulfoxydes et les transforment en d'autres composés hautement réactifs et qui forment rapidement les thiosulfates ou « principe lacrymatoire ». Parmi ces thiosulfates, on cite le diallyl sulfoxyde ou l'alicine chez l'ail et le dipropyl sulfoxyde chez l'oignon. L'allinase sert donc de moyen de défense de la plante contre les nuisibles et elle est inactivée par la chaleur ou par un milieu acide. Elle est ainsi inhibée par l'acidité de l'estomac et par la cuisson. Cependant, ces composés sont très instables et se transforment, lors de la cuisson ou spontanément, en sulfures ou disulfures d'allyl, de propyl ou de propényl [11] [45].

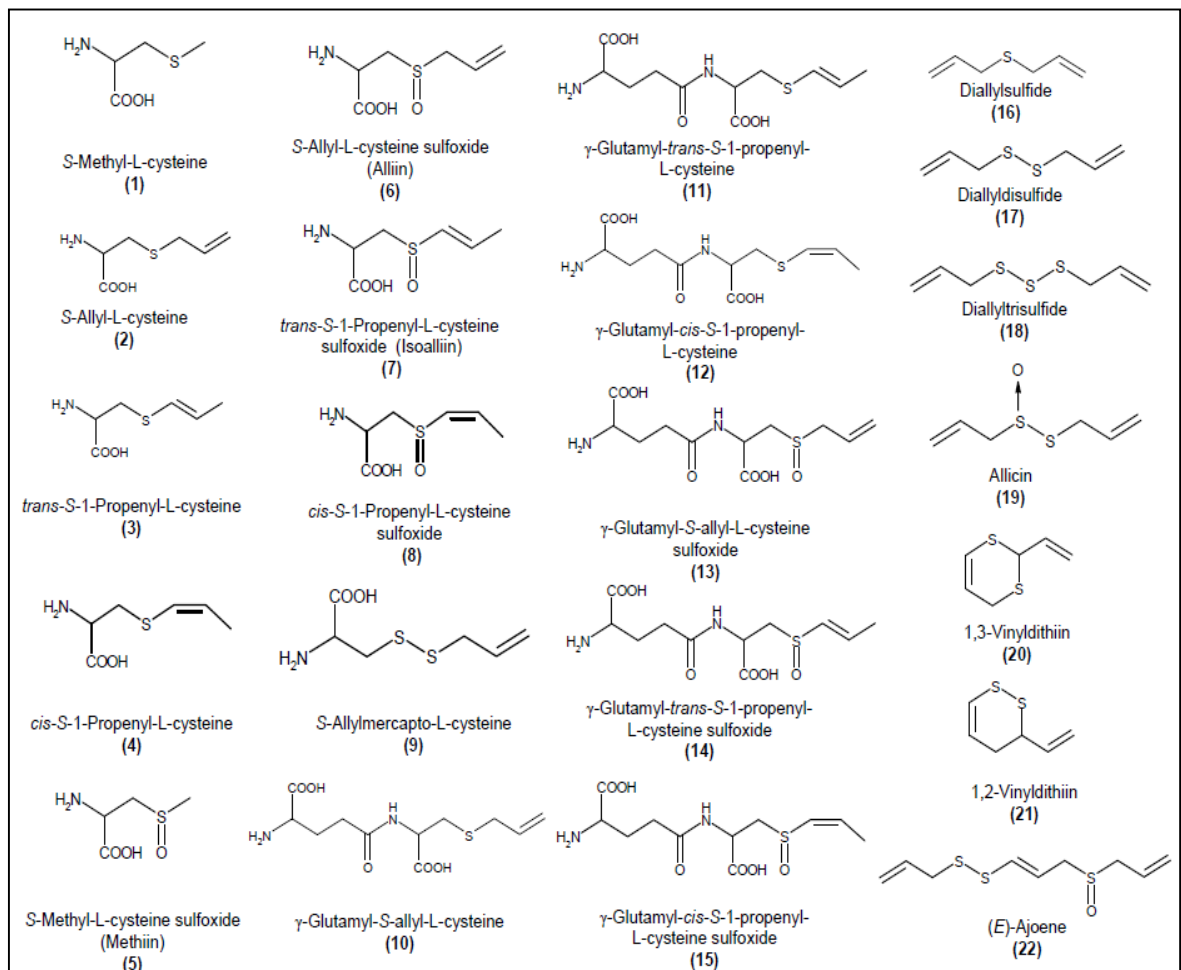


Figure 1.20 : Structures chimiques de quelques composés soufrés [45]

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

2.1. MATERIEL

2.1.1. Matériel végétal

A. triquetrum a été récoltée dans la région de la Mitidja (Chebli, Blida, Algérie) durant la période de floraison (Mars – Mai). Son identification a été effectuée au niveau du laboratoire de Biologie Végétale du département de Biologie à l'université de Blida 1 et au département de Botanique de l'école nationale supérieure agronomique ENSA d'El Harrach.

Les deux parties (aérienne et souterraine) de la plante ont été séparées, lavées et coupées en petits morceaux puis séchées à l'abri de la lumière et à température ambiante (25 à 28°C). Le matériel végétal est enfin broyé pour obtenir une poudre fine. Une quantité de la plante fraîche a été également utilisée dans le cadre de l'activité antimicrobienne.

2.1.2. Matériel animal

Les animaux de laboratoires utilisés sont des souris provenant de l'animalerie du centre de recherche et de développement CRD d'El-Harrach, et de l'animalerie de la filiale Antibiotical de Médéa du groupe SAIDAL avec l'identification suivante:

Souris : *Mus musculus*, variété Albinos ; Souche : NMRI (Naval Medical Research Institute) ; Poids : 18 à 21 g.

Nourriture : Granules à base de maïs très énergétique provenant de l'ONAB (Office national des aliments de bétail) ; Boisson : eau du robinet.

La température de l'animalerie est de 25 ± 02 °C avec un taux d'humidité de 75 % et une photopériode de 12/24 h.

Les souris reçoivent de l'eau et de la nourriture à volonté et sont mis à jeun 18 heures avant toute expérimentation.

2.1.3. Les souches microbiennes

Les souches microbiennes (bactéries et levures), utilisées dans cette étude sont de référence ATCC (American Type Culture Collection).

Certaines souches microbiennes ont été fournies par l'unité de microbiologie du CRD-SAIDAL d'EL-HARRACH :

Les bactéries: *Bacillus subtilis* ATCC 9372, *Escherichia coli* ATCC 8723, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Les levures: *Candida albicans* ATCC 24433 et *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601.

En revanche, d'autres souches bactériennes ont été fournies par le laboratoire d'hygiène de Blida :

Acinetobacter sp. ATCC 272, *Enterococcus* sp. ATCC 1915, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 1808, *Proteus mirabilis* ATCC 1187 et *Streptococcus* sp. ATCC 1134.

2.2. Méthodes

2.2.1. Etude histologique des feuilles et tiges

Cette étape consiste en l'étude microscopique de la feuille et la tige dont le but est de chercher des spécificités morphologiques et anatomiques de la plante. Par contre, l'examen des bulbes n'a pas été fait, à cause de difficultés rencontrés lors de la réalisation des coupes histologiques.

L'examen microscopique des feuilles et des tiges a été réalisé en effectuant des coupes très fines au niveau des organes à l'état frais. Une double coloration des coupes a été réalisée pour observer les tissus. La coloration est réalisée selon le protocole adopté au sein du laboratoire de Biologie Végétale du Département de Biologie (Université de Blida) avec les étapes suivantes :

- Les coupes sont plongées dans hypochlorite de sodium à 12° pendant 10 à 15 min pour vider les cellules de leurs organites, en particulier les chloroplastes.
- Après rinçage à l'eau courante de 5 à 10 min, les coupes sont traitées par l'acide acétique à 10% pendant 1 à 2 min pour faciliter la diffusion des colorants,
- Ces coupes sont ensuite lavées à l'eau courante 5 à 10 min et placées dans le vert de méthyle pendant 15 à 20 min,
- Les coupes sont rincées à l'eau courante de 5 à 10 min puis plongées dans le rouge congo 15 à 20 min,
- Après lavage à l'eau courante, les coupes sont montées entre lame et lamelle puis observées au microscope photonique.

2.2.2. Teneur en eau

La teneur en eau de la plante a été déterminée selon le protocole de ZERRAD *et al.* (2008) par le procédé de séchage des échantillons de poids déterminés dans une étuve à 75°C.

Les échantillons (bulbes, feuilles) ont été pesés à l'état frais avant de les placer dans l'étuve à une température de 75°C. Par la suite, des pesés ont lieu, toutes les 24 h jusqu'à obtention d'un poids constant [46]. Trois répétitions ont été réalisées pour cette étude.

La teneur en eau est calculée comme suit :

$$Te (\%) = \frac{\mathbf{Poids\ frais} - \mathbf{Poids\ sec}}{\mathbf{Poids\ frais}} \times 100$$

Te : Teneur en eau exprimée en pourcentage (%) de poids sec.

Le calcul de la teneur moyenne est réalisé comme suit :

$$Te(moy) = \frac{\mathbf{Te1} + \mathbf{Te2} + \mathbf{Te3}}{\mathbf{3}}$$

Te (moy) : teneur en eau moyenne

Te1 : teneur en eau de l'échantillon n°1

Te2 : teneur en eau de l'échantillon n°2

Te3 : teneur en eau de l'échantillon n°3

2.2.3. Etude de la composition minérale

2.2.3.1. Teneur en cendres

Dans cette étape la teneur en cendres des feuilles et celle des bulbes a été déterminée. Cette étude est faite par la répétition de trois essais.

La minéralisation, selon la méthode de MARTIN-PREVEL *et al.* [47] et PINTA [48] [49], consiste à incinérer et à calciner la poudre végétale selon le procédé du chauffage de l'échantillon au dessus de son point de fusion pour l'élimination des constituants carboniques jusqu'à l'obtention des cendres blanches.

- Mode opératoire

Les étapes de la minéralisation sont les suivantes :

- Dans une capsule en porcelaine, nous pesons 2 g de poudre végétale.

- La capsule est déposée dans le four à moufle froid, puis nous élevons la température jusqu'à 500 à 550°C pendant 4 heures, afin d'assurer la disparition de toute tache noire.

- Un refroidissement au dessiccateur pendant 30 min, est obligatoire avant de peser.

Le taux des cendres est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de plante. Il a été calculé comme suit :

$$Tc \% = \frac{Pce - Pc}{P} \times 100$$

Tc : teneur en cendres exprimée en % de poids sec

P : poids de l'échantillon « poudre de plante »

Pc-e : poids du creuset avec les cendres

Pc : poids du creuset vide

La teneur en cendres moyenne est calculée selon la formule suivante:

$$Tc(moy) = \frac{T1 + T2 + T3}{3}$$

2.2.3.2. Dosage des ions et oligo-éléments

La détermination des cations et anions présents dans les échantillons a été faite par la chromatographie ionique (CI), tandis que le dosage des oligo-éléments a été réalisé par la spectrométrie à absorption atomique (SAA).

L'analyse des minéraux par ces deux techniques a été effectuée au laboratoire central de la Police Scientifique et Technique d'Alger.

- Préparation de la solution des cendres

Les cendres ont été mises en solution selon les étapes suivantes :

- les cendres dans la capsule ont été repris par 2 ml d'acide nitrique (ou acide chlorhydrique) concentré, elles sont ensuite chauffées jusqu'à l'apparition des premières vapeurs, quelques millilitres d'eau ultra-pure sont ajoutés.

- Le contenu ainsi obtenu est filtré dans une fiole jaugée puis complété avec de l'eau ultra-pure jusqu'à 100 ml.

L'appareil de chromatographie ionique utilisé est de type Biomax (ICS 3000), tandis que l'appareil utilisé pour le dosage des oligo-éléments est un SAA à flamme de type Perkin Elmer (Analyst 800). Les conditions opératoires sont regroupées dans les tableaux 2.1 et 2.2.

Tableau 2.1 : Les conditions opératoires de la chromatographie ionique

	Cations	Anions
Eluant	22 mM CH ₄ O ₃ S	30 mM KOH
Débit	1 ml/min	1,5 ml/min
Tepérature	30°C	30°C
Colonne	Ion PAC® CS12A Analytical (4x 250 nm)	Ion PAC® AS11-HC Analytical (4x 250 nm)
Détecteur	Suppressed conductivity using a CD25	Suppressed conductivity using a CD25
Suppresseur	Anion Self – Regenerating Suppressor (CSRS® ultra II, 4 mm)	Cation Self – Regenerating Suppressor (ASRS® ultra II, 4 mm)

Tableau 2.2 : Les conditions opératoires de la SAA

Mode Instrument : Flamme		Mode Spectro : Densité optique
Longueur d'onde	Fe : 248,3 nm Mn : 279,5 nm Zn : 213,9 nm Cu : 324,8 nm Pb : 283,3 nm	Fente : 0,7
Courant Lampe	80%	Correction de fond : En fonction
Type du Signal	Continu	
Nombre de Mesure	1	Temps de mesure : 4,0 sec
Mode Rejet	Non	
Type de flamme	Air - C ₂ H ₂	Débit combustible (L/min) : 17/2
Oxydant Auxilliaire	Arrêt	Stabilisation de Flamme: 4,0 sec
Mode d'étalonnage	Normal	Calcul : Linear trough Zero

2.2.4. Etude des principes actifs d'*A. triquetrum*

2.2.4.1. Screening phytochimique

Le criblage phytochimique a été effectué sur les décoctés aqueux des bulbes et feuilles ou directement sur la poudre végétale en utilisant la méthode standard basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation.

Ce screening a été réalisé au laboratoire de physico-chimie de la filiale Antibiotical du groupe SAIDAL de Médéa.

- Préparation des décoctés aqueux

Une décoction aqueuse a été préparée en plaçant 10 g de poudre végétale (feuilles ou bulbes) dans 200 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 1 h. Le décocté est refroidi puis filtré.

- Polyphénols

Ils sont caractérisés par la réaction au chlorure ferrique (FeCl_3). À 2 ml de chaque décocté aqueux, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% a été ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée est le signe de la présence de polyphénols [50].

- Flavonoïdes

De nombreuses réactions colorées permettent de caractériser les flavonoïdes mais la plus connue et retenue est celle de la cyanidine. A 1 ml de chaque décocté aqueux on ajoute 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium. Les flavonoïdes sont responsables d'un dégagement d'hydrogène et d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre [12].

- Saponosides

1 g de poudre végétale et 100 ml d'eau distillée sont placés dans un erlenmeyer, porté au bain-Marie bouillant et maintenus en ébullition pendant 30 min tout en agitant régulièrement. Après refroidissement, le mélange est filtré et le

filtrat est agité manuellement pendant 15 secondes. La persistance de la mousse indique la présence des saponosides [12].

- Tanins

Une quantité de 1,5 g du matériel végétal sec a été placée dans 10 ml de méthanol 80% est agitée durant 15 mn puis filtrée. On ajoute quelques gouttes du chlorure ferrique (FeCl_3) 1% à l'extrait méthanolique déjà préparé. En présence de tanins galliques et ellagiques, on observe une coloration bleue noire, alors qu'en présence de tanins catéchiques cette coloration est brune verdâtre [51].

- Alcaloïdes

Prendre 5 ml du décocté aqueux et ajouter 3 ml l'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré (96%) et 5 ml d'une solution d'iodomercurate de potassium (réactif de Valsler Mayer). Le test est considéré positif par l'apparition d'une coloration blanc crème [52].

- Terpènes

Ils ont été recherchés par la réaction de Liebermann-Burchard. 1 ml d'anhydride acétique est ajouté à 5 ml du décocté suivi d'une bonne agitation. Par la suite, 1 ml d'acide sulfurique concentré est ajouté au fond du tube sans agiter. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive [50].

- Quinones libres

On ajoute quelques gouttes de NaOH 1/10 aux décoctés. La présence de quinones libres est confirmée par un virage de la couleur des phases aqueuses au jaune, rouge ou violet [53].

- Anthraquinones

À l'extrait décocté de feuilles ou bulbes, on ajoute du KOH aqueux 10%. Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge [12].

- Anthocyanines

À 5 ml d'extrait aqueux on ajoute 5 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) puis 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH). Une coloration rouge en milieu acide et bleue violacée en milieu basique témoigne de la présence d'anthocyanes [54]

- Anthracénosides

➤ Les formes aglycones oxydées

0,2 g de poudre végétale sont mis à macérer pendant 15 min en présence de 5 ml de chloroforme. Après filtration, 2 ml de NH_4OH diluée au 1/2 sont ajoutés au filtrat. On laisse décanter le mélange et on observe la coloration de la phase aqueuse qui se colore en rouge pourpre indiquant la présence de formes aglycones oxydées [12].

➤ Les formes combinées

0,025 g de chaque poudre à tester est mis à infuser au bain-Marie pendant 15 min en présence de 10 ml d'eau distillée et 1 ml de HCl concentré. Après filtration, on ajoute 5 ml de chloroforme et on agite. On laisse décanter et on prélève la phase chloroforme que l'on évapore à sec. On ajoute au résidu 2 ml d'ammoniaque diluée à 1/2. Une coloration jaune qui se développe et vire au rouge par chauffage au bain-Marie indique la présence de formes combinées des anthracénosides [12].

- Iridoïdes

On ajoute 1 ml d'acide chlorhydrique concentré à l'extrait décocté. La formation de précipité noir après chauffage de cet extrait caractérise la présence des iridoïdes [12].

- Hétérosides cardiotoniques

À 1 ml d'extrait décocté on ajoute 1 ml de solution de sulfate ferrique (5%) et 100 ml d'acide sulfurique concentré. La coloration qui se développe est en fonction de la structure des hétérosides cardiotoniques mis en jeu, à savoir :

digitoxine : brun rouge sale ; digitoxigénine : rouge; gitoxine : jaune puis rouge bleu ; gitoxigénine : jaune puis rouge violet [12].

- Glycosides

Il consiste à introduire 5 ml du décocté dans un bécher de 100 ml et évaporer à sec dans un bain-Marie. 2 à 3 gouttes de l'acide sulfurique H₂SO₄ concentré sont ajoutées au résidu. Après 5 mn, 3 à 4 gouttes d'éthanol saturé avec du Thymol sont ajoutées. Le développement d'une coloration rouge révèle la présence de glycosides [55].

- Mucilage

Introduire 1 ml du décocté aqueux dans un tube à essai et ajouter 5 ml d'alcool absolu, attendre 10 min. L'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilage [55].

2.2.4.2. Extraction des composés apolaires et polaires

2.2.4.2.1. Extraction par les solvants organiques

Ces extraits ont été préparés par macération. Initialement, 20 g de la poudre végétale (feuilles ou bulbes) sont mélangés avec 250 ml d'éther de pétrole et l'ensemble est mis sous agitation magnétique pendant 24 h. Les homogénats obtenus sont ensuite filtrés sur papier Whatman n°4 et les résidus sont séchés à température ambiante. Chaque résidu séché est ensuite mis dans 500 ml du méthanol sous agitation pendant 24 h et les solutions sont ensuite filtrées.

Les solutions d'éther de pétrole enrichies de substances apolaires et les solutions du méthanol concentrées en substances polaires sont ensuite évaporées à l'aide d'un rotavapeur sous-vide (Laborota 4001-efficient Heidolph 2) à la température de 40°C et 60°C respectivement, pour obtenir des concrètes sèches. Les extraits d'éther de pétrole (EEPB, EEPF) et les extraits méthanoliques (EMB, EMF) sont conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

2.2.4.2.2. Les extraits aqueux (IB et IF)

Une quantité de 10 g de la poudre de chaque partie de la plante a été mise en infusion dans 200 ml d'eau distillée bouillante (100 °C) sous agitation magnétique pendant 30 min. L'infusion est refroidie puis filtrée.

Les extraits aqueux sont préparés le jour même des expériences à cause de leur instabilité.

2.2.4.3. Analyse des extraits par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG-SM ou GC-MS

La GC-MS a été utilisée pour une analyse qualitative et semi-quantitative des composés soufrés et d'autres composés présents dans les extraits éthériques (EPPB, EEPF) et méthanoliques (EMB et EMF).

- Les conditions opératoires

L'analyse des extraits par la GC-MS a été effectuée au niveau du service d'analyses au centre de Biotechnologie de Sfax CBS en Tunisie.

Les extraits éthériques (EPPF, EPPB) sont solubilisés dans l'éther de pétrole, tandis que les extraits méthanoliques (EMB, EMF) sont solubilisés dans le méthanol à la concentration de 1 mg/ml.

L'analyse chromatographique a été effectuée sur un système GC-MS type Agilent modèle 6890 équipé d'une colonne de silice Agilent 19091S-433 (HP-5MS, 5% Phenyl Methyl Siloxane ; 30 m x 250 µm) avec un film de 0,25 µm d'épaisseur. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est de 1,5 ml/min. La température de l'injecteur et du détecteur est fixée à 250°C.

La durée de l'analyse des extraits éthériques est de 49,40 min dont la température du four a été programmée de 38 à 250 °C à raison de 5°C/min. En revanche, l'analyse des extraits méthanoliques a été réalisée à une température allant de 100 à 280°C à raison de 4°C/min pendant 47 min. Le volume injecté dans l'appareil est de 1 µl.

L'identification des composés a été effectuée par comparaison de leurs indices de rétention (indices de Kovats) et des spectres de masse expérimentaux de leurs ions-fragments caractéristiques à ceux cités dans la littérature et inventoriés dans les banques de bibliothèques spectrales Wiley et Nist.

2.2.4.4. Analyse qualitative et quantitative des composés phénoliques

Les techniques chromatographiques et spectrophotométriques ont été utilisées respectivement, pour la caractérisation qualitative et quantitative des composés phénoliques, présents dans les extraits.

2.2.4.4.1. Analyse qualitative par chromatographie liquide à haute performance HPLC

L'analyse et l'identification de quelques composés phénoliques présents dans les extraits méthanoliques (EMB, EMF) et aqueux (IB, IF) a été effectuée en utilisant la technique de la chromatographie liquide à haute performance HPLC.

- Les conditions opératoires

L'analyse des extraits par l'HPLC a été réalisée au laboratoire d'analyse du CBS Sfax en Tunisie.

Une quantité de 1 mg des extraits méthanoliques (EMB et EMF) secs, sont solubilisés dans 1 ml d'une solution hydro-alcoolique eau/méthanol (30/70 v/v). En parallèle, aux 3 ml des infusés aqueux de la plante à la concentration de 1 mg/ml sont additionnées 7 ml de méthanol.

L'analyse de ces extraits a été effectuée par un appareil HPLC de marque Agilent technologies type 1260 infinity équipé d'une pompe de chromatographie liquide de haute pression munis d'un détecteur UV à barrettes de diodes (DAD).

La séparation chromatographique a été réalisée en phase inverse avec une colonne - Zorbax Eclipse x DB - C18 (5 µm, 3 x 250 mm). La température est maintenue à 37°C et le volume d'injecteur choisi est de 20 µl. L'eau à 0,1% d'acide acétique et d'acétonitrile (100 %) ont été respectivement utilisés comme solvants A et B avec un débit fixé à 0,4 ml/min. L'élution a été suivie d'une détection UV à 280 nm.

L'identification des pics chromatographiques obtenus est faite par l'extrapolation des chromatogrammes des extraits sur celui des molécules standards et la comparaison de leurs temps de rétention.

Les étalons utilisés sont: acide gallique, naringénine, acide chlorogénique, acide syringique, coumarine, acide protocatéchique, méthyl gallate, acide férulique, rutine, acide hydroxy-cinnamique et catéchine. Ces molécules sont préparées (eau/méthanol 30/70 v/v) et analysées dans les mêmes conditions opératoires que pour les échantillons.

2.2.4.4.2. Analyse quantitative des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux est effectué au laboratoire physico-chimique de la filiale Antibiotical – Médéa du groupe SAIDAL.

2.2.4.4.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des polyphénols. La méthode d'analyse par le réactif de Folin-Ciocalteu est la plus utilisée [56].

- Principe

Le réactif Folin-Ciocalteu est un mélange d'acide phosphotungestique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3Mo_{12}O_{40}P$). Ce mélange est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) [56].

- Mode opératoire

La détermination du taux des polyphénols a été effectuée selon le protocole décrit par JUNTACHOTE *et al.* (2006) [57].

Dans un premier temps, les extraits méthanoliques (EMB, EMF) secs sont solubilisés dans l'eau distillée à la concentration de 5 mg/ml et les infusés (IF, IB) sont préparés à la concentration de 5 mg/ml.

À 0,5 ml de chaque extrait sont additionnés 0,5 ml du Folin-Ciocalteu à 1/10. Le mélange est incubé à température ambiante et à l'obscurité pendant 3 minutes. Ensuite, 0,5 ml du carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20% sont ajoutés à la solution.

Après une heure d'incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante, la lecture de la densité optique DO s'effectue à 760 nm l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (Perkin-Elmer Lambda 25). Le témoin est préparé en suivant le même protocole que précédemment mais sans additionner l'extrait.

La quantification des polyphénols totaux a été faite en se référant à la courbe d'étalonnage établie par l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions opératoires que pour les échantillons.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mgEAG/g ext). Le dosage des composés phénolique s'est effectué en trois répétitions.

2.2.4.4.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

L'évaluation quantitative des flavonoïdes totaux dans les différents extraits aqueux et méthanoliques a été réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) [58].

- Principe

La méthode est basée sur la formation d'un complexe jaunâtre suite à la chélation des métaux Al^{+3} , utilisés sous forme de chlorure d'aluminium (AlCl_3), par les groupements OH. La coloration ainsi formée est proportionnelle au taux de flavonoïdes dans le mélange [59].

- Mode opératoire

À 1 ml de chaque échantillon, sont ajoutés 1 ml de la solution AlCl_3 à 2 % dans le méthanol. Chaque mélange est incubé à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est lue à 430 nm. Le blanc est constitué de la solution méthanolique AlCl_3 à 2 % sans extrait.

Le taux des flavonoïdes est estimé en se référant à la courbe d'étalonnage établie avec la molécule de la quercétine à différentes concentrations et pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que celles des échantillons.

Le dosage des flavonoïdes a été effectué avec la répétition de trois essais. La concentration moyenne des flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme de l'extrait sec (mgEQ/g ext).

2.2.5. Etude de la toxicité aigue et des activités biologiques de *A. triquetrum*

Le but de ce travail est d'évaluer, par des tests *in vivo* ou *in vitro*, la toxicité aigue et certaines activités biologiques des extraits de l'ail triquètre, à savoir :

- l'activité antimicrobienne
- l'activité antioxydante
- l'activité anti-inflammatoire
- l'activité antalgique

Les tests de toxicité aigue, de l'activité anti-inflammatoire et de l'activité antimicrobienne ont été réalisés aux laboratoires de toxico-pharmacologie et de microbiologie du CRD-EI-Harrach du groupe SAIDAL.

Les activités antioxydante et antalgique ont été étudiées aux unités phisico-chimique et toxico-pharmacologique de la filiale Antibiotical du groupe SAIDAL-Médéa.

2.2.5.1. Etude de la toxicité aigue

Le but de ce test est de connaître le degré de toxicité d'un produit, en fonction de la voie d'administration et de l'espèce animale. D'après HODGSON (2005), les effets rencontrés avec la toxicité aigue consistent généralement en mortalité ou morbidité. Il consiste à déterminer statistiquement la dose moyenne qui provoque la mortalité de la moitié des animaux testés [60].

- Mode opératoire

La toxicité aigue des extraits (EMB, EMF, IF, IB) a été réalisée, *in vivo*, selon le protocole de N'GUESSAN *et al.* (2012) [61].

Pour chaque extrait, 30 souris (mâles et femelles) réparties en 3 lots ont été utilisées, chaque lot est constitué de 10 souris dont 5 mâles et 5 femelles. Les souris de chaque lot reçoivent par gavage gastrique 0,5 ml de l'extrait à l'une des doses suivantes : 1200 mg/kg, 1600 mg/kg et 2000 mg/kg de poids corporel.

Les dix souris du lot contrôle négatif sont gavés par 0,5 ml d'eau physiologique 0,9%.

Après administration des extraits et de l'eau physiologique, les souris sont d'abord placées dans des cages et mises en observation pendant deux heures avant de leur donner à manger et à boire (pour noter les cas de morts immédiates). L'observation a continué durant deux semaines (14 jours) pour observer les modifications comportementales (agitation, respiration, asthénie) et enregistrer le taux de mortalité afin de calculer la DL50 (dose létale qui tue 50% des animaux) selon la méthode de KARBBER et BREHENS [62]. La DL50 est donnée par la formule suivante :

$$DL50 = DL100 - \frac{\sum ab}{n}$$

DL50 : dose létale qui tue 50% des animaux

DL100 : dose létale qui tue 100% des animaux

a: différence entre deux doses successives

b: nombre moyen de morts entre deux doses successives

n: nombre moyen d'animaux par lot

Les valeurs obtenues permettent ensuite de classer les extraits en fonction de leur degré de toxicité selon l'échelle de HODGE et STERNER [61].

Tableau 2.3 : Classes de toxicité selon l'échelle de Hodge et Sterner [61]

Indice ou classe de toxicité	Paramètre toxicologique DL50	Terme utilisé
1	≤ 1 mg/kg	Extrêmement toxique
2	$1 \leq DL50 \leq 50$ mg/kg	Hautement toxique
3	$50 \leq DL50 \leq 500$ mg/kg	Modérément toxique
4	$500 \leq DL50 \leq 5000$ mg/kg	Légèrement toxique
5	$5000 \leq DL50 \leq 15000$ mg/kg	Presque toxique
6	$DL50 \geq 15000$ mg/kg	Relativement inoffensif

2.2.5.2. Etude de l'activité antimicrobienne

Cette partie consiste à mettre en évidence le pouvoir antimicrobien de l'ail triquètre, en testant les extraits méthanoliques (EMF, EMB) et aqueux (IF, IB) à la concentration de 5 mg/ml. Les extraits méthanoliques ont été solubilisés dans l'eau physiologique stérile (0,9% NaCl).

Les jus de bulbes et feuilles (JB, JF) purs (100 %) et dilués (50 %) issus de la plante fraîche ont été également testés. Pour préparer les jus purs, les bulbes et les feuilles, sont broyés et les broyats obtenus sont ensuite soumis à la pression (à la main) puis filtrés sur papier Whatman n° 4.

Des disques de 6 mm d'antibiotiques (Chloramphénicol C 30 µg/disque et Colistine Méthane sulphonate CL 25 µg/disque) et un antifongique (Amphotéricine B AmB à la concentration de 100 µg/ml) ont servi de témoins pour cette étude.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été effectuée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

- Principe

Le principe est tiré du titrage des antibiogrammes de la pharmacopée européenne (2002). Il consiste à déposer un disque stérile, imprégné d'une quantité bien définie de l'extrait à tester à la surface d'une gélose préalablement ensemencée en nappe avec le micro-organisme à étudier. Dans le cas d'une éventuelle activité antimicrobienne positive, la diffusion de l'extrait dans la gélose va permettre l'inhibition de la croissance des germes tout autour des disques, qui se traduira par une auréole claire et distincte appelée Halo ou zone d'inhibition. La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (en mm) de cette zone [63].

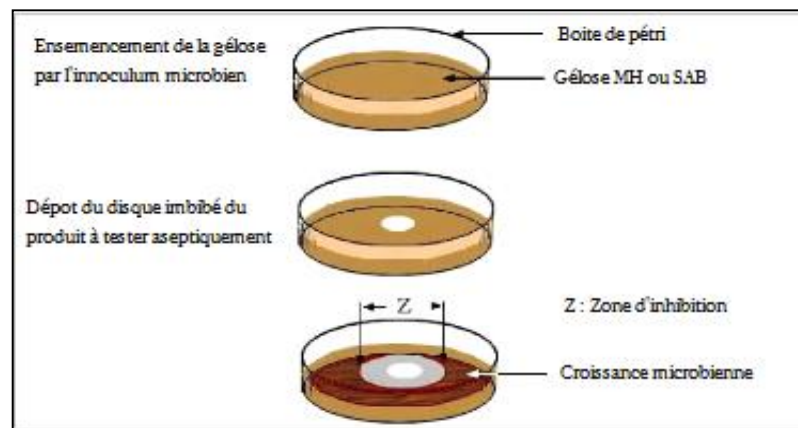


Figure 2.1 : Principe de la méthode de diffusion sur milieu gélosé

- Mode opératoire

a- Préparation de la première couche du milieu de culture

On fait fondre les milieux Mueller-Hinton MH (pour les bactéries) et Sabouraud SAB (pour les levures) dans un bain-Marie à 95°C, puis on verse aseptiquement une première couche des deux milieux dans des boîtes Pétri de 90 mm de diamètre à raison de 15 ml par boîte, on laisse refroidir et solidifier sur pailleasse.

b- Préparation de l'inoculum

À partir d'une jeune culture (18h pour les bactéries et 48h pour les levures), on réalise des suspensions troubles en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques, qu'on dépose dans 5 ml d'eau physiologique stérile, puis on agite au vortex pendant quelques secondes. On réalise une première lecture de la concentration de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre. La DO, lue à 625 nm, doit être comprise entre 0,08 et 0,10 ce qui correspond à une concentration de 10^7 - 10^8 ufc/ml [64]. Lorsqu'une des valeurs observées à la première lecture n'est pas comprise dans l'intervalle, elle est ajustée par l'addition de quelques millilitres de l'eau physiologique ou de quelques colonies. L'inoculum est utilisé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

c- Préparation de la deuxième couche du milieu de culture

On fait fondre séparément les deux milieux MH et SAB, on les laisse refroidir jusqu'à une température de 45°C et on transvase 50 ml de chaque milieu dans des flacons stériles. On ensemence les milieux avec 200 µl de chaque suspension et on agite manuellement; puis on dépose rapidement 4 ml de chaque milieu ensemencé sur la surface de la première couche de la gélose solidifiée. On étale immédiatement la couche en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme et on laisse solidifier sur la paillasse.

d- Dépôt des disques

À l'aide d'une pince stérile, on prélève un disque en cellulose de 6 mm, (Biomérieux ref) stérilisés sous une lampe UV, et on l'imbibe avec l'extrait à tester en mettant seulement en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement jusqu'à imprégnation totale. Après, on dépose le disque sur la surface de la gélose (3 disques pour un seul extrait) et on laisse diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes. On incube à 37 °C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures. La mesure des diamètres des zones d'inhibition se fait à l'aide d'un pied à coulisse.

2.2.5.3. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits aqueux (IF, IB) et méthanoliques (EMF, EMB) de *A. triquetrum* a été évaluée *in vitro* par deux méthodes : le piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et la réduction du fer FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

2.2.5.3.1. Le test du piégeage du radical libre DPPH

Le test au DPPH présente de nombreux avantages par rapport à d'autres méthodes, telles que la stabilité, la sensibilité crédible, la simplicité ainsi que sa faisabilité [65].

- Principe

Le test DPPH permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH par transfert d'un hydrogène. Le DPPH, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle. La réaction sera plus ou moins rapide selon la nature de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant [66].

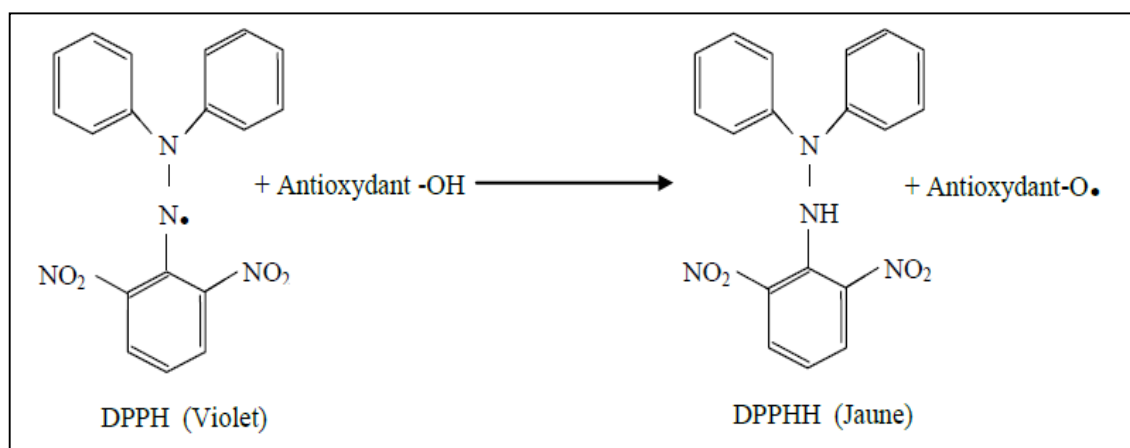


Figure 2.2 : Réduction du radical libre DPPH par un antioxydant [67]

- Mode opératoire

Le protocole adopté pour évaluer la capacité antiradicalaire est celui de ATOUI *et al.* (2005) [68]. Une quantité de 2 ml de la solution méthanolique de DPPH (4%) est ajoutée à 1 ml de l'extrait testé à différentes concentrations (0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 et 3 mg/ml). Après, les mixtures sont incubées à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. La réduction du DPPH est mesurée par un spectrophotomètre à 515 nm (λ max du DPPH).

Le méthanol représente le blanc tandis que la solution méthanolique du DPPH sans extrait représente le control négatif. L'acide gallique a été utilisé comme témoin positif.

La capacité de piégeage du radical libre DPPH est exprimée en pourcentage. Elle est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Capacité de piégeage du radical DPPH (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

A_0 représente l'absorbance du control négatif et A_1 représente l'absorbance de l'échantillon.

La concentration efficace EC50 (autrement appelée concentration inhibitrice IC50) a été déterminée pour chaque échantillon. Elle est définie comme étant la concentration de substrat qui provoque la perte de 50% de l'activité du radical DPPH [69].

2.2.5.3.2. Le test de réduction du fer FRAP

Le pouvoir réducteur du fer est un outil d'analyse sensible, qui fournit des résultats rapides et hautement reproductibles du pouvoir antioxydant total des produits biologiques. Il convient pour une utilisation avec des extraits aqueux et alcooliques d'aliments complets, d'herbes et de médicaments ainsi que pour des solutions d'antioxydants purifiés [70].

- Principe

Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) [71]. Le passage de la forme Fe^{3+} incolore à la forme Fe^{2+} intensément de couleur bleue est causé par l'action combinée des antioxydants donneurs d'électrons [70].

- Mode opératoire

Le pouvoir réducteur du fer a été déterminé selon le protocole décrit par KARAGOZLER *et al.* (2008) [72]. 1 ml de l'échantillon à différentes concentrations (0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,25 et 1,5 mg/ml) est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate (pH : 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1 %, puis on incube les tubes à 50°C pendant 20 min. Après refroidissement des tubes à température ambiante, 2,5 ml d'acide trichloroacétique ATC à 10 % sont ajoutés. Les tubes sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 10 min. On prélève 2,5 ml du surnageant auxquels on ajoute 2,5 ml d'eau distillée. On additionne ensuite au mélange 0,5 ml d'une solution de chlorure de fer FeCl_3 à 1 % fraîchement préparée. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Plus la DO augmente plus le pouvoir réducteur est élevé. L'acide gallique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions.

2.2.5.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

La mise en évidence de l'effet anti-inflammatoire des infusés aqueux (IF et IB) de l'ail triquètre a été effectuée *in vivo* selon le test de WINTER *et al.* [73].

- Principe

L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti inflammatoire. L'activité anti-inflammatoire est exprimée en pourcentage de réduction de l'œdème des pattes gauches postérieures des souris [74].

- Mode opératoire

Durant cette expérience, 36 souris (mâles et femelles) ont été groupés en 6 lots de six souris chacun :

-Lot témoin : les souris reçoivent par gavage gastrique un volume de 0,5 ml de l'eau physiologique.

-Lot référence : les souris reçoivent par voie orale 0,5 ml de Diclofenac à la dose de 12,5 mg/kg.

-Lot essai 1 : les animaux de ce groupe sont gavés par 0,5 ml de l'IB à la concentration de 20 mg/ml.

-Lot essai 2 : les souris de ce lot sont gavées par 0,5 ml de l'IB à la concentration de 50 mg/ml.

-Lot essai 3 : les souris de ce lot sont gavées par 0,5 ml de l'IF à la concentration de 20 mg/ml.

-Lot essai 4 : les souris de ce lot reçoivent par gavage 0,5 ml de l'IF à la concentration de 50 mg/ml.

30 min après gavage, 0,1 ml de carragénine à 1% dans une solution saline isotonique (NaCl 0,9%) a été injecté sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche des souris. Après 5 h, les souris sont sacrifiées et les pattes postérieures sont coupées à hauteur de l'articulation puis pesées à l'aide d'une balance analytique.

Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation est calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'inhibition de l'inflammation} = \frac{\% \text{ AUG groupe témoin} - \% \text{ AUG groupe traité}}{\% \text{ AUG groupe témoin}} \times 100$$

% AUG est le pourcentage d'augmentation du volume de la patte de la souris, il est calculé par l'équation suivante:

$$AUG(\%) = \frac{\text{Moy des poids des pattes gauches} - \text{Moy des poids des pattes droites}}{\text{Moy des poids des pattes droites}} \times 100$$

2.2.5.5. Etude de l'activité analgésique

Le but est d'étudier, *in vivo*, l'activité analgésique des extraits aqueux (IF et IB) de *A. triquetrum*, et ceci par le test à l'acide acétique.

- Principe

Cette étude est réalisée selon la méthode de KOSTER *et al.* [75]. Elle consiste à induire une action algogène par l'administration à des souris de l'acide acétique (1%), par voie intrapéritonéale. Cette injection induit une sensation de douleur qui se manifeste chez la souris par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale, appelés crampes abdominales (spasmes). L'administration d'un produit analgésique induit une diminution des crampes. L'effet analgésique est apprécié par le dénombrement de ces crampes pendant 20 min après l'injection de l'agent algogène [76].

- Mode opératoire

Pour l'essai de l'activité analgésique, 6 lots de six souris (3 mâles et 3 femelles) chacun ont été utilisés.

- Lot témoin : les souris de ce lot reçoivent 0,5 ml de l'eau physiologique 0,9 %, par voie orale.

- Lot référence : les souris sont traitées avec 0.5 ml de l'analgésique de référence (Indométacine 25 mg) à la dose de 80 mg/Kg.

- Lot essai 1: les souris reçoivent, par gavage 0,5 ml de l'IF à 20 mg/ml.

- Lot essai 2: les souris sont gavées par 0,5 ml de l'IF à la dose de 50 mg/ml.

- Lot essai 3: les souris reçoivent, par voie orale, 0,5 ml de l'IB à 20 mg/ml.

- Lot essai 4: les souris sont gavées par 0,5 ml de l'IB à la dose de 50 mg/ml.

Après 30 min : toutes les souris reçoivent 0,2 ml de la solution d'acide acétique à 1 % par voie intra-péritonéale

Après 5 min : Le nombre de spasmes est dénombré pendant 20 min.

L'effet analgésique a été évalué selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition des spasmes} = \frac{\text{Moy de spasmes du lot témoin} - \text{Moy de spasmes du lot essai}}{\text{Moy de spasmes du lot témoin}} \times 100$$

2.3. Analyse statistique

Le programme du Microsoft Office Excel 2007 a été utilisé pour calculer les moyennes \pm écarts types et établir les courbes, les courbes d'étalonnage ainsi que les histogrammes.

La comparaison entre les groupes s'est effectuée par l'analyse de la variance à sens unique (ANOVA) suivie par le post-test de Tukey de comparaison multiple et les différences ont été considérées significatives à $p < 0,05$ [77]. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel XLStats 2013 (logiciel statistique Pros, Addinsoft, Paris, France).

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Résultats de l'étude histologique

Afin de détecter et de localiser des structures particulières, à savoir les tissus sécréteurs, on a effectué des coupes minces à main levée au niveau des feuilles et tiges de *A. triquetrum*, suivies d'une double coloration.

3.1.1. Examen microscopique de la feuille

- Observation générale

La feuille présente de l'extérieur vers le centre (Figure 3.1) :

- Un tissu de revêtement constitué d'une assise de cellules épidermiques surmontée par une fine cuticule. Cette assise épidermique recouvre entièrement la feuille en un épiderme dorsal et un épiderme ventral. Entre les cellules épidermiques on observe les stomates à travers lesquels se font les échanges gazeux.
- Un tissu de remplissage qui est le parenchyme chlorophyllien. Les cellules sont isodiamétriques et laissent des méats entre elles. La feuille est constituée par un mésophylle homogène, caractère qui s'observe chez les angiospermes monocotylédones.
- Des tissus conducteurs issus du méristème primaire, en l'occurrence le phloème et le xylème qui sont superposés. Les tissus conducteurs sont localisés dans les nervures.

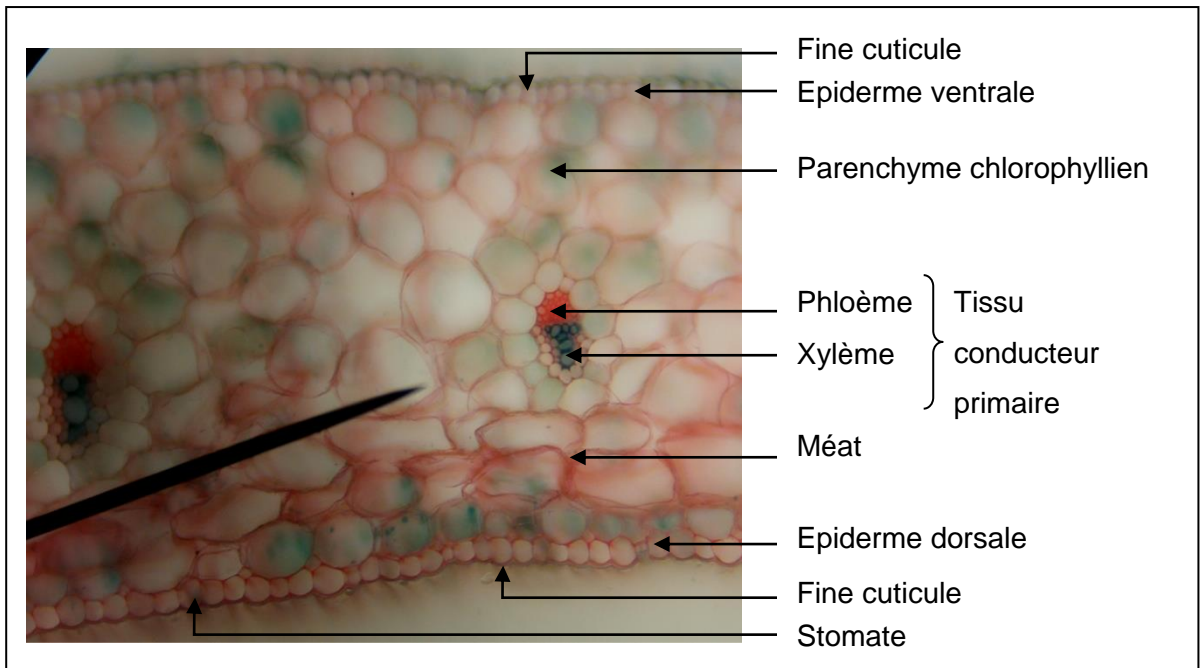


Figure 3.1 : Coupe transversale de la feuille d'*A. triquetrum* vue au microscope photonique Gx10 (Originale, 2014)

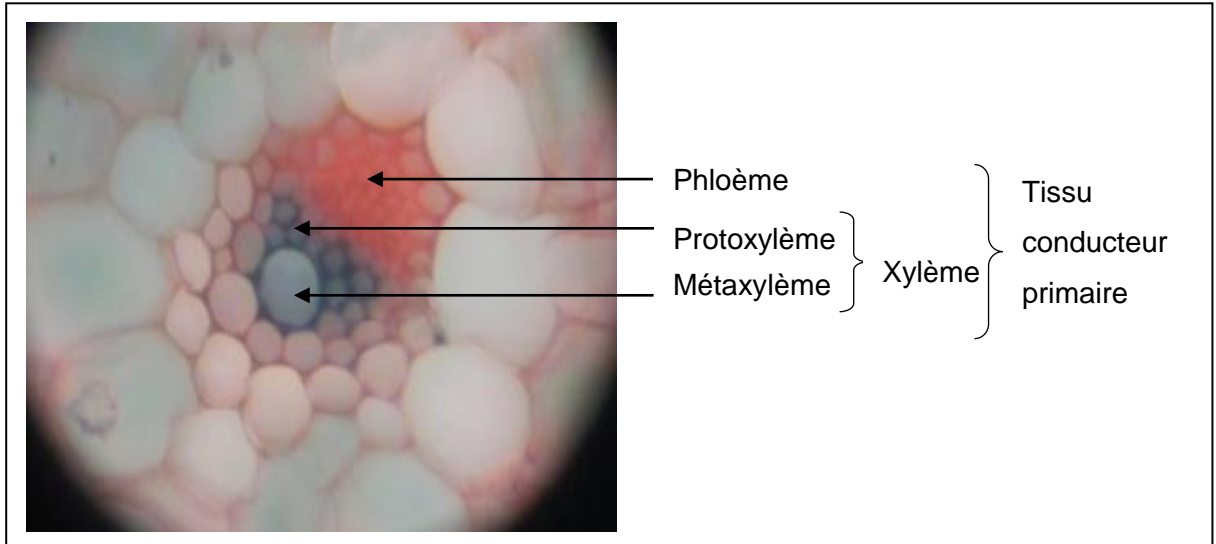


Figure 3.2 : Observation microscopique du tissu conducteur primaire au niveau de la feuille Gx40 (originale, 2014)

3.1.2. Examen microscopique de la tige

- Observation générale

La tige présente une forme triangulaire, on observe de l'extrémité vers le centre (Figure 3.3):

- Un tissu de revêtement : l'épiderme surmonté par une cuticule fine.
- Un tissu de remplissage : le parenchyme chlorophyllien à méats
- Des tissus conducteurs de type primaire: le phloème et le xylème qui sont superposés appelés la fascicule.
- Aux angles de la tige on observe un amas de cellules formant le collenchyme annulaire qui est un tissu de soutien.

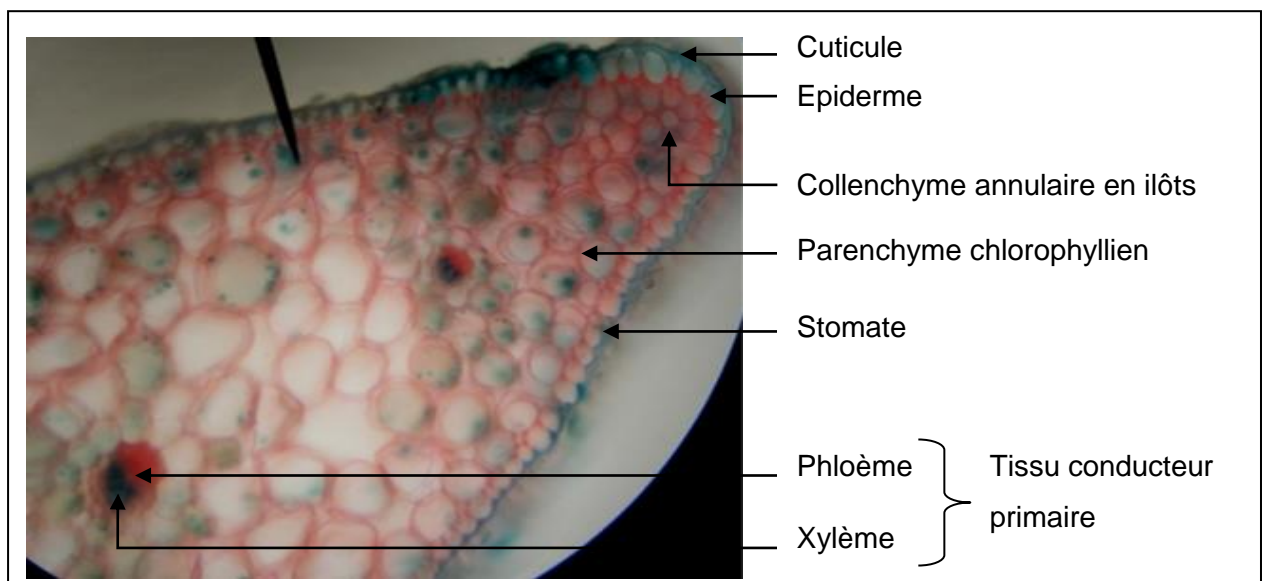


Figure 3.3 : Coupe transversale de la tige d'*A. triquetrum* observée au microscope photonique Gx10 (Originale, 2014)

- L'épiderme

C'est un tissu superficiel formant une couche continue à la surface de la plante. Les cellules épidermiques qui possèdent habituellement une forme régulière sont étroitement jointives et couverte d'une cuticule [78].

Entre les cellules épidermiques on observe les cellules stomatiques.

L'épiderme à cuticule constitue une véritable interface entre les plantes et leur environnement et remplit diverses fonctions physiologiques et écologiques, il intervient dans le contrôle de la perte en eau et donc de la concentration et du transport des solutés au sein de la plante. Ainsi, la cuticule constitue une protection contre les agressions environnementales (sécheresse, température, UV) ou mécaniques et une barrière efficace contre les infections fongiques ou bactériennes. Par ailleurs, la présence d'une fine couche lipidique, en l'occurrence la cire, à sa surface, permet à la plante d'éviter les rétentions d'eau et d'éliminer les dépôts de poussière, de pollen ou encore de polluants [78] [79].

- Le parenchyme chlorophyllien

C'est un tissu constitué de cellules vivantes riches en chloroplastes, à paroi pectocellulosique mince. Ainsi, elles sont essentiellement des cellules de remplissage, peu différenciées, isodiamétriques, plus ou moins arrondies, collées par leur lamelle moyenne. Toutefois, elles présentent des décollements liés à la gélification de la lamelle moyenne au niveau des angles d'où les méats [80] [81].

- Le collenchyme

Est un tissu vivant composé de cellules regroupées en îlots avec des parois primaires épaissies par une substance cellulosique.

Le collenchyme observé est annulaire La paroi primaire est épaissie sur toute la surface de la cellule.

Le collenchyme assure le rôle de soutien des organes en croissance. Il peut s'adapter à l'élongation des organes sans perdre de sa résistance, car ces cellules sont capables de développer des parois épaisses tandis que l'organe s'allonge. L'observation de ce tissu chez une angiosperme monocotylédone est rare [80] [82].

- Les faisceaux cribro-vasculaires primaires

Les faisceaux cribro-vasculaires primaires sont des tissus conducteurs présent dans tous les organes des plantes vasculaires. Ils sont de deux types : le xylème et le phloème.

Le xylème conduit la sève brute et le phloème la sève élaborée. Dans les tiges, le xylème et le phloème sont superposés [83].

Les coupes microscopiques réalisées aussi bien dans les feuilles que dans les tiges n'ont pas montré de structures spécialisées responsables de la sécrétion ou du stockage. Les structures sécrétrices des métabolites secondaires se trouvent certainement à l'intérieur entre les cellules du parenchyme chlorophyllien.

3.2. Résultats de la détermination de la teneur en eau

Les résultats de la teneur en eau des feuilles et bulbes sont regroupés dans le tableau 3.1 et les figures 3.4 et 3.5.

Tableau 3.1 : Résultats de la teneur en eau chez *A. triquetrum* (%) (Moyenne \pm écart type)

Organe	Teneur en eau (%)
Feuilles	88,32 \pm 1,82
Bulbes	69,50 \pm 0,82

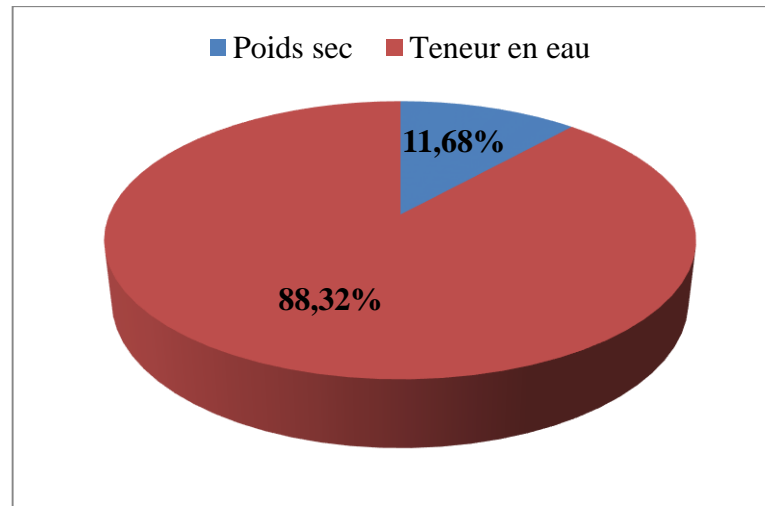


Figure 3.4 : Teneur en eau des feuilles d'*A. triquetrum* (%)

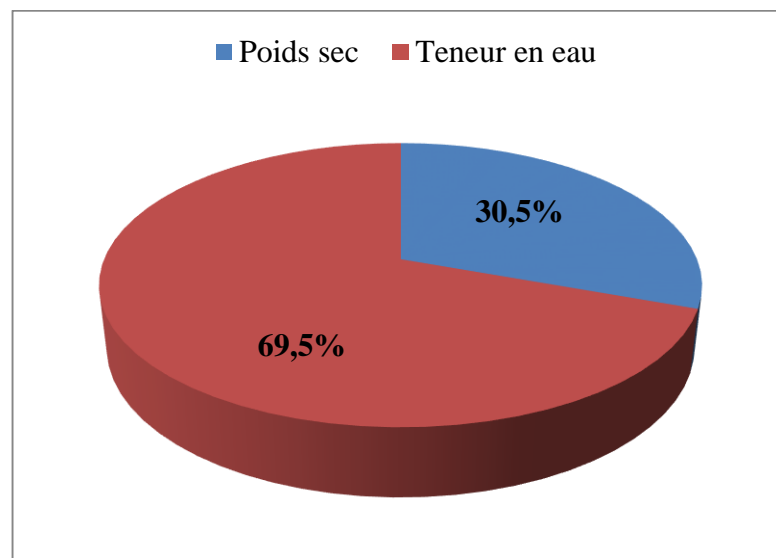


Figure 3.5 : Teneur en eau des bulbes d'*A. triquetrum* (%)

La valeur moyenne de la teneur en eau des feuilles est de $88,32 \pm 1,82$ % avec un poids sec moyen égal à $11,68 \pm 1,82$ %. En parallèle, la quantité d'eau dans les bulbes ne dépasse pas un taux moyen de $69,5 \pm 0,82$ %, tandis que le rendement en matière sèche est de $30,5 \pm 0,82$ %.

L'étude de HIMED (2015) a montré des taux plus élevés d'eau dans les deux organes étudiés d'*A. triquetrum*. La teneur en eau des feuilles est de $92,62 \pm$

0,26 % avec 7,38 % de poids sec, tandis que la quantité d'eau dans les bulbes est de $91,74 \pm 0,15$ % contre un taux de la matière sèche de 8,26 % [84].

Toutefois, nos résultats se rapprochent de ceux rapportés par Yin et Tsao ayant signalé des teneurs en eau de 74 à 92% pour les sept espèces du genre *Allium* analysées [85]. D'autre part, l'étude de KONATE *et al.* (2017) a montré que onze variétés d'oignons présentent des teneurs variables en eau, qui oscillent entre 82,04 et 90,44 %. Ainsi, les taux de la matière sèche diffèrent d'une variété à une autre et se situent entre $9,63 \pm 0,38$ % et $17,97 \pm 0,45$ % [86].

Selon MESSIAEN *et al.*, la teneur en matière sèche varie de 7 à 15 % pour les oignons, 16 à 35 % pour les échalotes et de l'ordre de 35 % pour *A. sativum* [87].

L'eau est le constituant le plus important de la plupart des organismes vivants. Le contenu réel en eau dépend du tissu et du type cellulaire. Il est d'une certaine façon également dépendant des conditions physiologiques et environnementales. L'eau représente plus de 70 % de la masse des parties non lignifiées de la plante. Cependant le contenu en eau des plantes est dans un état de mouvement continu qui dépend de l'activité métabolique, du statut hydrique de l'air et du sol environnant [78].

Bien que certaines plantes tolérantes à la dessiccation puissent ne contenir que 20 % de l'eau et que les graines sèches n'en contiennent que 5%, ces deux types d'organismes sont métaboliquement inactifs et la reprise d'une activité métabolique importante est conditionnée par la réhydratation [78].

3.3. Résultats de la composition minérale

3.3.1. La teneur en cendres

Les résultats de la teneur en cendres des feuilles et bulbes de *A. triquetrum* sont regroupés dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2 : La teneur en cendres chez *A. triquetrum* (%) (Moy \pm écart type)

Organe	Teneur en cendres (%)
Feuilles	18,5 \pm 0,05 %
Bulbes	4,75 \pm 0,05 %

Les résultats montrent une différence considérable dans la teneur en cendres entre les deux organes étudiés. Le rendement de la matière inorganique des feuilles est plus important. Il est au moyen de 18,5 \pm 0,05 %. Au contraire, les bulbes ne contiennent que 4,75 \pm 0,05 % de minéraux par rapport au poids sec.

Ainsi, bien que les bulbes présentent le taux le plus élevée de matière sèche (30,5 %), les feuilles (11,68 % de matière sèche) possèdent le taux de cendres le plus fort (18,5 \pm 0,05 %). La plus forte teneur en matière sèche ne signifie pas la plus forte teneur en matière minérale.

Ces résultats sont très loin de ceux de l'étude de HIMED (2015) qui a montré des taux plus faibles en matière minérale dans les deux organes d'*A. triquetrum*. Les cendres n'ont présenté que 2,24 \pm 0,42 % pour les feuilles et 1,66 \pm 0,57 % pour les bulbes par rapport au poids sec [84].

Cependant nos résultats sont proches à d'autres études menées sur d'autres espèces. L'étude de KONATE *et al.* (2017) a montré que les teneurs de la matière minérale des bulbes de onze variétés d'*A. cepa* sont différentes et varient de 2,49 \pm 0,47 % à 6.64 \pm 0,42 % [86]. D'autre part, l'étude de NWINUKA *et al.* (2005) a révélé des taux de cendres égales à 8,48 \pm 0,15 % pour l'oignon et à 4,45 \pm 0,10 % pour l'ail [88].

Selon MESSIAEN *et al.* la matière sèche de bulbes des différentes espèces du genre *Allium* contient de 1 à 3% de cendres [87].

Une autre étude menée sur une espèce égyptienne, *A. ampeloprasum* var. *kurrat*, a montré que les feuilles de cette plante contiennent $15,90 \pm 1,62$ % de cendres par rapport à la matière sèche. Ainsi, les feuilles de *A. porrum* contiennent de 16,2 à 29 % de la matière minérale [89].

Les nutriments minéraux sont prélevés sélectivement de la solution du sol par la racine. La croissance normale d'une plante n'exige en fait qu'un nombre limité de minéraux. Certains sont nécessaires en grande quantité alors que d'autres le sont à l'état de traces. On distingue les micro-éléments, nécessaires en petites doses et les macro-éléments, requis en plus grande quantité. Ces minéraux essentiels entrent dans la composition des tissus de la plante ou jouent un rôle d'activateurs du métabolisme [78] [81].

3.3.2. Résultats du dosage des éléments minéraux

Les résultats de l'analyse des macro-éléments sont regroupés dans le tableau 3.3, tandis que les résultats du dosage de certains micro-éléments sont montrés dans le tableau 3.4.

Le tableau 3.3 montre la présence de cations (sodium Na^+ , potassium K^+ , magnésium Mg^{++} et calcium Ca^{++}) et d'anions (chloride Cl^- , sulfate SO_4^{2-} et phosphate PO_4^{2-}) avec des taux considérables aussi bien au niveau des feuilles que des bulbes.

Le K^+ est l'élément le plus dominant des cations avec des concentrations égales à 44611 mg/kg dans les feuilles et à 1249,5 mg/kg dans les bulbes. Ainsi, le K^+ est associé à des taux plus faibles en sodium Na^+ (B : 803 mg/kg ; F : 5840 mg/kg). La valeur du Na^+/K^+ ratio des bulbes est de 0,06 et celle des feuilles est de à 0,13.

La plante est également riche en Ca^{++} . Sa concentration est égale à 1556,5 mg/kg pour les bulbes et à 8180 mg/kg pour les feuilles. Le Mg^{++} est ainsi présent à des taux considérables (B : 1057 mg/kg; F : 1695 mg/kg).

L'élément majoritaire des anions est le phosphate PO_4^{2-} . Sa concentration est de 12495 mg/kg pour les bulbes et de 12952 mg/kg pour les feuilles. Ainsi, les

feuilles contiennent une forte concentration de chlorure Cl^- (11530,5 mg/kg) par rapport aux bulbes (1976,5 mg/kg).

Les cendres analysées sont également riches en élément sulfate SO_4^{2-} dont la concentration est de 4701,5 mg/kg dans les bulbes et de 7079,5 mg/kg dans les feuilles. D'autre part, on note l'absence des nitrates NO_3^- dans les deux échantillons analysés.

Tableau 3.3 : Concentration des macro-éléments chez *A. triquetrum*

		Bulbes (B)	Feuilles (F)
Les macro-éléments		Concentration (mg/kg)	Concentration (mg/kg)
Les cations	Na^+	803	5840
	K^+	12497,5	44611
	Mg^{++}	1057	1695
	Ca^{++}	1556,5	8180
Les anions	Cl^-	1976,5	11530,5
	SO_4^{2-}	4701,5	7079,5
	NO_3^-	0,0	0,0
	PO_4^{2-}	12495	12952

Tableau 3.4 : La concentration des oligo-éléments chez *A. triquetrum*

	Bulbes (B)	Feuilles (F)
Oligo-élément	Concentration (mg/kg)	Concentration (mg/kg)
Fe⁺⁺	1445,5	1630
Mn⁺⁺	35,5	05
Zn⁺⁺	274,5	211
Cu⁺⁺	123,5	351
Pb⁺⁺	82,7	319,5

Le tableau 3.4 montre que les bulbes et les feuilles de *A. triquetrum* sont riches en oligo-éléments.

L'élément majoritaire est le fer Fe⁺⁺ dont la concentration est importante aussi bien dans les bulbes (1445,5 mg/kg) que dans les feuilles (1630 mg/kg). La plante contient également du zinc Zn⁺⁺ (B : 274,5 mg/kg ; F : 211 mg/kg), du manganèse Mn⁺⁺ (B : 35,5 mg/kg ; F : 05 mg/kg) et du cuivre Cu⁺⁺ (B : 123,5 mg/kg, F : 351 mg/kg)

Cependant, le dosage des oligo-éléments a permis la mise en évidence du plomb Pb⁺⁺ avec des concentrations non négligeables. Ainsi, il est plus concentré dans les feuilles (319,5 mg/l) par rapport aux bulbes (82,7 mg/kg).

L'analyse des cendres par la chromatographie ionique et la spectrométrie d'absorption atomique a montré une diversité et une richesse dans la composition minérale de l'ail triquètre. Elle est en faite très proche aux autres espèces du même genre telles que l'ail et l'oignon sur lesquels de nombreuses études ont été menées [89] [90] [91].

L'étude de SA'ADATU (2013) a montré que les bulbes de l'ail récoltés de trois régions, contiennent de nombreux ions et oligo-éléments avec des proportions faiblement différentes. Les plantes sont riches en potassium, magnésium et calcium. Elles contiennent également du cuivre et du manganèse [90].

L'étude de EDET *et al.* (2015) a révélé la présence de macro et micro-éléments dans les bulbes de *A. cepa* avec l'ordre suivant : Ca > Mg > Mn > K > P > Na > Fe [91].

Une étude portée sur l'espèce *A. ampeloprasum var. kurrat* a montré que les feuilles contiennent de fortes concentrations de potassium avec un taux faible de sodium. Ainsi, elles sont riches en calcium, phosphore et magnésium. D'autre part, le fer représente l'élément majoritaire des oligo-éléments suivi du manganèse et zinc. La plante contient également du cuivre à moindre concentration [89].

Les minéraux sont importants en tant que constituants des os, des dents, des tissus mous, de l'hémoglobine, des muscles, du sang et des cellules nerveuses et sont essentiels au bien-être mental et physique global [92].

La teneur élevée en potassium d'*A. triquetrum* est nutritionnellement significative. Il a été démontré que les *Allium* spp ont du potassium en abondance avec une très faible teneur en sodium [93]. Le rapport Na/K dans le corps est très important pour la prévention de l'hypertension artérielle, un rapport Na/K inférieur à 1 est recommandé. Un régime qui est riche en potassium et à faible teneur en sodium est très bénéfique pour la prévention de l'hypertension artérielle [94].

D'autre part, un régime alimentaire riche en potassium, magnésium et calcium peut réduire les maladies coronariennes et les accidents vasculaires cérébraux [95].

Le calcium est nécessaire pour le développement et le maintien des os et la régulation de l'excitabilité nerveuse et de la contraction musculaire [90]. L'apport en phosphore a également le potentiel d'abaisser la tension artérielle [96]. Le chlore, le sodium et le potassium permettent de maintenir la pression osmotique et

donc l'équilibre des compartiments hydriques. Le chlore rentre également dans la composition de l'acide chlorhydrique gastrique [97].

Le soufre est l'élément essentiel des plantes *Allium* car il rentre dans la composition des principaux métabolites secondaires à savoir, les composés organo-soufrés, qui confèrent l'odeur caractéristique à ces espèces. Les principales vertus thérapeutiques de ces plantes sont dues en grande parties à ces composés soufrés [11] [12]. Les acides aminés soufrés comme la méthionine et la cystéine sont des éléments constitutifs de nombreuses molécules indispensables comme les vitamines du groupe B, le glutathion, le collagène, la kératine, la glucosamine et le coenzyme A [98].

Les oligo-éléments sont des constituants de la croissance saine des plantes et des animaux [90]. D'après ANDREINI *et al.* (2008), certains métaux de transition comme le fer, le zinc, le manganèse et le cuivre sont très essentiels à la vie. Ils jouent le rôle de cofacteurs enzymatiques [99].

Le zinc joue un rôle essentiel dans le bon fonctionnement du système reproducteur et le métabolisme des acides. Il est également bénéfique comme stabilisateur des membranes cellulaires et stimulateur de la réponse immunitaire. Le manganèse est un élément essentiel pour la synthèse de l'hémoglobine et le cuivre un composant de nombreux systèmes enzymatiques [94].

La présence du plomb dans les échantillons analysés est peut être due à sa présence dans sol. Ainsi, les plantes peuvent absorber du plomb à partir des racines, mais également à partir des organes aériens, ou bien par l'intermédiaire des deux. Les quantités du métal absorbées par les racines dépendent de la concentration du métal dans le sol, et également de ses capacités de migration du sol vers la surface des racines. Ensuite, la quantité de plomb présente dans les divers organes d'une plante dépend du transport de l'extérieur des racines vers l'intérieur, puis de sa translocation des racines vers les feuilles [100]. D'autre part, Le plomb peut se substituer à de nombreux éléments (potassium, sodium, calcium ou barium) et rentre dans la composition de 240 minéraux naturels identifiés. Les principaux minéraux porteurs sont les sulfates, les carbonates, les oxydes et hydroxydes, les sulfures ou les phosphates [101].

Le plomb est naturellement présent en moyenne de 0,002 % dans la croûte terrestre, généralement sous forme peu soluble. Des dérivés inorganiques sont présents dans les eaux, les sédiments, les sols, l'atmosphère et éventuellement en micro-traces chez les organismes vivants. Les sols non contaminés contiendraient de 10 à 30 mg/kg. Cependant, la présence généralisée du plomb dans l'environnement est essentiellement due aux activités humaines (production d'essence au plomb, les batteries au plomb, peintures et pigments) [101]. Un dosage du plomb présent dans le sol de lieu de récolte de la plante (Chebli, Blida) est nécessaire pour déterminer la source de contamination.

À cause de la toxicité du plomb même à de faibles doses, des teneurs limites permises dans les eaux de consommation, l'air et les denrées alimentaires ont été fixées. La valeur réglementaire de la teneur en plomb pour les légumes et les herbes sont fixées entre 0.1 et 0.3 mg/kg de poids frais [101] tandis que les valeurs critiques sont comprises entre 30 à 300 mg/kg [102]. Les résultats trouvés sont de loin supérieurs aux normes et proches des valeurs critiques.

Le plomb a de nombreux effets toxiques sur la santé, qui sont basés sur les niveaux de plomb dans le sang. En effet, Il peut provoquer une grande fatigue, des troubles du comportement, de la mémoire, du sommeil, des systèmes immunitaires et reproducteurs, mais ses principaux organes cibles sont le système nerveux, les reins et le sang. En bloquant plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hémoglobine, il entraîne une diminution du nombre de globules rouges. De plus, le plomb passe facilement la barrière placentaire par diffusion, d'où un risque d'exposition prénatale [101].

Cependant, d'après plusieurs études, les espèces *Allium* comme l'oignon et l'ail pourraient être utilisés comme une alternative pour l'élimination des métaux lourds toxiques tels que l'arsenic, le cadmium, le fer, le mercure et le plomb à cause de leurs effets chélateurs. Les composés organosulfurés, en particulier l'allicine, sont des ingrédients biologiquement actifs et pourraient contribuer à la détoxification des métaux lourds, car ils sont capables de se lier à la plupart des composés chimiques contenant des charges positives [103] [104] [105].

3.4. Résultats de l'étude des principes actifs d'*A. triquetrum*

3.4.1. Le screening phytochimique

Les résultats du screening phytochimique de la plante sont représentés dans le tableau 3.5.

Tableau 3.5 : Résultats du screening phytochimique d'*A. triquetrum*

Composé chimique	Feuilles	Bulbes
Alcaloïdes	-	-
Anthocyanines	-	-
Anthracénosides (formes combinées)	-	+
Anthracénosides (formes Oxydées)	-	-
Anthraquinones	-	+
Hétérosides cardiotoniques	++	++
Coumarines	-	-
Flavonoïdes	+++	+++
Glycosides	++	+++
Polyphénols	++	+
Iridoïdes	++	+
Tanins	-	-
Mucilage	+	++
Quinones	-	-
Saponosides	++	+++
Terpènes	+	+
-: absent / +: faiblement présent / ++: modérément présent / +++: fortement présent		

Les résultats du criblage phytochimique d'*A. triquetrum*, montrent une diversité chimique dans la composition des deux organes étudiés.

Les principaux métabolites secondaires observés dans les feuilles sont : les flavonoïdes, les polyphénols, les saponosides, les hétérosides cardiotoniques, les glycosides et les irridoïdes. Le mucilage et les terpènes sont également présents mais à des teneurs moindres. Cependant, les réactions du screening ont révélé l'absence d'alcaloïdes, d'anthocyanines, d'anthracénosides, de coumarines, de tanins et de quinones.

D'autre part, les bulbes contiennent majoritairement : les flavonoïdes, les hétérosides cardiotoniques, les glycosides, les saponosides et le mucilage. On remarque également la présence de polyphénols, formes combinées d'anthracénosides, anthraquinones, irridoïdes et terpènes. Ainsi, les alcaloïdes, les anthocyanines, les formes oxydées d'anthracénosides, les coumarines, les tanins et les quinones sont absents.

L'hétérogénéité chimique de la plante est comparable aux autres espèces. Les polyphénols, flavonoïdes, saponines et glycosides sont considérés comme les métabolites secondaires les plus importants du genre *Allium*, comme l'ail, l'oignon et le poireau. Néanmoins, ces espèces contiennent également de fortes proportions d'autres molécules telles que les coumarines, les tanins et les stéroïdes [89] [106] [107].

L'étude de NAJJAA *et al.* (2011) a montré une forte présence d'irridoïdes et de coumarines avec absence d'anthracénosides et d'anthraquinones dans les feuilles de deux espèces spontanées *A. roseum* et *A. ampeloprasum* [12].

Une autre étude menée sur une espèce originaire d'Egypte (*A. ampeloprasum* var. *kurrat*) indique que l'extrait aqueux des feuilles présente les alcaloïdes, terpènes, flavonoïdes, tanins et saponines avec absence de stéroïdes [89].

La richesse et la diversité des métabolites secondaires chez les plantes *Allium* expliquent leur utilisation dans le traitement et la prévention de nombreuses maladies, en particulier le cancer, le diabète et l'hypercholestérolémie [6] [12].

Les polyphénols constituent un groupe important de substances naturelles largement répandues dans le règne végétal dont les flavonoïdes qui représentent le principal groupe. Ces substances possèdent des propriétés colorantes, aromatiques, médicinales et cosmétologiques qui confèrent à la plante des avantages adaptatifs.

En effet, leur rôle au niveau des plantes qui les produisent est d'une grande importance. Ces molécules contribuent à la croissance des végétaux et dans la lutte contre les agents pathogènes [108].

D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes pour la santé et la beauté de la peau. Par ailleurs, en phytothérapie, les composés phénoliques sont utilisés pour leurs propriétés vasculoprotectrices, antispasmodiques, anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes [109].

Les saponines représentent une classe de molécules caractérisées par leurs propriétés tensioactives car ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes [110]. Elles possèdent également des propriétés anti-inflammatoire, antifongique, antimicrobienne, antiparasitaire, cytotoxique, antitumorale, immunostimulante et immunomodulatrice [111].

Les iridoïdes sont des composés monoterpéniques largement répandus dans la nature. Ils présentent un large éventail d'activités biologiques : antimicrobiennes, antitumorales, antioxydantes, anti-inflammatoires, antinociceptives, anti allergiques et immunostimulantes [112]. Ainsi, les terpènes possèdent des propriétés fongicides et insecticides [113].

3.4.2. Rendement de l'extraction

Les résultats du rendement d'extraction par l'éther de pétrole et le méthanol sont montrés dans le tableau 3.6.

Tableau 3.6 : Teneur des extraits d'éther de pétrole et méthanoliques d'*A. triquetrum* (%)

L'organe	L'extrait	Le rendement (%)
Bulbes	Ether de pétrole	1,40 ± 0,15 %
	Méthanolique	16,87 ± 1,02%
Feuilles	Ether de pétrole	4,39 ± 0,80%
	Méthanolique	11,7 ± 2,13%

La teneur en composés apolaires extraits par l'éther de pétrole est très faible dans les bulbes (1,4 ± 0,15 %) en comparaison à celle des feuilles (4,39 ± 0,80 %). Au contraire, le taux des composés polaires extraits des bulbes par le méthanol est plus élevé, il est de 16,87 ± 1,02 %. Le rendement de l'extrait méthanolique des feuilles est égal à 11,7 ± 2,13 %.

L'étude de HIMED (2015) a montré des rendements beaucoup plus élevés pour les fractions apolaires que pour les fractions polaires en comparaison à nos résultats. L'extraction des composés apolaires des bulbes par la méthode de macération a donné un taux de 41 %. Les rendements des extraits éthanoliques et méthanoliques se situent entre 46 % et 51 %. D'autre part, le rendement des extraits de feuilles sont moindres et les valeurs oscillent entre 28 % et 36 % [84].

Selon MESSIAEN *et al.*, la matière sèche des différentes espèces *Allium* contient moins de 1% de lipides [87].

L'étude de KONATE *et al.* (2017) a montré que la matière grasse représente de 1,98 % à 4,96 % de la matière sèche des bulbes de onze variétés d'*A. cepa* [86].

Il a été montré que les rendements d'extraction des différents composés polaires et apolaires varient en fonction de la méthode d'extraction utilisée, de la polarité du solvant utilisé et du degré de solubilité des composés (composés simples à fortement polymérisés) dans ces solvants [84].

3.4.3. Résultats de l'analyse des extraits par GC-MS

Les résultats de l'analyse des extraits étheriques (EEPB et EEPF) sont regroupés dans les tableaux 3.7 et 3.8.

L'analyse de l'extrait étherique des bulbes EEPB a permis la mise en évidence de 50 composés appartenant de différentes classes chimiques, représentant un taux de 61,54 % du profil chromatographique. La grande diversité chimique de la fraction apolaire des bulbes de l'ail triquètre est représentée par les composés organosoufrés, les hydrocarbures, les acides gras saturés et insaturés et d'autres molécules.

Les acides gras ont présenté le groupe chimique le plus important de la fraction étherique analysée, ils représentent 36,06 % du chromatogramme. L'acide hexadécanoïque ou l'acide palmitique (AG saturé) constitue le composant majoritaire (23,24%) suivi de l'acide linoléique (AG polyinsaturé oméga-6) avec 6,93 %. Les autres acides gras constituant la fraction lipidique des bulbes sont successivement : l'acide oléique (AG mono-insaturé oméga-9, 3,81%), l'acide octadécanoïque ou l'acide stéarique (un acide gras saturé, 1,98 %) et l'acide tétradécanoïque, triméthylsilyl ester ou l'acide myristique méthyl ester (AG saturé, 0,10 %).

Les composés soufrés qui caractérisent les espèces *Allium*, montrent un taux de 4,07% de l'ensemble des molécules identifiées. Le trans-propényl méthyl disulfide 1,3-dithiane représente le composant majoritaire de ces substances avec un taux de 2,19%. Ainsi, on distingue le : méthyl-trans-propényl-disulfide (1 %),

méthyl-allylthioacétate diallyl disulfide (0,16 %), diallyl tétrasulfide (0,37 %), trisulfide, méthyl 2-propényl (0,19 %) et trans-propényl propyl disulfide (0,16 %).

Tableau 3.7 : Composition chimique de l'EEPB analysé par GC-MS

Rt Time	Area %	Composé	Rt time	Area %	Composé
7,496	1,00	Methyl-trans-propenyl-disulfide	26,843	0,18	Hexadecane, 2-methyl
7,742	2,19	Trans propenyl methyl disulfide	27,039	0,66	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl
10,303	0,03	1,3-dithiane	27,665	1,27	n-Heptadecane
12,225	0,16	1,8-Cineole	27,785	0,45	n-Docosane
12,428	0,37	Methyl allylthioacetate diallyl disulphide	27,868	0,51	n-Heneicosane
12,594	0,19	Diallyl tetrasulphide	29,164	0,14	Heptadecane, 3-methyl
12,865	0,16	Trisulfide, methyl 2-propenyl	29,639	0,17	15-Heptadecenal
14,049	0,07	Trans-propenyl propyl disulfide	29,782	1,83	n-Octadecane
15,239	0,45	Cyclopentasiloxane, decamethyl	29,971	0,21	Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl
15,623	0,17	n-Dodecane	30,589	0,83	Neophytadiene
17,439	1,03	Undecane, 2,6-dimethyl	30,875	0,10	Tetradecanoic acid, trimethylsilyl ester
17,816	0,29	n-Tetradecane	33,090	0,81	Dibutyl phthalate
17,997	0,89	Cyclotridecane	33,755	23,24	Hexadecanoic acid (Palmitic acid)
18,796	0,31	n-Tridecane	36,059	0,33	1-mercapto-2-heptadecanone
19,662	0,20	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl	36,662	6,93	9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)
19,994	0,32	Tridecane, 2-methyl	36,737	3,81	9-Octadecenoic acid (Z) (Oleic acid)
21,802	0,09	Dodecane, 2,6,10-trimethyl	37,046	1,98	Octadecanoic acid (Stearic acid)
22,059	0,12	Cyclotetradecane	38,719	0,06	1-Docosanethiol
22,292	0,36	Tetradecane, 4-methyl	39,081	1,48	n-Tricosane
22,352	0,08	Tetratriacontane	43,414	2,49	4-(3,4-dimethoxybenzylidene)-1-(4-nitrophenyl)-3-phenyl-2-pyrazolin-5-one
23,091	0,83	Tetradecane, 3-methyl	44,348	0,97	14-Beta.-H-pregna
23,136	0,45	Eicosane			
23,453	1,44	Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl			
23,920	0,07	Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)			
24,274	0,27	Dodecane, 4,6-dimethyl			
24,447	0,05	Cyclopentadecane			
24,575	0,24	Pentadecane, 4-methyl			
24,741	0,17	Pentadecane, 2-methyl			
25,427	0,79	Pentadecane, 3-methyl			
		1-Hexadecene			
		Total 61,54 %			

L'analyse de la fraction étherique des bulbes a permis également la mise en évidence d'autres substances appartenants à d'autres groupes chimiques. Parmi ceux-ci : un composé phénolique le phénol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl) (1,44 %), une molécule stéroïdique le 14-Beta.-H-pregna, un composé monoterpénique le 1,8-cineole ou l'eucalyptol (0,03 %), un hydrocarbure ramifié le néophytadiene (0,83%), le 4-(3,4-dimethoxybenzylidene)-1-(4-nitrophenyl)-3-

phenyl-2-pyrazolin-5-one (2,49 %), le dibutyl phthalate (0,81 %), le cyclopentasiloxane, decamethyl (0,07 %), le cyclohexasiloxane, dodecamethyl (0,31 %), le cycloheptasiloxane, tetradecamethyl (0,45 %) et le cyclooctasiloxane, hexadecamethyl (0,66 %).

L'analyse de la fraction étherique des feuilles EEPF a permis d'identifier 66,57 % du chromatogramme avec la présence de 59 composés appartenants à différentes classes chimiques.

Tableau 3.8 : Composition chimique de l'EEPF analysé par GC-MS

Rt Time	Area %	Composé	Rt Time	Area %	Composé
---------	--------	---------	---------	--------	---------

12,376	0,27	n-Undecane	28,991	0,06	Heptadecane, 2-methyl
12,587	0,12	Naphthalene, decahydro-2-methyl	29,164	0,03	Decane, 3,8-dimethyl
14,561	0,08	Naphthalene,decahydro-2,3 dimethyl	29,458	1,61	Tetradecanoic acid (Myristic acid)
15,247	0,53	n-Dodecane	30,596	1,19	Neophytadiene
15,631	0,24	Undecane, 2,6-dimethyl	30,732	0,40	2-Pentadecanone,6,10,14-trimethyl
16,452	0,05	Benzyl (dideuterated) methyl ether	30,890	0,14	Tetradecanoic acid, trimethylsilyl ester
16,874	0,08	Dodecane, 4-methyl	31,237	0,11	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2-methylpropyl) ester
17,002	0,17	Undecane, 3-methyl			
17,439	0,19	n-Octadecane			
18,005	0,60	n-Tridecane	31,357	0,18	Pentadecanoic acid
19,165	0,04	Cyclotetradecane	32,344	0,34	Hexadecanoic acid, methyl ester
19,670	0,12	Tridecane, 2-methyl			
19,986	0,11	Dodecane, 2,6,10-trimethyl	32,962	0,12	9-Hexadecenoic acid
20,612	0,37	n-Tetradecane	33,083	0,56	1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester
22,059	0,06	n-Hexatriacontane			
22,285	0,06	n-Eicosane			
22,443	0,03	Tetracosane, 1-bromo	34,032	14,04	Hexadecanoic acid (Palmitic acid)
22,963	0,25	n-Docosane			
23,076	0,28	n-Pentadecane	35,743	0,09	9-Octadecenoic acid (Oleic acid)
23,460	0,45	Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)	35,931	1,64	Phytol
23,837	0,04	Butyl (tetradec-6-yl) sulfonate	36,112	0,13	Octadecanoic acid, methyl ester (Stearic acid methyl ester)
23,920	0,09	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl	37,220	23,94	9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid)
24,568	0,05	Pentadecane, 2-methyl			
25,148	0,97	Dodecanoic acid (Lauric acid)	37,318	4,71	Linolenic acid, methyl ester
25,427	0,26	n-Hexadecane	37,566	6,22	Octadecanoic acid (Stearic acid)
26,203	0,06	n-Octacosane			
26,459	0,03	n-Heneicosane	38,214	0,29	Beta.-H-Pregna
26,730	0,45	Dodecanoic acid, trimethylsilyl ester	40,369	0,40	Eicosanoic acid (Arachic acid)
27,190	0,04	n-Pentacosane	40,565	1,02	Octadecanoic acid, butyl ester
27,341	0,06	n-Nonadecane			
27,657	0,27	n-Heptadecane	43,059	0,73	Diisooctyl-phthalate
28,577	0,04	Pentatriacontane	43,805	0,75	n-Hexacosane
28,629	0,05	n-Tricosane	45,539	0,95	n-Heptacosane
28,780	0,15	Nonane, 5-butyl	48,304	0,11	Squalene
		Total 66.38 %			

Les acides gras saturés et insaturés constituent le groupe chimique le plus abondant de la fraction étherique des feuilles dont, l'acide 9,12 octadécadiénoïque ou acide linoléique (AG polyinsaturé, oméga-6) représente le composant majoritaire avec un taux de 23.94% suivi de l'acide hexadécanoïque ou l'acide palmitique avec une teneur de 14.04%. Les autres AG présents sont respectivement, l'acide octadécanoïque (6,22 %), l'acide tétradécanoïque (1,61 %), acide dodécanoïque ou acide laurique (AG saturé, 0,97 %), acide eicosanoïque ou acide arachidique (AG saturé, 0,40%), acide pentadécanoïque ou acide pentadécyclique (AG saturé, 0,18 %), acide 9-héxadécénoïque ou acide palmitoléique (AG monoinsaturé, 0,12 %) et Acide 9,octadécénoïque ou acide oléique (0,09%).

L'analyse de la fraction apolaire des feuilles par la GC-MS a également montré la présence d'autres composés appartenants à d'autres groupes chimiques, un composé phénolique le phénol, 2,4-bis (1,1-diméthylethyl) (0,45 %), un terpénoïde ou alcool diterpénique le phytol (1,64 %), un triterpène le squalène (0,11 %), un hydrocarbure ramifié le néophytadiène (1,19 %), un stéroïde le 14-Beta.-H-pregna (0,29 %), deux dérivés d'acide phtalique (acide carboxylique aromatique) le 1,2-Benzenedicarboxylic acid bis (2-méthylpropyl) ester (0,11 %) et le 1,2-benzenedicarboxylic acid, butyl 2-méthylpropyl ester (0,56 %), le butyl (tetradec-6-yl) sulfonate (0,04 %), le benzyl (dideuterated) méthyl ether (0,05 %), le naphthalène, decahydro-2-méthyl (0,12 %), le naphthalène,decahydro-2,3 diméthyl (0,08 %), le 2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-triméthyl (0,09 %), le 2-pentadécanone, 6,10,14-triméthyl (0,40 %) et le diisooctyl-phthalate (0,73 %).

Les résultats de l'analyse des extraits méthanoliques (EMB et EMF) par la GC-MS sont représentés dans les tableaux 3.9 et 3.10.

L'analyse de l'extrait méthanolique des bulbes a mis en évidence 19 molécules qui représentent un taux de 57,15 %. La plupart des molécules identifiées sont des esters méthyliques d'acides gras dont le composant majoritaire est l'acide hexadécanoïque méthyl ester (23,30 %) suivi de l'acide hexanedioïque méthyl ester (14,03 %) et de l'acide 9-Octadécénoïque méthyl ester (7,71 %).

Tableau 3.9 : Composition chimique de l'EMB analysé par GC-MS

Rt Time	Area %	Composé
4,870	1,67	Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)
5,390	0,15	1-Hexadecene
6,576	0,70	Tetradecanoic acid, methyl ester
7,331	0,29	1-Octadecanol
9,461	23,30	Hexadecanoic acid, methyl ester
9,886	0,28	Methyl-3-(3,5-Ditertbutyl-4-Hydroxyphenyl) Propionate
10,398	0,53	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2-methylpropyl) ester
11,877	0,54	Heptadecanoic acid, methyl ester
14,264	7,71	9-Octadecenoic acid, methyl ester
15,297	2,06	Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester
22,136	2,08	Citric acid, tributyl ester
26,953	14,03	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester
29,860	0,43	n-Pentacosane
30,680	0,72	Docosanoic acid, methyl ester
31,017	1,38	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2-ethylhexyl) ester
33,111	0,47	Tricosanoic acid, methyl ester
34,576	0,18	n-Eicosane
35,271	0,47	Tetracosanoic acid, methyl ester
38,500	0,16	n-Octadecane
Total		57,15 %

Nous avons ainsi détecté la présence d'autres composés tels que le phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl) qui est un composé phénolique, le 1,2 benzenedicarboxylic acid, bis (2-methylpropyl) ester (0,53 %) et le 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2-ethylhexyl) ester (1,38 %) qui sont des dérivés de l'acide phtalique (acide carboxylique aromatique), le pentacosane (0,43 %),

l'eicosane (0,18 %) et l'octadécane (0,16 %) qui sont des alcanes et un ester tributilique de l'acide citrique (2,08 %).

Tableau 3.10 : Composition chimique de l'EMF analysé par GC-MS

Rt Time	Area %	Composé
4,753	1,19	n-Pentadecane
5,442	3,49	n-Hexadecane
5,815	0,64	Pentadecane, 2,6,10-trimethyl
6,291	6,42	n-Heptadecane
7,404	7,70	n-Octadecane
8,941	7,21	n-Nonadecane
9,491	3,96	Hexadecanoic acid, methyl ester
11,109	6,78	n-Eicosane
14,206	7,58	n-Heneicosane
18,665	5,35	n-Docosane
23,468	5,31	n-Tricosane
26,961	25,01	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester
29,882	3,46	n-Pentacosane
32,372	2,60	n-Hexacosane
Total	86,7%	

L'analyse de l'extrait méthanolique des feuilles de *A. triquetrum* par la GC-MS a montré la présence de certains composés tels que des alcanes principalement le n-octadecane (7,70 %), le n-nonadecane (7,21 %) et le n-neptadecane (6,42 %), un ester méthylique d'acide gras qui est l'acide hexadecanoïque, methyl ester (3,96 %) et un ester d'acide gras l'acide hexanedioïque, bis(2-ethylhexyl) ester qui représente le composant majoritaire avec un taux de 25,01 %.

Les résultats de l'analyse des extraits éthériques et méthanoliques des bulbes et feuilles d'*A. triquetrum* sont très proches des travaux réalisés sur

différents organes des différentes espèces *Allium*. En effet, *A. triquetrum* contient une large proportion de diméthyl disulfides et des proportions modérées de méthyl-n-propyl et méthyl allyl disulfides [114].

L'étude de ZOUARI CHEKKI *et al.* (2014) a montré que la fraction lipidique des bulbes de l'ail est très riches en acide gras saturés et insaturés en particulier l'acide laurique, l'acide palmitique et l'acide linoléique, tandis que la majeure partie de l'huile essentielle contient une bonne teneur de diallyl disulfide (44,6 %) et diallyl trisulfide (30,38 %) [115]. DERBALI *et al.* (2016) ont étudié la composition chimique de l'extrait méthanolique des graines d'*A. cepa* et ont montré qu'il est riche en acides gras saturés et insaturés dont les principaux sont l'acide linoléique (70 %), l'acide oléique (20 %) et l'acide palmitique (5 %) avec absence de composés soufrés [116]. En parallèle, une autre étude portée sur la composition chimique de l'huile essentielle des fleurs d'*A. atrovioleaceum* a mis en évidence la présence de composés soufrés dont les plus majoritaires sont le cis propenyl methyl disulfide, le methyl-trans-propenyl-disulfide 1,3-dithiane et le dimethyl trisulfide, des acides gras comme l'acide palmitique ainsi que des alcanes comme le nonacosane, l'eicasane et le tetracosane. L'analyse de cette huile a montré aussi la présence d'autres molécules tel que le bis(2-ethylhexyl) phthalate, le 1,2-benzenedicarboxylic acid le dibutyl phthalate et le 1-(2-trimethylsiloxy-1,1-dideuteriovinyl)-4-trimethylsiloxy-benzene [117].

L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle des bulbes, feuilles, tiges et fleurs d'*A. nigrum* a mis en évidence des acides gras dont l'acide palmitique est le composant majoritaire dans les différents organes, des esters méthylés d'acides gras, des alcanes et des sesquiterpènes avec l'absence de composés organo-soufrés [118]. JOHNSON *et al.* (2013) ont étudié la composition chimique de l'huile d'*A. sativum* et ont montré la présence de trisulfide, di-2-propenyl, d'acide linoléique ethyl ester et d'acide hexadécanoïque [119].

Une autre étude a porté sur la composition chimique de l'huile essentielle des fleurs d'*A. rotundum* a montré principalement la présence de 14-Beta-H-pregna, cis et trans-propenyl propyl disulfide, trisulfide dipropyl, phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl), decane, cyclododecane, 9-eicosene, nonanal, dibutyl phthalat et phytol [120].

L'étude de la composition chimique des extraits éthériques d'*A. triquetrum* a mis en évidence une hétérogénéité chimique. Ils sont très riches en acides gras (saturés, mono-insaturés et poly-insaturés) et en alcanes. Néanmoins, les feuilles sont plus concentrées en acides gras en particulier l'acide linoléique et l'acide palmitique. Cependant, les composés soufrés ont été observés seulement dans l'extrait éthérique des bulbes alors qu'ils sont absents dans l'extrait éthérique des feuilles.

D'autre part, certaines molécules sont présentes dans les deux extraits éthériques de la plante en particulier le phénol, 2,4-bis (1,1-diméthylethyl), le néophytadiène et le 14-Beta-H-pregna, tandis que le squalène et le phytol sont présents seulement dans les feuilles.

L'analyse des fractions méthanoliques n'a présenté que des hydrocarbures quelques acides gras et esters méthylés d'acides gras. Le phénol, 2,4-bis (1,1-diméthylethyl) est présent uniquement dans l'EMB. Aucune molécule soufrée n'a été mise en évidence dans les deux extraits méthanoliques de la plante.

L'absence des composés soufrés dans les extraits méthanoliques et l'extrait éthérique des feuilles peut être expliqué par le fait que les bulbes sont plus concentrés en composés soufrés par rapport aux feuilles. Ainsi, ces composés sont très instables et très sensibles, ils peuvent être transformés en d'autres molécules ou même être dégradés sous l'effet du séchage, du solvant et de la méthode d'extraction.

La grande différence entre la composition chimique des extraits apolaires et polaires de la plante est peut être due à la nature des composés et leur affinité aux solvants de l'extraction utilisés. Ainsi, la technique de la GC-MS est mieux adaptée à l'analyse des composés lipidiques et des composés volatiles.

Les composés soufrés observés dans l'EEPB, (methyl-trans-propenyl-disulfide, trans propenyl methyl disulfide 1,3-dithiane, methyl allylthioacetate diallyl disulfide, diallyl tetrasulfide, trisulfide methyl-2-propenyl et trans propenyl propyl disulfide) sont les produits de transformation des composés thiosulfonates (diallyl sulfoxyde ou allicine, dipropyl sulfoxyde, propényl sulfoxyde) qui dérivent des

cystéines sulfoxydes sous l'effet d'une enzyme alliinase libérée suite à la destruction des cellules végétale [121].

Il a été démontré que les composés organo-soufrés des espèces *Allium* présentent plusieurs activités biologiques. En effet, le diallyl sulfide inhibe la prolifération et la croissance des cellules tumorales du pancréas et favorise l'apoptose des cellules cancéreuses mammaires. Le diallyl trisulfides présente une forte activité cytotoxique sur les cellules cancéreuses de la prostate par l'inhibition de la prolifération cellulaire et l'induction de l'apoptose. Ainsi, il a été démontré que les diallyl disulfide, trisulfide et tetrasulfide possèdent de fortes activités antibactériennes, ils agissent aussi bien sur le développement des bactéries Gram positif que sur les bactéries Gram négatif. Ils possèdent également des propriétés antifongiques, antiparasitaires, insecticides, antioxydantes, anti-inflammatoires et hypocholestrolémiantes [122].

Le phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl) est un composé phénolique. Les composés phénoliques sont des composés largement distribués dans le règne végétal, il a été démontré qu'ils possèdent de très fortes activités antioxydantes [120].

A. triquetrum est très riche en acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés. Ils constituent une source d'énergie et assurent plusieurs autres fonctions physiologiques chez les mammifères. En effet, l'acide linoléique est un gras poly-insaturé oméga-6 indispensable car il ne peut être synthétisé par l'organisme, il est ainsi un précurseur métabolique des acides gras poly-insaturés oméga-6 et considéré comme un constituant majeur des phospholipides membranaires. L'acide linoléique est un acide gras essentiel oméga-3 précurseur d'acides gras poly-insaturés oméga-3, avec un effet anti-athérogène. L'acide oléique (acide gras mono-insaturé) est un constituant majeur des lipides de structure, il possède éventuellement des propriétés hypocholestérolémiantes et anti-athérogènes. D'autre part, L'acide stéarique rentre dans la structure des phospholipides membranaires et n'a aucun effet sur la lipémie, tandis que l'acide myristique régule l'activité de certaines protéines membranaires. Néanmoins, en cas d'excès l'acide palmitique et l'acide stéarique peuvent présenter un effet hypercholestérolémiant [123].

Le néophytadiène est un composé terpénique déjà connu pour son effet antibactérien et contribue ainsi au traitement des maux de tête, des rhumatismes et de certaines maladies dermatologiques [124]. L'acide 1,2-benzenedicarboxylique présente à la fois des activités anti-inflammatoire et antimicrobienne [125].

Le phytol est un alcool diterpène acyclique qui est un précurseur des vitamines E et K. C'est un terpénoïde extrêmement commun, que l'on trouve dans toutes les plantes à chlorophylle ce qui peut expliquer sa présence dans l'extrait éthérique des feuilles à l'opposé de l'extrait éthérique de bulbes. Il présente un effet contre les mycobactéries et des activités anti-convulsivante, antispasmodique et anticancéreuse. Selon SILVAA *et al.* (2013), le phytol atténue la réponse inflammatoire en inhibant la migration des neutrophiles qui est partiellement causée par une réduction des taux d'IL-1b et de TNF- α et du stress oxydatif [126].

Le squalène est considéré comme un antioxydant efficace. Cette propriété est peut être liée à son activité anti-tumorale. Il est utilisé dans l'industrie cosmétique et rentre dans la composition de certains adjuvants que l'on rajoute aux vaccins pour renforcer la réponse immunitaire [127].

3.4.4. Résultats de l'étude qualitative et quantitative de certains composés phénoliques

3.4.4.1. Résultats de l'analyse des composés phénoliques par HPLC

Les tableaux 3.11, 3.12, 3.13 et 3.14 regroupent les résultats de l'identification de quelques composés phénoliques présents dans les extraits méthanoliques (EMB, EMF) et aqueux (IB, IF). Les profils chromatographiques obtenus sont montrés dans la partie appendic.

L'analyse des extraits aqueux et méthanoliques d'*A. triquetrum* par HPLC a mis en évidence plusieurs pics, donc la présence de plusieurs composés. Cependant, les pics majoritaires n'ont pas été identifiés à cause d'absence d'étalons. Néanmoins, cette analyse a permis de révéler la présence de quelques composés phénoliques qui sont majoritairement des acides phénoliques (acide gallique, acide férulique, acide hydroxy-cinnamique, acide chlorogénique et méthyl

gallate) et des flavonoïdes de type flavonols (rutine) et flavanones (naringénine) et flavanols (catéchine)

On remarque que les extraits aqueux et méthanoliques d'*A. triquetrum* contiennent pratiquement les mêmes composés phénoliques qui sont l'acide gallique, l'acide férulique, l'acide hydroxy-cinnamique, la rutine, la naringénine et la coumarine. L'acide gallique représente le composé majoritaire dans les différents extraits. D'autre part, l'acide chlorogénique est présent uniquement dans l'extrait méthanolique des bulbes, la catéchine est présente seulement dans l'extrait aqueux de feuilles tandis que le méthyl gallate est absent dans les extraits méthanoliques.

Tableau 3.11. Les composés phénoliques identifiés dans l'EMB analysé par HPLC

Rt time (min)	Composé	Area (%)
3,939	Acide gallique	2,00
9,872	Acide chlorogénique	0,23
12,476	Méthyl gallate	0,63
14,434	Rutine	0,15
15,384	Naringénine	0,04
15,665	Acide férulique	0,23
16,901	Acide hydroxy-cinnamique	0,30
18,507	Coumarine	0,11
	Total 3,69 %	

Tableau 3.12 : Les composés phénoliques identifiés dans l'EMF analysé par HPLC

Rt time (min)	Composé	Area (%)
4,336	Acide gallique	4,09
12,476	Méthyl gallate	0,18
14,483	Rutine	0,49
15,329	Naringénine	0,22
15,660	Acide férulique	0,33
16,897	Acide hydroxy-cinnamique	0,89
18,458	Coumarine	0,37
	Total 6,94 %	

Tableau 3.13 : Les composés phénoliques de l'IB identifiés par HPLC

Rt time (min)	Composé	Area (%)
4,369	Acide gallique	1,50
14,417	Rutine	0,05
15,396	Naringénine	0,10
15,655	Acide férulique	0,33
16,909	Acide hydroxy-cinnamique	0,24
18,513	Coumarine	0,14
	Total 2,36 %	

Tableau 3.14 : Les composés phénoliques de l'IF analysés par HPLC

Rt time (min)	Composé	Area (%)
4,322	Acide gallique	7,28
12,234	Catéchine	0,65
14,490	Rutine	0,03
15,326	Naringénine	0,49
15,687	Acide férulique	0,17
16,906	Acide hydroxy-cinnamique	0,52
18,476	Coumarine	0,35
	Total 9,68 %	

De nombreuses études se sont intéressées à la détermination de la composition phénolique des différents organes de différentes espèces *Allium*.

L'étude de COREA *et al.* (2003) a montré que les bulbes et les fleurs d'*A. triquetrum* contiennent de fortes proportions de flavonoïdes en particulier le kaempferol [6].

Parallèlement, une étude menée sur la composition phytochimique des graines et feuilles d'*A. ampeloprasum* var. *kurrat* a permis la mise en évidence de nombreux composés phénoliques et en particulier l'acide chlorogénique, le kaempferol et l'acide gallique. Cette investigation a montré également la présence de l'acide coumarique, l'acide caféique, la quercétine, l'acide vanilique et l'acide tannique [89].

L'étude de VLASE *et al.* (2013) a permis de caractériser les principaux composés phénoliques présents dans les extraits éthanoliques de trois espèces d'*Allium*. Les résultats ont montré qu'*A. senescens* et *A. schoenoprasum* contiennent des proportions appréciables en acide coumarique; acide férulique, rutine, acide sinapique; quercetol et kaempferol, tandis que *A. obliquum* contient l'acide coumarique, l'acide férulique, l'isoquercétine, la lutéoline et l'apigénine [128].

EJAZ *et al.* (2003) ont également étudié la composition chimique d'*A. sativum* et ont mis en évidence sa richesse en composés phénoliques tels que l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide coumarique et la quercétine [129].

L'acide gallique est un antioxydant naturel bien connu. Il possède une activité anti-hyperlipidémique en diminuant le taux des triglycérides et des LDL-C et en augmentant le taux de l'HDL-C. Il a un pouvoir cardioprotecteur qui est peut être lié à ses effets hypoglycémiant et antioxydant [130]. L'acide gallique présente également des activités antimicrobienne, anti-inflammatoire, antalgique [131] et anticancéreux. Ainsi, le méthyl gallate est un ester méthylique d'acide gallique. Ce composé phénolique est doté d'une activité anti-tumorale sur différents types de cellules cancéreuses. Il présente également des propriétés antioxydantes, antibactériennes et antivirales [132].

L'acide chlorogénique est un acide phénolique qui possède un grand nombre d'activités biologiques, à savoir des propriétés antioxydante, antidiabétique, antivirale, anti-inflammatoire et antibactérienne [133]. Ainsi, il inhibe la prolifération des cellules tumorales et améliore l'activité du système immunitaire. Il a été démontré que l'acide chlorogénique agissent sur les cancers du colon et suppriment mêmes les facteurs cancérogènes associés [134].

La rutine (3,3', 4', 5,7-pentahydroxyflavone-3-rhamnoglucoside) est un flavonoïde de type flavonol très répandu dans le règne végétal. La rutine possède un large éventail de propriétés pharmacologiques, elle est utilisée comme agent antioxydant, antimicrobien, antifongique et anti-allergique. Cependant, la recherche actuelle a montré ses effets pharmacologiques pour le traitement de diverses maladies chroniques, tel que le cancer, le diabète, l'hypertension et l'hypercholestérolémie [135]. En parallèle, la catéchine est un flavonoïde de type flavanol, qui possède également des propriétés antioxydante, antibactérienne, anti-allergique et anticancéreux [136].

D'autre part, la naringénine est un flavonoïde de type flavanone connue pour avoir ses effets bioactifs sur la santé humaine. Elle possède diverses activités biologiques tel que antidiabétique, anti-athérogène, antidépresseur, immunomodulateur, antitumorale, anti-inflammatoire, hypolipidémiant, antioxydant.

Ainsi, cette molécule améliore les troubles de la mémoire et joue un rôle protecteur de l'ADN [137].

L'acide férulique et l'acide hydroxy-cinnamique (acide *p*-coumarique) sont des acides phénoliques qui dérivent de l'acide cinnamique. Ils ont une grande variété d'activités biologiques, en effet ils sont antioxydants, anti-inflammatoires, antimicrobiens, anti-allergiques, hépatoprotecteurs, anticancérigènes, antithrombotiques, antivirales et vasodilatateurs [138].

La coumarine est un composé polyphénolique doté de plusieurs activités thérapeutiques telles que les activités anticoagulante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, analgésique, antivirale et anti-tumorale [139].

3.4.4.2. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux

Les équations des courbes d'étalonnage de l'acide gallique ($y = 0,049x + 0,099$; $R^2 = 0,992$) et de la quercétine ($y = 0,004x + 0,013$; $R^2 = 0,996$) sont utilisées respectivement pour l'estimation des taux de flavonoïdes et de polyphénols. Les résultats du dosage des composés phénoliques sont représentés dans les figures 3.6 et 3.7.

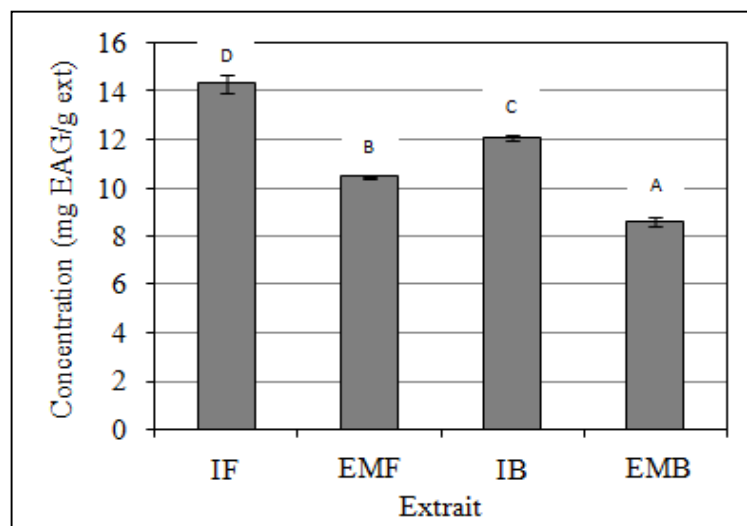


Figure 3.6 : Taux de polyphénols dans les différents extraits d'*Allium triquetrum* exprimés en moyennes \pm écarts types (Les moyennes avec différentes lettres sont significativement différentes ($p < 0,05$) selon l'analyse de l'ANOVA univariée suivie par le post-test de comparaison multiple de Tukey)

La figure 3.6 représente les taux moyens de polyphénols dans les extraits aqueux et méthanoliques des feuilles et bulbes d'*A. triquetrum*.

Les résultats du dosage des polyphénols ont montré des concentrations appréciables dans les différents extraits de la plante avec des différences significatives entre leurs moyennes ($p < 0,05$).

On remarque que les extraits aqueux d'*A. triquetrum* présentent des taux plus importants que les extraits méthanoliques. D'autre part, les feuilles contiennent plus de polyphénols par rapport aux bulbes.

L'extrait aqueux de feuilles IF présente le meilleur rendement avec un taux de $14,31 \pm 0,36$ mg EAG/g ext, suivi de l'extrait aqueux de bulbes IB dont la concentration est de $12,09 \pm 0,13$ mg EAG/g de poids sec de l'extrait.

Les extraits méthanoliques ont également présenté des taux considérables. La teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique de feuilles EMF ($10,46 \pm 0,04$ mg EAG/g ext) est supérieure à celle de l'extrait méthanolique de bulbes EMB ($8,59 \pm 0,18$ mg EAG/g ext).

L'étude de HIMED (2015) a mis en évidence des teneurs appréciables en polyphénols dans les feuilles de *A. triquetrum* ($16,811 \pm 0,18$ mgEAG/g) à l'opposé des bulbes qui ont montré de faibles concentrations ($3,114 \pm 0,07$ mgEAG/g) par rapport à nos résultats. En revanche, le méthanol était le meilleur solvant d'extraction utilisé en comparaison avec l'acétone et l'éthanol. Les méthodes d'extractions (macération et extraction assistée par micro-ondes) ont également influencé sur les teneurs des extraits en polyphénols [84].

La figure 3.7 montre les concentrations moyennes en flavonoïdes dans les extraits aqueux et méthanolique des bulbes et feuilles d'*A. triquetrum*.

Les résultats du dosage des flavonoïdes ont montré la présence de taux importants dans les différents extraits étudiés avec des différences significatives entre leurs moyennes ($p < 0,05$).

La plus grande concentration en flavonoïdes a été mise en évidence dans l'IF avec un taux égale à $22,12 \pm 0,33$ mg EQ/g de l'extrait sec. La teneur en

composés flavonoïdiques de l'IB est également considérable ($16,05 \pm 0,13$ mg EQ/g ext).

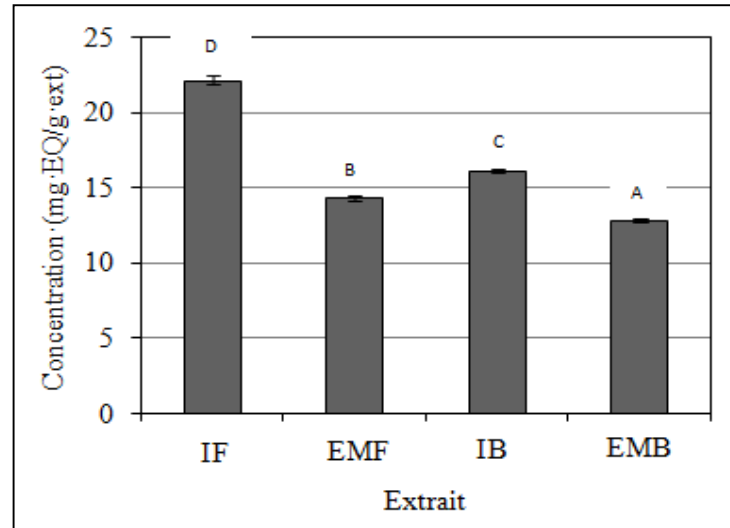


Figure 3.7 : Taux de flavonoïdes dans les différents extraits d'*Allium triquetrum* exprimés en moyennes \pm écarts types (Les moyennes avec différentes lettres sont significativement différentes ($p < 0,05$) selon l'analyse de l'ANOVA univariée suivie par le post-test de comparaison multiple de Tukey)

D'autre part, les extraits méthanoliques ont montré de faibles concentrations par rapport aux extraits aqueux. Le taux de flavonoïdes dans l'EMF est de $14,27 \pm 0,20$ mg EQ/g ext tandis qu'il est de $12,79 \pm 0,10$ mg EQ/g ext dans l'EMB. De plus, nous avons remarqué que les feuilles sont plus riches en flavonoïdes par rapport aux bulbes.

Les résultats de cette étude sont comparables à ceux de HIMED (2015) qui a signalé des teneurs appréciables de composés phénoliques dans les extraits des feuilles en comparaison à leur concentration dans les extraits des bulbes d'*A. triquetrum*. Le taux de flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles à savoir, $13,215 \pm 0,24$ mg EQ/g, est très proche de notre résultat. Cependant, la valeur moyenne dans l'extrait méthanolique des bulbes diffère, elle est beaucoup plus faible car égale à $0,614 \pm 0,09$ mg EQ/g.

Cette étude a montré que les feuilles sont plus concentrées en composés phénoliques et que l'eau est le meilleur solvant pour l'extraction de ces composés.

La différence entre les teneurs en molécules dosées dans les différents extraits de la plante peut être expliquée par l'influence de plusieurs paramètres tels que l'organe de la plante utilisé, la méthode et le solvant d'extraction ainsi que le temps de contact avec ce solvant.

Le contenu en métabolites secondaires varie qualitativement et quantitativement entre les plantes des différentes espèces, entre les plantes de la même espèce et aussi dans la même plante, selon l'organe considéré. Plusieurs facteurs sont mis en jeu à savoir,

- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante [140].

- L'organe de la plante utilisé (Feuilles, tiges, racines, tubercules, bulbes, fleurs).

- Les facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies [141].

- Le séchage, le solvant, la méthode de l'extraction ainsi que la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur en composés phénoliques. TURKMEN *et al.* (2006) ont rapporté que les solvants de polarité différente (éthanol et eau) ont un effet significatif sur la teneur en polyphénols [142]. D'autre part, l'étude de SETTHARAKSA *et al.* (2014) a montré que l'eau est le meilleur solvant pour l'extraction des phénols et des flavonoïdes [143].

3.5. Résultats de l'étude toxicologique et des activités biologiques

3.5.1. Toxicité aigue

Au cours des deux semaines d'observation, les tests de toxicité aigue des extraits aqueux et méthanoliques de la plante n'ont montré aucun trouble de comportement et aucune mortalité dans tous les lots des souris mâles et femelles étudiés. Donc on peut considérer *A. triquetrum* comme une plante non toxique.

3.5.2. Activité antimicrobienne

3.5.2.1. Résultats de l'activité antibactérienne

Les résultats de l'effet inhibiteur des jus et des extraits aqueux et méthanoliques des bulbes et feuilles de l'ail triquètre sur les bactéries Gram positif sont montrés dans le tableau 3.15.

Tableau 3.15 : Effet antibactérien des extraits d'*A. triquetrum* sur les bactéries Gram positif (Les moyennes avec différentes lettres sont significativement différentes ($p < 0,05$) selon l'analyse de l'ANOVA univariée suivie par le test de comparaison multiple de Tukey).

Extrait /Témoin \ Bactérie	Diamètre de zone d'inhibition* (moyenne** \pm écart type mm)			
	<i>Streptococcus</i> sp.	<i>Enterococcus</i> sp.	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
JB pur	25,5 \pm 0,50 ^{A,a}	21 \pm 1,00 ^{B,a}	15,5 \pm 0,50 ^{C,a}	21 \pm 0,50 ^{B,a}
JB (50 %)	12 \pm 1,00 ^{A,b}	11 \pm 0,50 ^{AB,b}	08 \pm 0,50 ^{C,b}	10 \pm 0,00 ^{B,b}
JF pur	20 \pm 0,50 ^{A,c}	12 \pm 1,00 ^{B,b}	- ^{C,c}	- ^{C,c}
JF (50 %)	10 \pm 0,00 ^{A,d}	- ^{B,c}	- ^{B,c}	- ^{B,c}
EMB	13 \pm 0,50 ^{A,b}	- ^{B,c}	- ^{B,c}	16 \pm 0,00 ^{C,d}
EMF	- ^{A,e}	08,5 \pm 0,50 ^{B,d}	- ^{A,c}	09,5 \pm 0,50 ^{B,b}
IB	- ^{A,e}	- ^{A,c}	- ^{A,c}	15 \pm 1,00 ^{B,d}
IF	- ^{A,e}	- ^{A,c}	- ^{A,c}	- ^{A,c}
C	28 \pm 0,50 ^{A,f}	25 \pm 0,50 ^{B,e}	32 \pm 1,00 ^{C,d}	34,5 \pm 0,50 ^{D,e}
CL	22 \pm 0,00 ^{A,g}	18 \pm 0,50 ^{B,f}	18 \pm 0,00 ^{B,e}	20,5 \pm 0,50 ^{C,a}

*Le diamètre du disque (6 mm) a été inclus dans le calcul de la zone d'inhibition ; (-) Aucune zone d'inhibition. **Trois répétitions ont été effectuées pour chaque extrait et pour chaque souche.

Selon les résultats obtenus, le jus de bulbes JB pur présente une très bonne activité antibactérienne vis-à-vis de toutes les bactéries Gram positif testées par rapport aux autres extraits testés. En effet, les zones d'inhibition sont importantes ($\varnothing > 15$ mm) et comparables à celles obtenues par les antibiotiques témoins (C et CL).

Le JB pur montre un effet appréciable sur *Streptococcus* sp. ($25,5 \pm 0,50$ mm), *Enterococcus* sp. ($21 \pm 1,00$ mm), *S. aureus* ($21 \pm 0,50$ mm) et *B. subtilis* ($15,5 \pm 0,50$ mm). L'activité du jus de feuilles JF est visible uniquement sur deux souches, *Streptococcus* sp. ($18 \pm 0,50$ mm) et *Enterococcus* sp. ($12 \pm 1,00$ mm).

En parallèle, le JB dilué à 50 % a présenté un pouvoir antibactérien sur toutes les souches. Cependant, Cet effet est moins important ($\varnothing < 15$ mm) en comparaison avec le JB à l'état pur. Au contraire, le JF dilué à 50 % n'a présenté un effet inhibiteur que sur *Streptococcus* sp. avec une faible zone d'inhibition qui est de 10 mm.

Les souches *Streptococcus* sp. et *S. aureus* sont sensibles à l'extrait méthanolique de bulbes EMB avec des zones d'inhibition égales respectivement à $13 \pm 0,50$ mm et $16 \pm 0,00$ mm. L'extrait méthanolique des feuilles EMF n'a présenté qu'un faible effet inhibiteur sur *Enterococcus* sp. car le diamètre de la zone d'inhibition est de $08,5 \pm 0,50$ mm. D'autre part, l'ensemble des souches testées ont résisté aux infusés, à l'exception de *S. aureus* qui est sensible uniquement à l'infusé de bulbes IB avec une zone d'inhibition de $15 \pm 1,00$ mm.

Les résultats de l'effet inhibiteur (moyenne \pm écart type mm) des jus et des extraits aqueux et méthanoliques des bulbes et feuilles de l'ail triquetre sur les bactéries Gram négatif sont regroupés dans le tableau 3.17. La différence est significative à $p < 0,05$.

Le tableau 3.16 montre la présence d'un effet inhibiteur appréciable des extraits d'*A. triquetrum* sur les bactéries Gram négatif, surtout les jus frais et pur qui ont inhibé le développement de toutes les souches testées à l'exception de *Acinetobacter* sp. qui résiste au JF.

Tableau 3.16 : Effet antibactérien des extraits d'*A. triquetrum* sur les bactéries Gram négatif (Les moyennes avec différentes lettres sont significativement différentes ($p < 0,05$) selon l'analyse de l'ANOVA univariée suivie par le post-test de comparaison multiple de Tukey).

Bactérie Extrait/ Témoin	Diamètre de zone d'inhibition* (moyenne** \pm écart type mm)				
	<i>P. mirabilis</i>	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>K.</i> <i>pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
JB pur	21 \pm 1,00 <i>A,a</i>	24,5 \pm 0,50 <i>B,a</i>	25 \pm 1,00 <i>B,a</i>	12 \pm 0,50 <i>C,ab</i>	22,5 \pm 0,50 <i>A,a</i>
JB (50 %)	09 \pm 0,50 <i>A,b</i>	11 \pm 0,00 <i>ABC,b</i>	12 \pm 0,00 <i>C,bc</i>	- <i>D,b</i>	10 \pm 1,00 <i>ABC,bce</i>
JF pur	20,5 \pm 0,00 <i>AC,a</i>	- <i>B,c</i>	20 \pm 1,00 <i>AC,d</i>	18 \pm 1,00 <i>C,c</i>	13 \pm 0,50 <i>D,b</i>
JF (50 %)	08 \pm 0,50 <i>A,b</i>	- <i>B,c</i>	10 \pm 0,50 <i>AC,c</i>	10 \pm 0,00 <i>AC,b</i>	08 \pm 0,00 <i>A,c</i>
EMB	- <i>A,c</i>	- <i>A,c</i>	12 \pm 1,00 <i>B,bc</i>	12 \pm 0,50 <i>B,a</i>	17 \pm 1,00 <i>C,d</i>
EMF	- <i>A,c</i>	- <i>A,c</i>	15 \pm 0,50 <i>B,e</i>	17 \pm 1,00 <i>C,c</i>	11,5 \pm 0,50 <i>D,be</i>
IB	- <i>A,c</i>	- <i>A,c</i>	- <i>A,f</i>	11 \pm 0,50 <i>B,ba</i>	10 \pm 0,50 <i>B,bce</i>
IF	- <i>A,c</i>	- <i>A,c</i>	- <i>A,f</i>	10 \pm 1,00 <i>B,b</i>	08 \pm 0,00 <i>BC,c</i>
C	30 \pm 0,00 <i>A,d</i>	27 \pm 0,50 <i>B,d</i>	22 \pm 0,50 <i>C,dg</i>	25 \pm 0,50 <i>D,d</i>	28 \pm 0,00 <i>B,e</i>
CL	- <i>A,c</i>	- <i>A,c</i>	23 \pm 0,50 <i>B,ag</i>	23 \pm 0,50 <i>B,d</i>	21 \pm 0,00 <i>BC,a</i>

*Le diamètre du disque (6 mm) a été inclus dans le calcul de la zone d'inhibition ; (-) Aucune zone d'inhibition. **Trois répétitions ont été effectuées pour chaque extrait et pour chaque souche.

Les zones d'inhibition données par le JB sont supérieures à 20 mm sauf sur *P. aeruginosa* (12 \pm 0,50 mm). Les deux extraits méthanoliques EMB et EMF sont actifs sur les mêmes souches, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *E. coli* (10 < \emptyset < 18 mm).

Deux souches uniquement sont sensibles aux infusés avec des halos d'inhibition très faibles, il s'agit de *P. aeruginosa* et *E. coli* ($08 < \varnothing < 11$ mm). Ces deux souches sont ainsi sensibles à tous les extraits testés.

D'autre part, *Acinetobacter* sp. a résisté au CL et à tous les extraits, excepté le JB pur ($24,5 \pm 0,50$ mm), le JB à 50% ($11 \pm 0,00$ mm) et le C ($27 \pm 0,50$ mm). *P. mirabilis* a résisté à CL mais montre une sensibilité au JB ($21 \pm 1,00$ mm), au JF ($20,5 \pm 0,00$ mm) et au C ($30 \pm 0,00$ mm). La dilution a diminué considérablement l'effet antibactérien des jus de la plante.

Les résultats de cette expérience concordent avec ceux de BAKRI et DOUGLAS (2005) qui montrent la plus grande activité inhibitrice des espèces *Allium* sur les bactéries Gram négatif par rapport aux bactéries Gram positif [144].

Selon FUJISAWA *et al.* (2009) et DOUIRI *et al.* (2013), la sensibilité de la plupart des bactéries Gram positif aux extraits des espèces *Allium* est due à leur composition en diallyl disulfide, diallyl trisulfide et diméthyl trisulfide qui peuvent traverser la paroi de ces germes [145] [146].

Au contraire, selon PERRY *et al.* (2009) et KYUNG (2012), les sulfoxydes et les thiosulfates sont les molécules clés de l'effet antibactérien chez la plupart des espèces du genre *Allium*, et inhibent mieux le développement des bactéries Gram négatif par rapport aux bactéries Gram positif. La paroi cellulaire, la membrane lipidique et la membrane de polysaccharides de ces micro-organismes peuvent avoir un effet sur la perméabilité des composés inhibiteurs [147] [148].

L'éminçage d'un tissu *Allium* active une enzyme appelée l'alliinase qui transforme l'alliine, un sulfoxyde précurseur, en une molécule plus active, l'allicine. CAVALLITO et BAILEY étaient les premiers qui ont démontré que l'action antibactérienne de l'ail est surtout due à l'allicine [149]. Ce composé retarde et inhibe partiellement l'ADN et les protéines de synthèse, tandis qu'il inhibe totalement et immédiatement la synthèse de l'ARN [150].

3.5.2.2. Résultats de l'activité antifongique

Les résultats de l'activité antifongique (moyenne \pm écart type) des jus et des extraits aqueux et méthanoliques des bulbes et feuilles de l'ail triquètre sont résumés dans le tableau 3.17.

Tableau 3.17 : Effet antifongique des extraits d'*A. triquetrum* sur les levures (Les moyennes avec différentes lettres sont significativement différentes ($p < 0,05$) selon l'analyse de l'ANOVA univariée suivie par le post-test de comparaison multiple de Tukey).

Levure Extrait/Témoin	Diamètre de zone d'inhibition* (moyenne** \pm écart type mm)	
	<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>
JB pur	26 \pm 0,50 <i>A,a</i>	30 \pm 1,00 <i>B,a</i>
JB (50 %)	12 \pm 0,50 <i>A,b</i>	15 \pm 0,00 <i>B,b</i>
JF pur	08,5 \pm 0,50 <i>A,c</i>	20 \pm 0,50 <i>B,c</i>
JF (50 %)	- <i>A,d</i>	10,50 \pm 0,50 <i>B,b</i>
EMB	- <i>A,d</i>	- <i>A,d</i>
EMF	- <i>A,d</i>	- <i>A,d</i>
IB	- <i>A,d</i>	- <i>A,d</i>
IF	- <i>A,d</i>	- <i>A,d</i>
AmB	17 \pm 0.50 <i>A,b</i>	20 \pm 1.00 <i>B,c</i>

*Le diamètre du disque (6 mm) a été inclus dans le calcul de la zone d'inhibition ; (-) Aucune zone d'inhibition. **Trois répétitions ont été effectuées pour chaque extrait et pour chaque souche.

Le test de sensibilité des deux levures, *C. albicans* et *S. cerevisiae*, aux extraits de *A. triquetrum*, a montré que seuls les jus de la plante ont présenté un pouvoir antifongique. Les deux levures testées sont résistantes aux extraits méthanoliques et aux infusés.

Le jus de bulbes JB pur est le plus actif sur *C. albicans* ($26 \pm 0,50$ mm) et *S. cerevisiae* ($30 \pm 1,00$ mm). Ainsi, son pouvoir antifongique est supérieur à celui de l'effet antifongique du témoin AmB (*C. albicans*: $17 \pm 0,50$ mm, *S. cerevisiae* : $20 \pm 1,00$ mm). C'est le meilleur résultat pour le test antimicrobien de la plante.

Au contraire, le jus de feuilles JF inhibe beaucoup plus la croissance de *S. cerevisiae* ($20 \pm 0,50$ mm), il ne présente qu'une très faible activité antifongique sur *C. albicans* ($\emptyset < 10$ mm). Le JB dilué à 50 % présente également un pouvoir antifongique considérable (*C. albicans*: $12 \pm 0,50$ mm, *S. cerevisiae* $15 \pm 1,00$ mm) par rapport au JF dilué à 50 % (*C. albicans*: $0,00 \pm 0,00$ mm, *S. cerevisiae* : $10,50 \pm 1,00$ mm).

L'activité antifongique chez les *Allium* est en général due à la présence d'alicine surtout sur *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichophyton*, *Epidermo-phyton* et *Microsporium* [150]. Certaines études ont confirmé l'effet antifongique des thiosulfates, qui inhibent beaucoup plus le développement de *C. albicans* et *S. cerevisiae* à des concentrations de 20 à 30 mg/ml [151], tandis que d'autres expérimentations ont prouvé que les extraits aqueux inhibent ces levures et d'autres champignons à la concentration de 2 mg/ml [152]. Le mécanisme d'action de ces molécules n'est pas élucidé. NAGAWA *et al.* suggèrent que les composés soufrés inhibent la synthèse de l'ADN, l'ARN, les protéines et les polysaccharides aussi bien chez les bactéries que sur les champignons et les levures [151].

BERNHARD (1970) a montré qu'*A. triquetrum* contient une large proportion de diméthyl disulfides et des proportions modérées de méthyl-n-propyl et méthyl allyl disulfides [114]. En parallèle, l'ail triquètre contient les sulfoxydes avec les proportions suivantes : 43 - 56 % de méthiine, 21 - 31 % d'alliine, 19 - 26 % d'isoalliine et 0 - 4 % de propiine [44].

L'effet antimicrobien des infusés et des extraits méthanoliques est moins intéressant que celui des jus frais et pur de la plante. Cela est probablement dû à

l'absence des différents composés soufrés ou à l'inactivation de l'allinase. Selon l'étude de MIRON *et al.* (2000) et celle de SIRIPONPUTIKON *et al.* (2005) l'ail frais possède la propriété antimicrobienne la plus élevée à cause de la présence de l'allicine [153] [154].

L'analyse des extraits éthériques et méthanoliques par la GC-MS a mis en évidence la présence de certaines substances organo-soufrés dans la fraction lipidique des bulbes (Le trans propényl méthyl disulfide 1,3-dithiane. le méthyl-trans-propényl-disulfide, le méthyl allylthioacétate diallyl disulphide, diallyl tétrasulphide, le trisulfide, méthyl 2-propényl et le trans-propényl propyl disulfide) et leur absence dans les extraits méthanoliques et l'extrait éthérique des feuilles. Les jus frais de la plante contiennent un mélange de composés hydro- et liposolubles ainsi, ils contiennent certainement ces molécules soufrés. Leur concentration peut être appréciable lorsqu'on élimine l'effet du séchage. Ainsi, les jus frais de la plante contiennent certainement les substances sulfoxydes et les thiosulfates en particulier l'allicine car se sont des précurseurs des diallyl disulfide, trisulfide, tétrasulfide et autres dérivés soufrés présents dans l'extrait éthérique de bulbes.

En général, les molécules organo-soufrés sont des substances très sensibles en particulier l'allicine. Le séchage, la chaleur et l'extraction sont des facteurs qui diminuent leur concentration dans l'échantillon et affectent leur stabilité ce qui conduit à leur conversion en certaines formes moins actives [155].

3.5.3. Activité antioxydante

3.5.3.1. Piégeage du radical libre DPPH

Les résultats du pouvoir antiradicalaire des différents extraits de l'ail triquètre sont illustrés dans la figure 3.8.

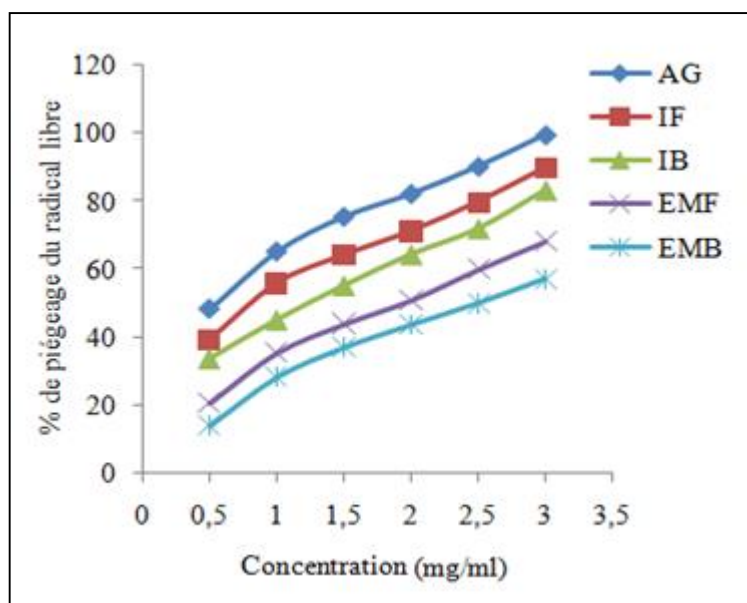


Figure 3.8 : Piégeage du radical libre DPPH (%) des extraits aqueux et méthanoliques d'*A. triquetrum*.

Les régressions linéaires des courbes de l'activité antiradicalaire des extraits testés ont été utilisées pour calculer l'EC50.

Le tableau 3.18 représente les valeurs de l'EC50 des différents extraits de la plante et du control.

Tableau 3.18 : Les valeurs de l'EC50 des différents extraits d'*A. triquetrum*

Extrait/Control	Valeur de l'EC50 (mg/ml)
AG (control)	0,62
IF	0,97
IF	1,36
EMF	1,98
EMB	2,45

Le pouvoir antioxydant est inversement proportionnel à l'EC50, plus cette dernière est petite plus le pouvoir antioxydant est fort [156].

Les résultats de cette étude ont montré qu'*A. triquetrum* est doté d'une bonne activité antioxydante en comparaison avec le contrôle positif AG qui a montré un taux inhibiteur de l'activité radicalaire égal à 99,56% à la concentration de 3 mg/ml avec un EC50 de 0,62 mg/ml. L'infusé de feuilles IF possède l'activité antiradicalaire la plus élevée (90%) ensuite l'infusé de bulbes l'IB (83,3%) dont les valeurs de l'EC50 sont respectivement 0,97 mg/ml et 1,36 mg/ml.

Les extraits méthanoliques ont présenté également un pouvoir antioxydant considérable. La valeur de l'EC50 de l'extrait méthanolique de bulbes EMB est égale à 2,45 mg/ml avec 57,3% du taux du piégeage du radical DPPH, tandis que l'extrait méthanolique de feuilles EMF a réduit 68,3% de l'activité du radical libre à la concentration de 3 mg/ml dont la valeur de l'EC50 est de 1,98 mg/ml.

CHANG *et al.* (2013) ont montré que le pourcentage de piégeage des radicaux libres DPPH se situe entre 67,34% à 90,03% pour *A. fistulosum*, alors qu'il est de l'ordre de 63,63% à 88,33% pour *A. sativum*. Ainsi, les extraits des feuilles de ces espèces présentent une activité antiradicalaire plus élevée que celle de leurs tiges, bulbes et racines [157]. D'autre part, TUGBOBO *et al.* (2015) ont trouvé que la capacité inhibitrice de l'activité du DPPH de l'extrait aqueux (41,08%) d'*A. sativum* est plus élevée que celle de l'extrait éthanolique (39,46%) [158].

3.5.3.2. Pouvoir réducteur du fer FRAP

La figure 3.9 montre les résultats du pouvoir réducteur du fer des différents extraits de l'ail triquètre.

D'après es résultats obtenus, le test FRAP a montré un faible pouvoir réducteur des différents extraits d'*A. triquetrum* par rapport au témoin utilisé l'AG (DO à 3 mg/ml égale à 2,50).

Cependant, La capacité réductrice la plus élevée des extraits est représentée par l'infusé de feuilles l'IF avec une DO égal à 1,22 suivi de l'infusé de bulbes IB (DO égal à 1,02), tandis que le pouvoir réducteur du fer des extraits

méthanoliques est beaucoup moins intéressant (EMF : DO = 0,72 ; EMB : DO = 0,40).

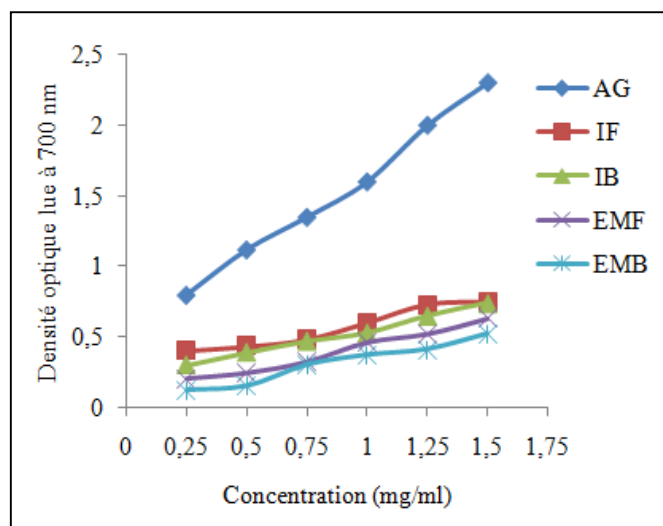


Figure 3.9 : Le pouvoir réducteur du fer des extraits d'*A. triquetrum*

L'expérience de TUGBOBO *et al.* (2015) a montré que l'extrait aqueux d'*A. sativum* possède un potentiel réducteur plus élevé que l'extrait éthanolique [158]. D'autre part, NENCINI *et al.* (2007) ont montré que les feuilles de certaines espèces spontanées présentent un pouvoir réducteur intéressant alors que la capacité antioxydante des bulbes est beaucoup plus faible [159].

L'activité antioxydante des plantes *Allium* a été attribuée à une variété de composés contenant du soufre et à leurs précurseurs. Des résultats scientifiques montrent que l'allicine, le disulfure de diallyle et le trisulfure de diallyle semblent être dotés d'une capacité antioxydante. Néanmoins, cet effet est lié en grande partie à d'autres métabolites secondaires, principalement les composés phénoliques [157] [160]. Ces molécules sont capables de capter ou de neutraliser les radicaux libres. Les flavonoïdes et leurs dérivés constituent le plus grand groupe de polyphénols présents dans les plantes. Ils possèdent de fortes activités antioxydantes grâce au mécanisme de piégeage des espèces oxygénées réactives et par l'inhibition du stress oxydatif [161].

Les différents extraits de la plante possèdent une capacité antioxydante dose dépendante. La différence de l'activité est fortement liée à la différence des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux. Plus la teneur en composés phénoliques augmente dans l'échantillon plus le pouvoir antioxydant est plus fort [162].

L'étude phytochimique qualitative et quantitative des différents extraits de l'ail triquètre a permis la mise en évidence de plusieurs composés phénoliques. En effet, les bulbes et les feuilles contiennent des acides phénoliques en particulier l'acide gallique, des flavonoïdes, des coumarines et d'autres composés principalement le phénol, 2,4-bis (1,1-diméthylethyl). Ainsi, les plus fortes proportions en composés phénoliques ont été observés dans les feuilles et plus précisément dans l'extrait aqueux ce qui concorde avec les résultats de l'activité antioxydante.

3.5.4. Activité anti-inflammatoire

La figure 3.10 montre les taux moyens de l'inhibition de l'œdème dans pattes des souris par les extraits de l'ail triquètre. La différence entre les moyennes est significative à $p < 0,05$.

L'histogramme montre que l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux, à différentes concentrations, d'*A. triquetrum* est considérablement inférieure à celle de la molécule de référence utilisée en thérapeutique le Diclofénac ($p < 0,05$) dont le pourcentage d'inhibition estimé est de $81,28 \pm 2,45$ % à la dose de 12,5 mg/kg.

Néanmoins, les extraits testés ont présenté un pouvoir préventif de l'inflammation non négligeable. L'infusé de feuilles IF à la concentration de 50 mg/ml présente la meilleure activité anti-inflammatoire avec un taux de diminution de l'œdème de $59,45 \pm 3,45$ %, tandis que l'infusé de bulbes IB a présenté un pourcentage d'inhibition de $39,45 \pm 2,39$ %, à la même concentration.

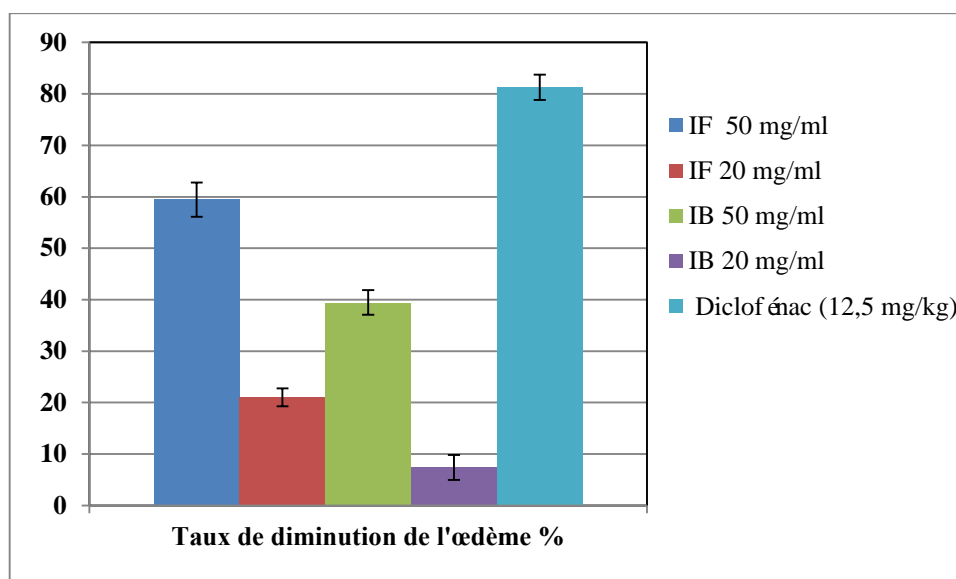


Figure 3.10 : Taux d'inhibition de l'œdème des pattes (%) chez les souris par les extraits d'*A. triquetrum* et le Diclofénac (Les moyennes avec différentes lettres sont significativement différentes ($p < 0,05$) selon l'analyse ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Tukey)

Le pouvoir anti-inflammatoire des extraits aqueux des feuilles et des bulbes à la concentration de 20 mg/ml est moins intéressant. En effet les pourcentages d'inhibition sont égales respectivement à $20,99 \pm 1,74$ % et $7,39 \pm 2,44$ %. L'activité anti-inflammatoire dépend du degré d'efficacité des molécules clés, ainsi que de leur concentration dans l'échantillon testé.

Plusieurs études ont montré le pouvoir anti-inflammatoire des espèces du genre *Allium*. Le travail de PAN *et al.* (2015) a révélé que l'extrait aqueux de feuilles d'*A. sativum* présente une activité anti-inflammatoire appréciable avec un taux d'inhibition de l'œdème de 68,1 % à la dose de 100 mg/kg et de 74,09 % à la concentration de 200 mg/kg [163]. Ainsi, l'étude de RANJAN *et al.* (2010) portant sur la comparaison des effets anti-inflammatoires des différents extraits (aqueux, méthanolique et éther de pétrole) de feuilles de *A. Stracheyi* a montré une éventuelle capacité inhibitrice de l'œdème de tous les extraits testés. La meilleure activité donnée est celle de l'extrait méthanolique avec 61% de taux d'inhibition à la dose de 100 mg/kg. L'extrait aqueux de cette espèce n'a montré que 20 % comme taux d'inhibition [164].

L'inflammation est un moyen de défense naturelle des organismes supérieurs contre toute agression extérieure (infection, blessure, etc.). Elle a pour rôle essentiel l'élimination de l'agent pathogène et la réparation du tissu lésé et elle se manifeste par quatre signes cardinaux (la rougeur, l'œdème, la chaleur, la douleur) résultant d'une augmentation du flux sanguin, d'une augmentation de la perméabilité capillaire permettant aux compléments, aux anticorps et aux cytokines de franchir la barrière endothéliale et de la migration des leucocytes vers le tissu lésé pour une réparation de la lésion. La réponse inflammatoire implique de nombreux enzymes parmi lesquels les lipoxgénases (LPO) et les cyclooxgénases (COX 1 et COX 2) qui synthétisent des médiateurs pro-inflammatoires tels que les leucotriènes et les prostaglandines à partir de l'acide arachidonique [165].

L'induction de l'œdème par la carragénine dans la patte de la souris est un modèle animal bien établi pour évaluer l'effet anti-inflammatoire de produits naturels ainsi que des composés chimiques de synthèse. Cette technique a été sélectionnée en raison de la simplicité de son exécution, de sa rapidité d'induction des symptômes caractéristiques de l'inflammation et également en raison de sa reproductibilité. L'injection de la carragénine à la patte provoque une réponse inflammatoire bi-phasique dont la phase initiale se manifeste par la libération de la sérotonine, de l'histamine et de la bradykinine. La seconde phase qui intervient après est le résultat de la surproduction des prostaglandines et de substances à réaction lente dans les tissus, médiée par la COX [165] [166]. On suggère que les extraits aqueux ont un effet qui s'oppose à l'action des médiateurs endogènes pro-inflammatoires de la même manière que celle du Diclofenac.

Selon la bibliographie, l'activité anti-inflammatoire des espèces *Allium* est attribuable aux composés organo-soufrés et aux polyphénols, en particulier les flavonoïdes [164]. Ces molécules exercent une action inhibitrice sur l'inflammation qui passerait par l'inhibition de la formation des principaux médiateurs pro-inflammatoires du métabolisme de l'acide arachidonique via l'inhibition des COX et LPO [166]. Cependant, ce pouvoir peut également être lié à plusieurs autres métabolites secondaires appartenant à d'autres classes chimiques telles que les

saponosides, les tritèrènes et stéroïdes [167]. Ainsi, il a été rapporté que cette activité est liée à l'effet synergique des métabolites secondaires [76].

Notre étude a mis en évidence une grande diversité dans la composition chimique des extraits d'*A. triquetrum*, notamment la présence de saponosides, des terpènes et des polyphénols et de flavonoïdes en particulier l'AG et le Phenol, 2,4-bis (1,1-diméthylethyl). Ainsi l'étude phytochimique de ces extraits a montré que la plus grande teneur en composés phénoliques présentes dans les feuilles et explique sa plus grande activité anti-inflammatoire par rapport aux bulbes.

D'autre part, l'effet anti-œdémateux est probablement lié aux effets antioxydants des extraits, car les espèces réactives oxygénées (ERO) interviennent dans la physiopathologie des maladies à composante inflammatoire (cancer, diabète, athérosclérose, arthrites, maladies infectieuses). Elles induisent la libération des cytokines (TNF α , IL 1 β , IL 6) et l'activation des enzymes pro-inflammatoires (COX, LPO, monoxyde d'azote synthase inductible) intervenant dans le processus inflammatoire [165]. En effet, les extraits aqueux de l'ail triquètre présentent une activité antioxydante appréciable. Ainsi, l'effet antiradicalaire de l'extrait aqueux des feuilles (IF) est supérieur à celui de l'extrait aqueux de bulbes (IB) ce qui concorde avec les résultats de l'activité anti-inflammatoire.

3.5.5. Activité analgésique

Nous avons étudié l'activité analgésique des extraits aqueux d'*A. triquetrum* selon le test des crampes abdominales. L'injection d'une dose de 0,2 ml d'acide acétique à 1% par voie intra-péritonéale provoque un nombre moyen de $89,33 \pm 0,82$ crampes comptabilisées durant 20 minutes chez le lot témoin. L'administration par voie orale des extraits aqueux de *A. triquetrum* a induit une activité analgésique dose-dépendante. Les taux d'inhibition des spasmes par les extraits sont indiqués dans le tableau 3.19 et la figure 3.11. Les moyennes sont significativement différentes à $p < 0,05$.

Tableau 3.19 : Effet antalgique des extraits de feuilles et bulbes de *A. triquetrum*

Extraits	Nombre de crampes	Taux de reduction (%)
Témoin (NaCl 0,9%)	89,33 ± 0,82	/
Indométacine (80 mg/Kg)	25,5 ± 1,05***	71,45 ± 1,17
IF (50 mg/ml)	22 ± 0,73***	72,94 ± 1,01
IF (20 mg/ml)	61,83 ± 3,12**	30,78 ± 3,45
IB (50 mg/ml)	42,5 ± 1,05***	52,42 ± 1,17
IB (20 mg/ml)	72 ± 2,09*	19,4 ± 2,35

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± écart type; n = 6 / groupe; les résultats sont statistiquement significatifs à : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin en utilisant une analyse ANOVA one way suivie par le test de Dunnett; IF : Extrait aqueux de feuilles; IB : Extrait aqueux de bulbes.

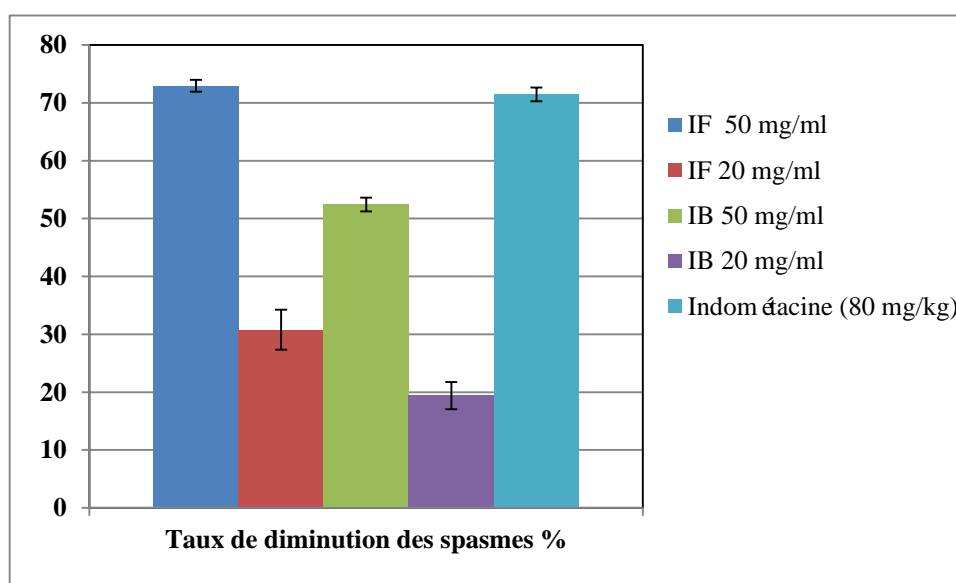


Figure 3.11 : Taux d'inhibition des spasmes (%) par les extraits d'*A. triquetrum* (Les moyennes avec différentes lettres sont significativement différentes à $p < 0,05$ selon l'analyse ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Tukey)

Le prétraitement des souris par l'IF et l'IB à la concentration de 50 mg/ml et par l'indométacine à la dose de 80 mg/kg a réduit le nombre de crampes de manière significative ($p < 0,001$). Ainsi, le pouvoir antalgique de l'IF est proche de celui de la molécule utilisée en thérapeutique, l'indométacine, qui a montré un taux d'inhibition des spasmes égale à $71,45 \pm 1,17$ %. L'analyse de l'ANOVA suivie du test de comparaison multiple de Tukey n'a montré aucune différence significative à $p < 0,05$ entre les taux d'inhibition moyens des deux groupes.

Cependant, l'activité antispasmodique de l'IF est supérieure à celle de l'IB. Le pourcentage d'inhibition des crampes abdominales par l'IF est de $72,94 \pm 1,10$ %. D'autre part, l'IB a présenté une activité antispasmodique non négligeable, il a montré un pourcentage d'inhibition égale à $52,42 \pm 1,17$ %, à la dose de 50 mg/ml.

L'administration des infusés aqueux de la plante à la concentration de 20 mg/ml diminuent considérablement leur pouvoir antispasmodique. L'IF a montré un taux de réduction égal à $30,78 \pm 3,45$ %, tandis que l'IB a réduit le nombre des crampes jusqu'à $19,4 \pm 2,35$ %. L'activité analgésique dépend de la concentration en molécules clés présentes dans l'échantillon.

Plusieurs études ont évalué et prouvé le pouvoir analgésique des différents extraits des espèces du genre *Allium*. En effet, la poudre de bulbes d'*A. sativum* aux doses de 75, 150 et 300 mg/kg produit des taux de diminution des crampes abdominales respectivement de 33,65 %, 57,44 % et 72,10 % [168]. Une autre étude a montré que les extraits méthanoliques de *A. cepa* et *A. sativum* présentent un effet antalgique appréciable avec des taux de réduction des spasmes égales respectivement à 46,2 % et 42,3% [169]. L'étude de RANJAN *et al.* (2010) a montré une éventuelle capacité antispasmodique de tous les extraits testés (méthanolique, éther de pétrole et aqueux) de feuilles de *A. Stracheyi*. Le meilleur résultat donné est celui de l'extrait méthanolique avec 64.62 % de taux d'inhibition à la dose de 100 mg/kg, tandis que l'extrait aqueux de cette espèce n'a montré que 38.47 % comme taux d'inhibition des spasmes [164].

L'induction des spasmes par l'acide acétique chez la souris est une méthode fiable et permet une évaluation rapide de l'action analgésique périphérique des produits testés. L'injection intrapéritonéale à un lot de souris d'un produit algogène, à savoir l'acide acétique, provoque une lésion tissulaire et un déclenchement d'une réponse inflammatoire localisée entraînant la libération d'acide arachidonique libre à partir de phospholipides tissulaires via la cyclooxygénase (COX) et la biosynthèse d'un certain nombre de médiateurs chimiques tels que la bradykinine, l'histamine, la sérotonine, l'acétylcholine et les prostaglandines. Ces dernières sensibilisent les nocicepteurs aux stimuli douloureux, il en résulte une douleur plus tardive et diffuse. Cette douleur se

manifeste chez les souris par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale [76,170]. Le mécanisme de l'activité analgésique des extraits aqueux de l'ail triquètre pourrait probablement être dû au blocage des médiateurs de la douleur et cela d'une manière similaire à celle de l'indométacine. Ainsi, la réduction du nombre des crampes suggère que les extraits pourraient exercer une activité anti-nociceptive par inhibition de la COX dans les tissus périphériques.

Le pouvoir antalgique des espèces *Allium* est lié en grande partie à l'effet des composés organo-soufrés et phénoliques en particulier les flavonoïdes [164]. Les résultats de l'étude phytochimique obtenus dans notre expérimentation a montré la présence de taux appréciable de polyphénols et de flavonoïdes dans les feuilles et bulbes de *A. triquetrum*, et les meilleures concentrations en composés phénoliques sont trouvées dans les feuilles ce qui explique les résultats obtenus. Ainsi, la composition chimique des bulbes et feuilles de l'ail triquètre est très hétérogènes. En effet, ils contiennent aussi des saponines et des terpènes qui peuvent également excercer un effet anti-spasmodique. De plus, il a été suggéré que le pouvoir antalgique résulte de l'effet synergique entre les métabolites secondaires [76].

CONCLUSION

La présente étude avait pour objectif principale l'étude qualitative et quantitative de quelques métabolites secondaires actifs de la plante *Allium triquetrum* L., espèce spontannée de la flore algérienne dont de rares études ont été réalisées, et l'évaluation de quelques activités pharmacologiques de ses extraits.

L'étude histologique des feuilles et tiges de la plante n'a montré aucun tissu spécifique quand à une éventuelle présence de sites sécréteurs. La structure des tissus est très simple, elle est constituée d'un épiderme parsemé de stomates, d'un mésophylle homogène constitué, d'un parenchyme chlorophyllien et des tissus conducteurs primaires. Le collenchyme, tissu de soutien est présent uniquement au niveau des tiges, plus précisément aux angles.

L'étude de la teneur en eau et en cendres a montré les plus fortes proportions dans les feuilles par rapport aux bulbes. Ainsi, les deux organes sont riches en minéraux notamment en potassium et sodium avec un Na^+/K^+ ratio < 1 , calcium, magnésium, phosphore, soufre et chlore avec absence des nitrates. L'analyse des minéraux a montré également que la plante contient des oligo-éléments tels que le fer, le zinc, le cuivre et le manganèse.

Le screening phytochimique des bulbes et feuilles de la plante a mis en évidence une diversité chimique par la présence de composés phénoliques, saponosides, hétérosides cardiotoniques, tanins, irridoïdes et terpènes avec absence d'alcaloïdes, anthocyanine, tanins et quinones.

L'analyse des fractions lipidiques par la GC-MS a montré majoritairement la présence d'acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés dont les plus importants sont l'acide palmitique et l'acide linoléique, des esters méthylés d'acides gras et des alcanes. Les composés soufrés qui sont principalement le Methyl-trans-propenyl-disulfide et le Trans propenyl methyl disulfide 1,3-dithiane ont été identifiés uniquement dans l'extrait éthérique des bulbes. Nous avons

défecté également la présence d'autres substances tel que le Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl), Néophytadiène, 14-B-H-pregna, Phytol et Squalène. L'analyse des extraits méthanoliques par cette technique n'a présenté principalement que des alcanes et quelques acides gras libres et d'autres sous formes méthylées ou esters méthylées. Le Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl) est présent également dans l'EMB.

L'étude qualitatitave et semi-quantitative de quelques composés phénoliques par l'HPLC a permis de mettre en évidence la présence de l'acide gallique, l'acide férulique, l'acide hydroxy-cinnamique, l'acide chlorogénique, la naringénine, la catéchine, la rutine et la coumarine avec des concentrations qui diffèrent d'un extrait à un autre. Cependant, les plus fortes proportions ont été observées dans l'extrait aqueux des feuilles IF. Il est à noter que le dosage des polyphénoles et de falvonoides totaux a également montré les concentrations les plus élevées dans l'IF.

Le test préliminaire de toxicité aigue a montré que la plante n'est pas toxique et ne présente aucun danger.

En ce qui concerne les activités biologiques, on constate que la plante fraiche en particulier les bulbes sont plus actifs sur les micro-organismes bactériens et fongiques et plus précisément ils inhibent mieux le développement des bactéries Gram négatif et les levures. À l'inverse, les meilleures activités anti-oxydantes, ant-inflammatoires et antalgiques sont notées chez l'extrait aqueux des feuilles. Ces résultats sont dûs aux molécules clés des activités biologiques étudiées et de leurs concentrations dans les échantillons testés. Ainsi, plusieurs facteurs influencent sur l'extraction de ces substances en particulier le séchage, la méthode et le solvant de l'extraction. On considère que les composés soufrés sont responsables de l'activité antimicrobienne, tandis que les composés phénoliques sont les molécules responsables des effets antiradicalaires, ant-inflammatoires et anti-spasmodiques, au moins pour notre étude. D'autre part, on considère que l'ativité antioxydante des extraits de la plante (5 mg/ml) est plus intéressante que leurs pouvoirs anti-inflammatoires et analgésiques (50 mg/ml).

À la lumière des résultats obtenus, l'étude phytochimique et biologique de l'ail triquètre a permis de déterminer une partie de la composition chimique de cette plante à savoir les macro- et les micro-éléments, les composés soufrés et les composés phénoliques et de montrer aussi les effets thérapeutiques éventuels. L'accent a été mis aussi sur les pouvoirs antimicrobiens et anti-oxydants par comparaison aux molécules utilisées en pharmacologie.

Nous pouvons conclure qu'*Allium triquetrum* L. est une plante à grand intérêt alimentaire et ayant divers effets biologiques, puisque sa composition chimique est très hétérogène et elle ne présente aucune toxicité même à des concentrations élevées.

Néanmoins, des études plus approfondies sont nécessaires pour mieux exploiter la plante étudiée *Allium triquetrum*. En effet, et comme perspectives on propose de :

- Faire une analyse du sol pour déterminer la concentration du plomb présente dans le milieu de récolte afin de savoir s'il s'agit d'une contamination ou bien la plante est assimilatrice du plomb.
- Etudier la toxicité chronique et sub-chronique de la plante.
- Faire un isolement et purification des composés bioactifs de la plante, afin de tester indépendamment leurs effets biologiques.
- Vue la grande sensibilité des composés soufrés à de nombreux facteurs en particulier le séchage et les conditions de l'extraction, il est préférable d'utiliser la plante fraîche que ce soit pour l'étude phytochimique ou biologique
- l'évolution des techniques d'analyses chimiques au cours des dernières années, rend très nécessaire l'utilisation des techniques plus performantes telle que la LC-MS et la RMN qui peuvent donner des résultats plus pertinents.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Dif, M., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., Becheikhi F.A., "Enquête sur l'utilisation phytothérapique de 11 plantes médicinales poussant dans le Tessala », *Phytothérapie*, (2015), 1-3.
2. Zeggwagh, A.A., Lahlou, Y., Bousliman, Y., "Enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fes, Maroc", *Pan african medical journal*, vol. 14, (2013), 125p.
3. Gbekley, E.H., Agbodeka, K., Karou, S.D., Anani, K., Adjrah, Y., Toudji, G., Ameyapoh, B., Simpore. J., Gbeassor. M., "Composés bioactifs isolés des plantes à propriété anti-diabétique: Revue de littérature". *International journal of innovation and applied studies*, vol. 19, n°4, (2017), 839-849.
4. Zekkour, M., "Les risques de la phytothérapie, Monographies des plantes toxiques les plus usuelles au Maroc", Thèse de Doctorat en pharmacie, Faculté de médecine et de pharmacie, RABAT, (2008), 4p.
5. Gurib-Fakim, A., "Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow", *Molecular aspects of medicine*, vol. 27, n° 1, (2006), 1-93.
6. Corea, G., Fattorusso E., Lanzotti V., "Saponins and flavonoids of *Allium triquetrum*", *Journal of natural products*, vol. 66, (2003), 1405-1411.
7. Dupont, F., Guignard, J-L., "Botanique : les familles de plantes", 15ème éd. Issy-les-Moulineaux, Elsevier Masson, (2012), 300p.
8. Angiosperm Phylogeny Group, "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III", *Botanical journal of the linnean society*, vol. 161, (2009), 105-121.
9. Leurquin, J., "Etude des Liliales de Belgique et des régions voisines. Clés de détermination par les caractères floraux et végétatifs, Données morphologiques."

stationnelles et socio-écologiques, Planches de dessins au trait par espèce”,
Omithogalum umbellatum, (2013), 10-16.

10. Cordier, J., “Clé de détermination des Liliacées et des familles apparentées du Centre-Val de Loire. Compilation et adaptation”, MNHN/CBNBP, Version 1, (2018), 22p.
11. Lanzotti, V., “The analysis of onion and garlic”, *Journal of chromatography A*, vol. 1112, (2006), 3-22.
12. Najjaa, H., Zouari, S., Arnault, I., Auger, J., Ammar, E., Neffati M., “Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L.”, *Acta botanica gallica*, vol. 158, n° 1, (2011), 111-123.
13. Rose, P., Whiteman, M., Moore, P.K., Zhun Zhu, Y., “Bioactive S-alk(en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium*: the chemistry of potential therapeutic agents”, *natural product reports*, vol. 22, n°3, (2005), 351-368.
14. Gîtin, L., Dinică, R., Par Navel, R., “The influence of extraction method on the apparent content of bioactive compounds in Romanian *Allium* spp. Leaves”, *Notulae botanicae horti agrobotanici*, vol. 40, n° 1, (2012), 93-97.
15. Putnik, P., Gabrića, D., Roohinejad, S., Barba, F.J., Granato, D., Mallikarjunan, K., Lorenzo, J.M., Kovačević, D.B., “An overview of organosulfur compounds from *Allium* spp.: From processing and preservation to evaluation of their bioavailability, antimicrobial, and anti-inflammatory properties”, *Food chemistry*, vol. 276, (2019), 680-691.
16. Parsons, W.T., Cuthbertson, E.G., “Noxious Weeds of Australia”, Second Edition, CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, (2001), 85-86.
17. Quezel, P., Santa S., “Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales”, Tome I, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, (1962), 209 - 588.
18. Abdelguerfi, A., Ramdane S.A., “Plantes médicinales, condimentaires, aromatiques et ornementales rencontrées en Algérie: Annexe 3”, *In* “Annexes

sur la biodiversité importante pour l'Agriculture en Algérie", Tome XII, Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement, Algérie, (2003), 23p.

19. Julve, P., "*Allium triquetrum* L.", fiche e-flore, la flore électronique de Tela Botanica, (2012), 1-6.
20. Bock, B., "*Allium triquetrum* L. ", Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France, Tela Botanica, BDNFF v 4. 02, (2013).
21. Cronquist, A., "An integrated system of classification of flowering plants". Columbia University Press, New York, (1981).
22. Tehranchian, P., "Biological control of an Australian noxious weed «Angled Onion» (*Allium triquetrum* L.) using Molecular and Traditional Approaches", Thèse de Doctorat, Biotechnology & Biosciences Discipline, School of Applied Sciences, RMIT University, Australia, (2011), 4-17.
23. Bendle, P., "*Allium triquetrum* (Onion weed)", Taranaki Educational Resource: Research, Analysis and Information Network, (2015), <http://www.terrain.net.nz/friends-of-te-henui-group/weeds/onion-weed.html>
24. Anonyme, "*Allium triquetrum*", http://canope.ac-besancon.fr/flore/Liliaceae/especes/allium_triquetrum.htm ; Page web consulté le 02/08/2017.
25. Weber, E., "Invasive Plant Species of the World: A Reference Guide to Environmental Weeds", 2nd edition, CABI; Oxfordshire, United Kingdom, (2017), 30p
26. Rebbas, K., "Développement durable au sein des aires protégées algériennes, cas du Parc National de Gouraya et des sites d'intérêt biologique et écologique de la région de Béjaïa", Thèse de doctorat science en écologie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, (2014).
27. Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., Nouri, N.H., "Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous

(Parc National d'El Kala,- Nord-est algérien)", Bulletin de la société royale des sciences de Liège, vol. 88, (2019), 22-43.

28. Hamel, T., Sadou, S., Seridi, R., Boukhdir, S., Boulemtafes, A., "Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien) ", Ethnopharmacologia, n°59, (2018), 75-81.
29. Meddour, R., Meddour-Sahar O., "Medicinal plants and their traditional uses in kabylia (Tizi ousou, Algeria)", Arabian journal of medicinal & aromatic plants, (2015), 137-151.
30. Hartmann, T., "From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism: review", Phytochemistry, vol. 68, (2007), 2831-2846.
31. Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., Curini M., "Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites", Phytochemistry, vol. 68, (2007), 939-958.
32. Tiwari, R., Rana, C.S., "Plant secondary metabolites: a review", International journal of engineering research and general science, vol. 3, issue 5, (2015), 661-670.
33. Tsao, R., "Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols: review", Nutrients, vol. 2, (2010), 1231-1246.
34. Bruneton, J., "Pharmacognosie (5^e Éd.) Phytochimie - Plantes médicinales", Editions Tec & Doc, Lavoisier, Paris, (2015), 1504pp.
35. Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R., "Flavonoids: an overview", journal of nutritional science, vol. 5, e47, (2016), 1-15.
36. Huang, Q., Liu, X., Zhao, G., Hu, T., Wang, Y., "Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production, review", Animal nutrition, vol. 4, (2018), 137-150.

37. Schofield, P., Mbugua, D.M., Pell, A.N., "Analysis of condensed tannins: A review", *Animal feed science and technology*, vol. 91, (2001), 21-40.
38. Matos, M.J., Santana, L., Uriarte, E., Abreu, O.A., Molina, E., Guardado Yordi, E., "Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health, Chapter 5, Coumarins — An Important Class of Phytochemicals.", *intechOpen*, (2015), 113-140.
39. Perveen, S., "Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids", *intechOpen*, (2018), 1-12.
40. Amagase, H., "Clarifying the Real Bioactive Constituents of Garlic" *American society for nutrition*, (2006), 716-725.
41. Lanzotti, V., "Bioactive Saponins from *Allium* and *Aster* plants", *Phytochemistry reviews*, vol.4, (2005), 95-110.
42. Fontanay, S., "Complexation de triterpènes pentacycliques par des cyclodextrines, caractérisation physicochimique et activités biologiques", Thèse de doctorat, Ecole doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement), Université de Lorraine, (2012), 17p.
43. Colin, L., "L'ail et son intérêt en phytothérapie", Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine, (2016), pages 47-58.
44. Fritsch, R.M., Keusgen, M., "Occurrence and taxonomic significance of cysteine sulphoxides in the genus *Allium* L. (*Alliaceae*)", *Phytochemistry*, vol. 67, (2006), 1127-1135.
45. Kodera, Y., Ushijima, M., Amano, H., Suzuki, J., Matsutomo, T. "Chemical and biological properties of s-1-propenyl-l-cysteine in aged garlic extract", *Molecules*, vol. 22, (2017), 570.
46. Zerrad, W., Mataoui, B.S., Hillali. S., El Antri S., Hmyene, A., "Etude comparative des mécanismes biochimiques de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur", *Lebanese science journal*, vol. 9, n°2, (2008), 27-36.

47. Martin-Prével, P., Gagnard, J., Gautier, P., "L'analyse végétale dans le contrôle de l'alimentation des plantes tempérées et tropicales", Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, (1984), 810pp.
48. Pinta, M., "Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux". Ji coloquio europeo y mediterraneo sobre el control de la alimentacion de plantas cultivadas, Sevilla, (1968), 20p.
49. Pinta, M., "Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux". Oléagineux, n°2, (1973), 87-92. 65.
50. N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G.N., Traoré, D., Aké-assi, L., "Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire)", Sciences & Nature, vol. 6, n°1, (2009), 1-15.
51. Alilou, H., Bencharki, B., Hassani, L.M.I., Barka, N., "Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscusgraveolenssubsp. odorus*", Afrique science, vol. 10, n°3, (2014), 316-328.
52. Sheel, R., Nisha, K., Kumar, J., "Preliminary phytochemical screening of methanolic extract of *Clerodendron infortunatum*", IOSR Journal of applied chemistry, vol. 7, issue 1, ver. II., (2014), 10-13.
53. Allangba, M.R.A., Kadja, A.B., Guessennd, N.K., Kouadio, N.J., Mamyrbékova-Békro, J.A., Békro, Y-A., "Etude phytochimique bio-guidée, activités antibactérienne et analgésique de décoctions éthanoliques d'une Mimosaceae de Côte d'Ivoire", International journal of innovation and applied studies, vol. 18, n° 2, (2016), 569-577.
54. Daira, N.H., Maazi, M.C., Chefrou, A., "Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. de l'Est Algérien", Bulletin de la société royale des sciences de Liège, vol. 85, (2016), 276-290.
55. Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E-H., Ibjibijen, J., Nassiri, L., "Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus* L. »": Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien", Journal of applied biosciences, vol. 86, (2015), 7966-7975.

56. Boizot, N., Charpentier, J-P., "Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier", Le cahier des techniques de l'Inra, Numéro spécial, (2006), 79-82.
57. Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., Bauer, F., "The antioxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork", Meat science, vol. 72, n°3, (2006), 446-456.
58. Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M.C., Bousselesla, H., Oueld-Mokhtar, S.M., "Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé", Phytothérapie, vol. 13, (2015), 118-129.
59. Dif, M.M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., Bouterfas, K., "Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. ", Phytothérapie, (2015), 1-6.
60. Hodgson, E., "A textbook of modern toxicology", third edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, (2004), 217p.
61. N'guessan, K., Fofie, Y.B.N., Coulibaly, K., Kone, D., "Evaluation de la toxicité aiguë de *Boerhavia diffusa* chez la souris", Agronomie africaine, vol. 24, n°1, (2012), 1-6.
62. Karber, C., Brehrens, B., "Wie sind Reihenversuche für biologische Auswertungen am Zweckmässigst en Anzuordnen?", Archiv für experimentelle pathologie und pharmakologie, vol. 177, (1935), 379-388.
63. Hazzit, M., Benchabane, A., Baaliouamer, A., Alloun, K., Kaci, M., "Composition chimique et activité antimicrobienne de l'extrait non volatil et des huiles essentielles de la rue des montagnes (*Ruta montana* L.)", Recherche agronomique, n° 27, (2015), 118-129.
64. Benslimani, A., "Techniques". in: "Réseau Algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques des bactéries. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire)", 6ème édition, édité avec la collaboration de l'OMS, (2011), 23-37.

65. Prabhune, A.M., Jadhav, S.N., Kadam, D.A., Nandikar, M.D., Aparadh, V.T., "Free radical scavenging (DPPH) and ferric reducing ability (FRAP) of some *Commelinaceae* members", International journal of biology, pharmacy and allied sciences, vol. 2, n°5, (2013), 1128-1134.
66. Liangli, L.Y., "Wheat Antioxidants", John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, (2008), 120p.
67. Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J., Hilali, A., "Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L.", Journal of materials and environmental science, vol. 6, n°4, (2015), 1111-1117.
68. Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P., "Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile", Food chemistry; vol. 89, n°1, (2005), 27-36.
69. Molyneux, P., "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity", Songklanakarinn journal of science and technology, vol. 26, n°2, (2004), 211-219.
70. Nesaretnam, K. and Packer, L., "Micronutrients and Health: Molecular Biological Mechanisms", The american oil chemists society, United States of America, (2001), 12p.
71. Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit K., "Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie", Phytothérapie, (2004), 1-8.
72. Karagözler, A., Erdag, C.S., Çalmaz Emek, Y., "Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*", Food Chemistry, vol. 111, (2008), 400-407.
73. Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.W., "Carragenin-induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs", Proceedings of the society for experimental biology and medicine, vol. 111, (1962), 544-547.

74. Ait El Cadi, M., Makram, S., Ansar, M., Khabbal, Y., Alaoui, K., Faouzi, M.A., Cherrah, Y., Taoufik, J., "Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de *Zygophyllum gaetulum*", Annales pharmaceutiques françaises, vol. 70, n°2, (2012), 113-116.
75. Koster, R., Anderson, M., Beer, E.J., "Acetic acid for analgesic screening", Federation proceeding, vol. 18, (1959), 412-417.
76. Chatter Riahi, R., Tarhouni, S., Kharrat, R., "Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée". Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, vol. 88, n° 1-4, (2011), 19-28.
77. Lillian, S.K., Charles, E.G., "Analysis of variance: Is there a difference in means and what does it mean?", Journal of surgical research, vol. 144, n°1, (2008), 158-170.
78. Hopkins, W. G., "Physiologie végétale", Editions De Boeck Université, Bruxelles, (2003), 16-23.
79. Lecomte, J., "Les cires végétales : sources et applications", Oilseeds and fats, crops and lipids, vol. 16, n°4, (2009), 262-266.
80. Jarrige, R., Ruckebusch, Y., Demarquilly, C., Farce, M.H., Journet, M., "Nutrition des ruminants domestiques: Ingestion et digestion", Editions Quæ, Paris, (1995), 32-33.
81. Fortin, J., "Les plantes : comprendre la diversité du monde végétal", Editions Québec Amérique inc., Canada, (2005), 67-125.
82. Forêt, R., "Dico de Bio", 3ème édition, Edition De Boeck Supérieur s.a., Pris, (2012), 279p.
83. Suty, L., "Les végétaux: Évolution, développement et reproduction", Editions Quæ, France, (2014), 18p.
84. Himed, H., "Etude des activités antioxydante et antibactérienne des polyphénols d'*Allium triquetrum* L. en vue de leur application sur la sardine commune", Mémoire de Mgister en sciences alimentaires, option technologie

alimentaire, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires I.N.A.T.A.A, Université Fares Mentouri - Constantine, 2015, 43p.

85. Yin, M.C., Tsao, S.M., "Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species", International journal of food microbiology, vol. 49, (1999), 49-56.
86. Konate, M., Parkouda, C., Tarpaga, V., Guira, F., Rouambaa A., Sawadogo-Lingani, H., "Evaluation des potentialités nutritives et l'aptitude à la conservation de onze variétés d'oignon (*Allium cepa* L.) bulbe introduites au Burkina Faso", International journal of biological and chemical sciences, vol. 11, n°5, (2017), 2005-2015.
87. Messiaen, C.M., Cohat, J., Pichon, M., Leroux, J. P., Beyries, A., "Les *Allium* alimentaires reproduits par voie végétative", INRA Editions, Paris, (1993), 78-84.
88. Nwinuka, N.M., Ibeh, G.O., Ekeke, G.I., "Proximate composition and levels of some toxicants in four commonly consumed spices", Journal of applied sciences and environmental management, vol. 9, n°1, (2005), 150-155.
89. Abd El-Rehem, F., Abd El-Rehem, A., Farouk Mohammed Ali, R., "Proximate compositions, phytochemical constituents, antioxidant activities and phenolic contents of seed and leaves extracts of Egyptian leek (*Allium ampeloprasum* var. *kurrat*)", European journal of chemistry, vol. 4, n°3, (2013), 185-190.
90. Sa'adatu, M.E., "Comparative study on concentration of some minerals found in Garlic (*Allium Sativum* Linn) species grown in some African countries". Journal of biology and life science, vol. 4, n°1, (2013), 63-67.
91. Edet, A., Eseyin, O., Aniebiet, E., "Anti-nutrients composition and mineral analysis of *Allium cepa* (onion) bulbs", African journal of pharmacy and pharmacology, vol. 9, n°13, (2015), 456-459.
92. Najjaa, H., Fattouch, S., Ammar, E., Neffati, M., "*Allium* species, Ancient health food for future". Scientific, health and social aspects of the food chemistry, vol. 17, (2012), 343-354.

93. Abou Azoom, A.A., Hamdi, W., Zhani, K., Hannachi, C., "Evaluation of mineral element, sugars and proteins compositions in bulbs of eight onion (*Allium cepa* L.) varieties cultivated in Tunisia", International research journal of engineering and technology, vol. 2, n° 4, (2015), 35-39.
94. Bhattacharjee, S., Sultana A., Sazzad, M.H., Islam, M.A., Ahtashom, M., Asaduzzaman, M., "Analysis of the proximate composition and energy values of two varieties of onion (*Allium cepa* L.) bulbs of different origin: A comparative study", International journal of nutrition and food sciences, vol. 2, n°5, (2013), 246-253.
95. Akinwande, B.A., Olatunde, S.J., "Comparative evaluation of the mineral profile and other selected components of onion and garlic", International food research journal, vol. 22, n°1, (2015), 332-336.
96. Elliot, P., Kesteloot, H., Appel, L.J., Dyer, A.R., Ueshima, H., Chan, Q., Brown, I.J., Zhao, L., Stamler, J., "Dietary phosphorous and blood pressure International study of macro- and micro-nutrients and blood pressure", Hypertension, vol. 51, (2008), 669-675.
97. Latham, M.C., "La nutrition dans les pays en développement", Food and agriculture organization of the United Nations, Rome, (2001), 109p.
98. Cassard, Y., "Le corps humain et son pouvoir d'auto-guérison", Editions Humanis, Nouvelle-Calédonie, (2015), 86p.
99. Andreini, C., Bertini, I., Cavallaro, G., Holliday, G.L., Thomson, J.M., "Metal ions in biological catalysis: from enzyme databases to general principles", Journal of biological inorganic chemistry, vol. 13, (2008), 1205-1218.
100. Patra, M., Bhowmik, N., Bandopadhyay, B., Sharma, A., "Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance", Environmental and experimental botany, vol. 52, (2004), 199-223.
101. Cecchi, M., "Devenir du plomb dans le système sol-plante. Cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes

- potagères (Fève et Tomate)”, Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, France, (2008), 14-22.
102. Fatarna, L., Boutekrabt, A., Arabi Y., Adda, A., “Impact du cadmium, du zinc et du plomb sur la germination des graines d’*Atriplex Halimus* L. (Amaranthaceae)”, *Revue d’écologie (Terre et Vie)*, Vol. 72, n° 1, (2017), 61-72.
 103. Mehrandish, R., Rahimian, A., Shahriary, A., “Heavy metals detoxification: A review of herbal compounds for chelation therapy in heavy metals toxicity”, *Journal of herbmed pharmacology*, vol. 8, n° 2, (2019), 69-77.
 104. Kianoush, S., Balali-Mood, M., Mousavi, S.R., Moradi, V., Sadeghi, M., Dadpour, B., Rajabi O., Taghi Shakeri, M. “Comparison of Therapeutic Effects of Garlic and D-Penicillamine in Patients with Chronic Occupational Lead Poisoning”, *Basic and clinical pharmacology and toxicology*, vol. 110, (2012), 476-481.
 105. Massadeh, A.M., Al-Safi, S.A., Momani, I.F., Alomary, A.A., Jaradat, Q.M., AlKofahi, A.S., “Garlic (*Allium sativum* L.) as a potential antidote for cadmium and lead intoxication: cadmium and lead distribution and analysis in different mice organs”, *Biological trace element research*, vol. 120, (2007), 227-234.
 106. Lachman, J., Proněk, D., Hejtmánková, A., Dudjak, J., Pivec, K., Faitov, K., “Total polyphenol and main flavonoid antioxidants in different onion (*Allium cepa* L.) varieties”, *Scientia horticultrae*, vol. 30, n°4, (2003), 142-147.
 107. Dini, I., Tenore, G.C., Trimarco, E., Dini, A., “Furostanol saponins in *Allium caepa* L. Var. *tropeana* seeds”. *Food chemistry*, vol. 93, n°2, (2005), 205-214.
 108. El Gharras, H., “Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review”, *International journal of food science and technology*, vol. 44, n°12, (2009), 2512-2518.
 109. Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F., “Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif”, *Phytothérapie*, vol. 1, (2004), 3-6.

110. Bruneton, J., "Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales", 4^{ème} édition, Editions Tec & Doc, Paris, (2009), 1240, 1288.
111. Lacaille-Dubois, M.A., "Bioactive saponins with Cancer related and immunomodulatory activity: recent developments". Studies in natural products chemistry, vol. 32, (2005), 209-246.
112. Arrif S., "Etude des métabolites secondaires de deux scrophulariacées du genre *Verbascum*: *V. ballii* et *V. dentifolium*", Thèse de doctorat en chimie, Université El Hadj Lakhdar-Batna, Algérie, (2009), 39p.
113. Rhazi, N., "Mise au point de mélanges collants écologiques d'*Acacia mollissima* du Maroc", Thèse de Doctorat en cotutelle de l'université Hassan II de Casablanca et l'université de Pau et des Pays d'Adour, (2015), 19p.
114. Bernhard, R.A., "Chemotaxonomy: distribution studies of sulfur compounds in *Allium*". Phytochemistry, vol. 9, (1970), 2019-2027.
115. Zouari Chekki, R., Snoussi, A., Hamrouni, I., Bouzouita, N., "Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic (*Allium sativum*) essential oil and ethanol extract", Mediterranean journal of chemistry vol. 3, n°4, (2014), 947-956.
116. Derbali, M., Elaissi, A., Cheraief, I., Aouni, M., "Fatty acid composition and antimicrobial activity against sensitive and multi-drug resistant bacteria of Tunisian *Allium cepa* seed extract", Research & Reviews: Journal of hospital and clinical pharmacy, vol. 2, Issue 2, (2016), 33-34.
117. Dehpour, A.A., Babakhani, B., Khazaei, S., Asadi, M., "Chemical composition of essential oil and antibacterial activity of extracts from flower of *Allium atrovioleaceum*", Journal of medicinal plants research, vol. 5, n°16, (2011), 3667-3672.
118. Sakka Rouis-Soussi, L., El Ayeb-Zakhama, A., Mahjoub, A., Flamini, G., Ben Jannet, H., Harzallah-Skhiri, F., "Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from the Tunisian *Allium nigrum* L.", EXCLI journal, vol. 13, (2014), 526-535.

119. Johnson, O.O., Ayoola, G.A., Adenipekun, T., “Antimicrobial activity and the chemical composition of the volatile oil blend from *Allium sativum* (Garlic Clove) and *Citrus reticulata* (Tangerine Fruit)”, International journal of pharmaceutical sciences and drug research, vol.5, n° 4, (2013), 187-193.
120. Dehpour, A.A., Yousefian, M., Jafary Kelarijani, S.A., Koshmoo, M., Mirzanegad, S., Mahdavi, V., Mousavi, S.E., Shirzad, E., Afzali, M., Javad Bayani, M.J., Olyaei juybari, E., Yahyapor, M.K., “Antibacterial activity and composition of essential oils of flower *Allium rotundum*”, Advances in environmental biology, vol. 6, n°3, (2012), 1020-1025.
121. Auger, J., Thibout, E., “Substances soufrées des *Allium* et des crucifères et leurs potentialités phytosanitaires”. in: “Biopesticides d’origine végétale”, Ed Tec et Doc, Paris, (2002), 77-95
122. Upadhyay, R.K., “Garlic: A potential source of pharmaceuticals and pesticides: A review”, International journal of green pharmacy, vol. 10, n°1, (2016), 1-28.
123. Guesnet, P., Alessandri, J-M., Astorg, P., Pifferi, F., Laviaille, M., “Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI) ”, Oilseeds and fats, crops and lipids, vol. 12, n° 5-6, (2005), 333-343.
124. Suresh, L., Veerabah, R.M., Gnanasingh, S.R., “GC-MS analysis of ethanolic extract of *Zanthoxylum rhetsa* (roxb.) dc spines”. Journal of herbal medicine and toxicology, vol. 4, (2010), 191-192.
125. Modupe, O., Wesley, O., Morufu, A., Elizabeth, A.O., “Analysis of essential oil from the stem of *Chansmanthera dependens*”, Journal of natural products, vol. 3, (2010), 47 -53.
126. Silvaa, R.O., Sousaa, F.B.M., Damascenoa, S.R.B., Carvalhoa, N.S., Silvaa, V.G., Oliveirab, F.R.M.A., Sousac, D.P., Aragãod, K.S., Barbosaa, A.L.R., Freitasb, R.M., Medeiros, J.V.R., “Phytol, a diterpene alcohol, inhibits the inflammatory response by reducing cytokine production and oxidative stress”, Fundamental and clinical pharmacology, (2013), 1-10.

127. Leary, C., "Les lipides dans le monde vivant. Introduction à la lipidomique", Editions Tec & doc, Lavoisier, Paris, (2010), 86p.
128. Vlase, L., Parvu, M., Parvu, E.A., Toiu, A., "Chemical Constituents of Three *Allium* Species from Romania", *Molecules*, vol. 18, (2013), 114-127.
129. Ejaz, S., Woong, L.C., Ejaz, A., "Extract of garlic (*Allium sativum*) in cancer chemoprevention", *Experimental oncology*, vol. 25, (2003), 93-97.
130. Zanwar, A.A., Badole, S.L., Shende, P.S., Hegde, M.V., Bodhankar, S.L., "Role of gallic acid in cardiovascular disorders", *Polyphenols in human health and disease*, vol. 2, (2014), 1045-1047.
131. Bensaad, L.A., Kim, K.H., "Phytochemical Constituents and Analgesic Activity of Ethyl Acetate Fraction of *Punicagranatum* L (Punicaceae)", *Tropical journal of pharmaceutical research*, vol. 14, n°1, (2015), 87-93.
132. Kamatham, S., Kumar, N., Gudipalli, P., "Isolation and characterization of gallic acid and methyl gallate from the seed coats of *Givotia rottleriformis* Griff. and their anti-proliferative effect on human epidermoid carcinoma A431 cells", *Toxicology reports*, vol. 2, (2015), 520-529.
133. Mujtaba, A., Masud, T., Ahmad, A., Ahmed, W., Jabbar, S., Levin, R.E., "Antibacterial Activity by Chlorogenic Acid Isolated through Resin from Apricot (*Prunus Armeniaca* L.)", *Pakistan journal of agricultural research*, vol. 30, n°2, (2017), 144-148.
134. Matejczyk, M., Świsłocka, R., Kalinowska, M., Świdorski, G., Lewandowski, W., Trypuć, A.J., Rosochacki, S.J., "*In vitro* Evaluation of biological activity of cinnamic, caffeic, ferulic and chlorogenic acids with use of *Escherichia coli* K-12 *RECA::GFP* Biosensor strain", *Acta poloniae pharmaceutica- Drug research*, vol. 74, n° 3, (2017), 801-808.
135. Al-Dhabi, N.A., Arasu, M.V., Park, C.H., Park, S.U., "Letter to the editor: An up-to-date review of rutin and its biological and pharmacological activities", *EXCLI journal*, vol. 14, (2015), 59-63.

136. Kawase, M., Wang, R., Shiomi, T., Saijo, R., Yagi, K., "Antioxidative activity of (-)-Epigallocatechin-3-(3'-O-methyl)gallate isolated from fresh tea leaf and preliminary results on its biological activity", *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, vol. 64, n°10, (2000), 2218-2220.
137. Venkateswara Rao, P., Kiran, S.D.V.S., Rohini, P., Bhagyasree, P., "Flavonoid: A review on Naringenin", *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, vol. 6, n°5, (2017), 2778-2783.
138. Setti, L., Faulds, C., Giuliani, S., "Hydroxycinnamic acids as natural antioxidants", *Science and technology, La Chimica e l'Industria*, vol. 83, (2001), 1-5.
139. Sahoo, S.S., Shukla, S., Nandy, S., Sahoo, H.B., "Synthesis of novel coumarin derivatives and its biological evaluations", *European journal of experimental biology*, vol. 2, n°4, (2012), 899-908.
140. Miliuskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.A., "Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract", *Food chemistry*, vol. 85, (2004), 231-237.
141. Ebrahimi, N.S., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., Yousefzadi, M. "Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages". *Food chemistry*, vol. 110, (2008), 927-931.
142. Turkmen, N., Sari, F., Velioglu, Y. S., "Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods", *Food chemistry*; vol. 99, n°4, (2006), 835-841.
143. Settharaksa, S., Madaka, F., Sueree L., Kittiwisut, S., Sakunpak, A., Moton, C., Charoenchai, L., "Effects of solvent types on phenolic, flavonoid contents and antioxidant activities of *Syzygium Gratum* (WIGHT) S.N.", *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, vol. 6, n°2, (2014), 114-116.

144. Bakri, L.M., Douglas, C.W.I., "Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria", Archives of oral biology, vol. 50, n°7, (2005), 645-651.
145. Fujisawa, H., Watanabe, K., Suma, K. Origuchi, K., Matsufuji, H., Seki, T., Ariga, T., "Antibacterial potential of garlic-derived allicin and its cancellation by sulfhydryl compounds", Bioscience, biotechnology and biochemistry, vol. 73, (2009), 1948-1955.
146. Douiri, L.F., Boughdad, A., Assobhei, O. Moumni, M., "Chemical composition and biological activity of *Allium sativum* essential oils against *Callosobruchus maculatus*", Journal of environmental science, toxicology and food technology, vol. 3, n°1, (2013), 30-36.
147. Perry, C.C., Weatherly, M., Beale, T., Randriamahefa, A., "Atomic force microscopy study of the antimicrobial activity of aqueous garlic versus Ampicillin against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*", Journal of the science of food and agriculture, vol. 89, (2009), 958-964.
148. Kyung, K.H., "Antimicrobial properties of *Allium* species", Food biotechnology, current opinion in biotechnology, vol. 23, (2012), 142-147.
149. Ankri, S., Mirelman, D. "Antimicrobial properties of allicin from garlic", Microbes and infection, vol. 2, (1999), 125-129.
150. Benkeblia, N., Lanzotti, V, "Allium Thiosulfinates: Chemistry, Biological Properties and their Potential Utilization in Food Preservation", Food, vol. 1, n°2, (2007), 193-201.
151. Nagawa, R., Iwate, N., Ishikawa, K., Fukuda, H., Fujini, T., Suzuki, A., "Inhibition of microbial growth by ajoene, a sulfur-containing compound derived from garlic". Applied and environmental microbiology, vol. 62, (1996), 4238-4242.
152. Shams-Ghahfarokhia, M., Shokoohamiria, M.R., Amirrajaba, N., Moghadasia, B., Ghajarib, A., Zeinic, F., Sadeghid, G., Razzaghi-Abyanehd, M., "In vitro, antifungal activities of *Allium cepa*, *Allium sativum* and ketoconazole against

- some pathogenic yeasts and dermatophytes". *Fitoterapia*, vol. 77, (2006), 321-323.
153. Miron, T., Rabinkov, A., Mirelman, D., Wilchek, M., Weiner, L., "The mode of action of allicin: its ready permeability through phospholipid membranes may contribute to its biological activity". *Biochimica et biophysica acta*, vol. 1463, n°1, (2000), 20-30.
154. Siriponputikorn, S., Thummaratwasik, P., Huang, Y.W., "Antimicrobial and antioxidation effects of Thai seasoning, *Tom-Yum*". *LWT- Food science and technology*, vol. 38, n°4, (2005), 347-352.
155. Najjaa, H., Neffati, M., Zouari, S., Ammar, E., "Essential oil composition and antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum* L., a North African endemic species", *Comptes rendus chimie*, vol. 10, (2007), 820-826.
156. Kadri, A., Zarai, A., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., Gdoura, R., "Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia", *African journal of biotechnology*, vol. 10, (2011), 3908-3914.
157. Chang, T.C., Chang, H.T., Chang, S.T., Lin, S.F., Chang, Y.H., Jang H.D., "A Comparative study on the total antioxidant and antimicrobial potentials of ethanolic extracts from various organ tissues of *Allium* spp". *Food nutrition science*, vol. 4, (2013), 182-190.
158. Tugbobo, O.S., Oloyede, O.I., Ademuyiwa, J.A., "Inhibitory effect of garlic (*Allium sativum*) on Fe²⁺ and Pb²⁺- induced lipid peroxidation in rat brain and liver *in-vitro*". *Archives of applied science research*, vol. 7, n°6, (2015), 56-63.
159. Nencini, C., Cavallo, F., Capasso, A., Franchi, G.C., Giorgio, G., Micheli, L., "Evaluation of antioxidative properties of *Allium* species growing wild in Italy". *Phytotherapy research*, vol. 21, n°9, (2007), 874-878.
160. Kumari, M., Ranjan, N., "*In vitro* antioxidant activity of extract of bulb of *Allium sativum* linn. using DPPH and FRAP assays with evaluation of total phenolic content", *International journal of bioassays*, vol. 3, n°2, (2014), 1752-1755.

161. Bhandari, S.R., Yoon, M.K., Kwak, J.H, "Contents of phytochemical constituents and antioxidant activity of 19 garlic (*Allium sativum* L.) parental lines and cultivars". Horticulture, environment and biotechnology; vol. 55, n°2, (2014), 138-147.
162. Hebi, M., Eddouks, M., "Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudian*", Phytothérapie, vol.14, (2016), 17-22.
163. Pan, S., Lakshmi, I.A., Priyanka P., "Anti-inflammatory activity of aqueous extract of *Allium sativum* leaves". Asian journal pharmaceutical and clinical research, vol. 8, n°3, (2015), 78-80.
164. Ranjan, S., Jadon, V.S., Sharma, N., Singh, K., Parcha, V., Gupta, S., Bhatt, J.P., "Anti-inflammatory and Analgesic Potential of Leaf Extract of *Allium Stracheyi*". Journal of applied sciences research, vol. 6, n°2, (2010), 139-143.
165. Yougbaré-Ziébrou, M.N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., Sawadogo, W.R., Guissou, I.P., "Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae)", Phytothérapie, (2015), 1-7.
166. Sene, M. Ndiaye, M., Barboza, F.S., Sene, M., Diatta, W., Sarr, A., Ndiaye-Sy A., Dieye, A. M., Sy G.Y., "Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Elaeis guineensis* Jacq. (ARECACEAE) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine", International journal of biological and chemical sciences, vol. 10, n°6, (2016), 2568-2574.
167. Bose, A., Mondal, S., Gupta, J. K., Ghosh, T., Dash, G.K., Si, S. "Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the ethanolic extract and its fractions of *Cleome rutidosperma*". Fitoterapia, vol. 78, (2007), 515-520.
168. Jayanthi, M.K., Jyoti, M.B., "Experimental animal studies on analgesic and anti-nociceptive activity of *Allium sativum* (Garlic) powder", Indian journal of research and reports in medical sciences, vol. 2, n° 1, (2012), 1-6.

169. Nipu, A., Akter, H.S., Rahmatullah, M. "Analgesic activity studies with a polyherbal formulation containing plant parts of *Allium cepa*, *Allium sativum* and *Curcuma zedoaria*", European journal of pharmaceutical and medical research, vol. 5, n°1, (2018), 117-120.
170. Le Bars, D., Gozariu, M., Cadden, S., "Animal models of nociception". Pharmacological reviews, vol. 534, (2001), 597-652.

APPENDICE A

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

A:	Absorbance
A.:	<i>Allium</i>
ADN:	Acide désoxyribonucléique
AmB:	Amphotéricine B
ANOVA :	Analysis Of Variance
ARN:	Acide ribonucléique
ATCC:	American Type Culture Collection
<i>A. triquetrum:</i>	<i>Allium triquetrum</i>
<i>B. subtilis:</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
C:	Chloramphénicol
Ca ⁺⁺ :	Ion calcium
<i>C. albicans:</i>	<i>Candida albicans</i>
Cl:	Chromatographie Ionique
Cl ⁻ :	Ion chloride
CL:	Colistine Méthane sulphonate
COX :	Cyclooxygénase
Cu ⁺⁺ :	Ion cuivre

DL:	Dose Létale
D.O:	Densité optique
DPPH:	2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl
EC:	Effective Concentration
<i>E. coli:</i>	<i>Eschirichia coli</i>
EMB:	Extrait méthanolique de bulbes
EMF:	Extrait méthanolique de feuilles
Fe ⁺⁺ :	Ion fer
FRAP :	Ferric Reducing Antioxidant Power
g:	gramme
GC-MS:	Gas Chromatography - Mass Spectrometry
h:	heure
HPLC:	High Pressure Liquid Chromatography
IB:	Infusé de bulbes
IF:	Infusé de feuilles
IL :	Interleukine
IR:	Indice de Rétention
JB:	Jus de bulbes
JF:	Jus de feuilles
K ⁺ :	Ion potassium
<i>K. pneumoniae:</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
LC-MS :	Liquid Chromatography – Mass Spectrometry

LPO :	Lipoxygénase
mg:	milligramme
Mg ⁺⁺ :	Ion magnésium
MH:	Muller Hinton
ml:	millilitre
mm:	millimètre
Mn ⁺⁺ :	Ion manganèse
nm:	nanomètre
Na ⁺ :	Ion sodium
NO ³⁻ :	Ion nitrate
P:	Poids
<i>P. aeruginosa:</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Pb ⁺⁺ :	Ion plomb
<i>P. mirabilis:</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
PO ₄ ²⁻ :	Ion phosphate
RMN:	Résonance Magnétique Nucléaire
SAA:	Spéctrométrie d'absorption atomique
SAB:	Sabouraud
<i>S. aureus:</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. cerevisiae:</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
TNF:	Tumor Necrosis Factor

TSA:	Trypticase Soja Agar
sec:	seconde
SO ₄ ²⁻ :	Ion sulfate
ufc:	unité formant colonie
UV:	Ultra violet
XX ^e :	Vingtième
°C:	degré Celsius
%:	pour cent
µl:	microlitre
µm:	micromètre
λ:	Lambda

APPENDICE B

MATERIEL NON BIOLOGIQUE

APPAREILLAGE

- Autoclave
- Bain marie
- Balance de précision
- Bec benzène
- Chambre UV
- Chromatographie ionique
- Etuve bactériologique
- Evaporateur rotatif
- Four à moufle
- GC-MS
- Haute chimique
- HPLC
- Loupe binoculaire
- Microscope photonique
- Plaque chauffante
- Spectrophotomètre à absorption atomique
- Spectrophotomètre UV – Vis

VERRERIE ET CONSOMMABLES

- Ampoules à décanter
- Anse de platine
- Béchers
- Ballon à fond plat à col rodé
- Boîtes de Pétri
- Disques d'antibiogramme stériles
- Ecouvillons stériles
- Entonnoirs
- Erlène Meyer
- Lames en verre et lamelles
- Micropipette
- Papier Wattman et papier aluminium
- Pincés
- Pipettes graduées
- Pipettes Pasteur
- Portoirs
- Seringues
- Sonde de gavage
- Tubes à essai

APPENDICE C

PARAMETRES STATISTIQUES UTILISES

Moyenne d'un ensemble de valeurs

Considérons un échantillon de n mesures d'un paramètre donné (x_1, x_2, \dots, x_n).

La moyenne est définie comme $\bar{x} = \frac{\sum_i x_i}{n}$

Variance $\sigma^2 = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{n}$

Ecart type C'est la racine carrée de la variance

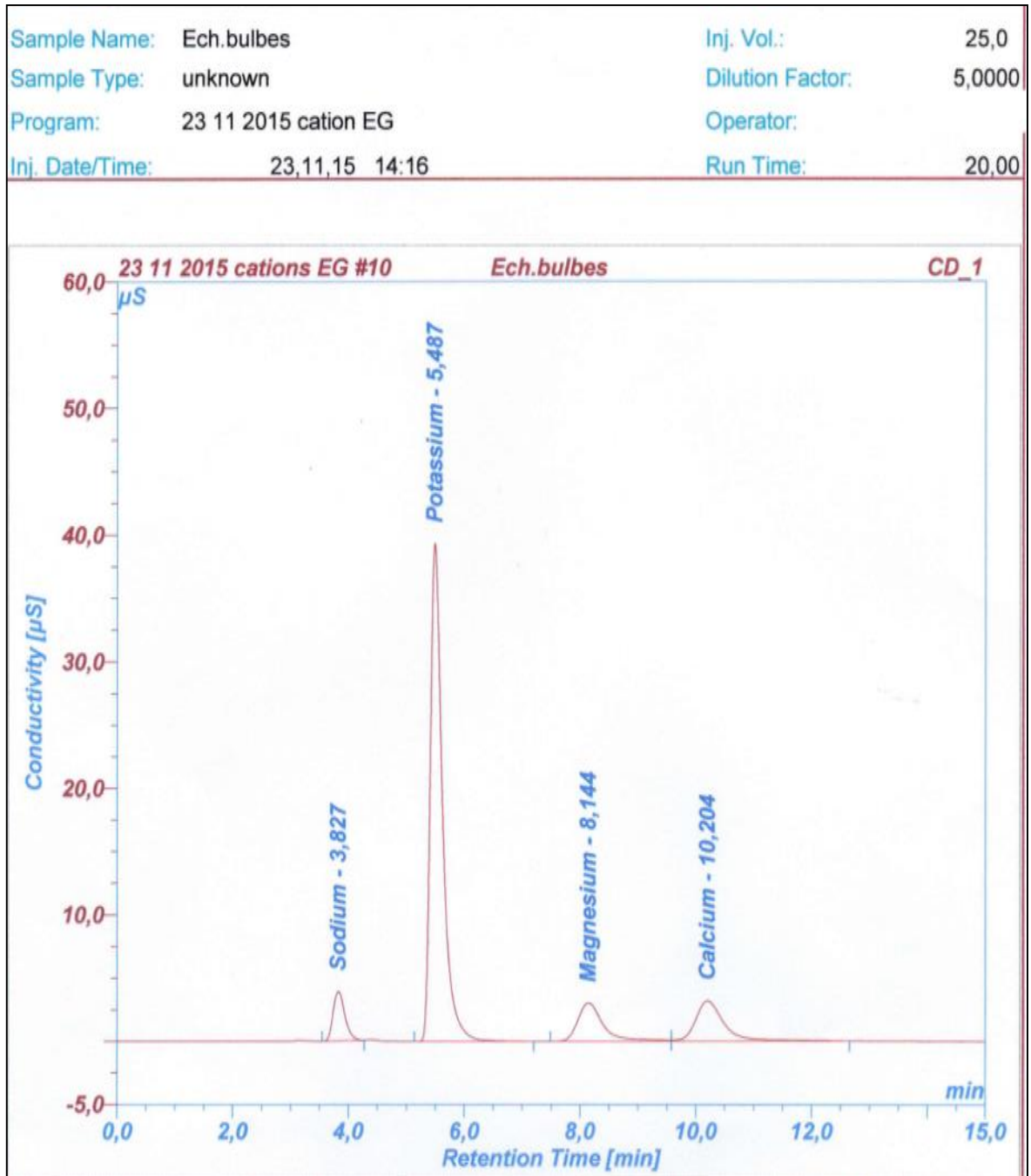
$$\sigma = \sqrt{\sigma^2} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i^2 - \bar{x}^2$$

Ecart-type de la moyenne il est défini par $\frac{\sigma}{\sqrt{n-1}}$

APPENDICE D

SPECTRES DE LA CHROMATOGRAPHIE IONIQUE

PROFILS CHROMATOGRAPHIQUES DES CATIONS



Spectre des cations dans les bulbes d'*A. triquetrum*

Sample Name: Ech.feuille

Inj. Vol.: 25,0

Sample Type: unknown

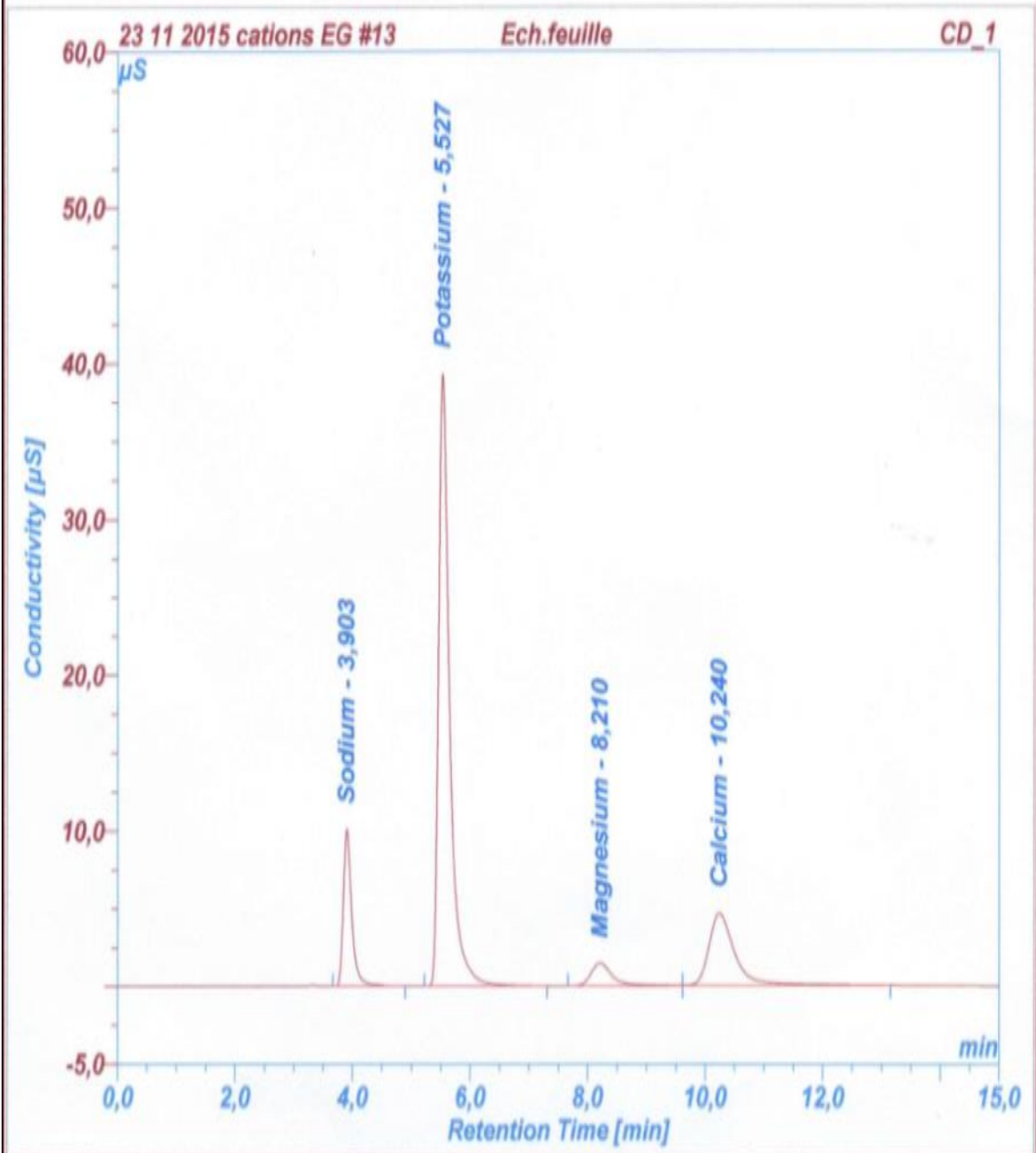
Dilution Factor: 20,0000

Program: 23 11 2015 cation EG

Operator:

Inj. Date/Time: 31,03,06 03:04

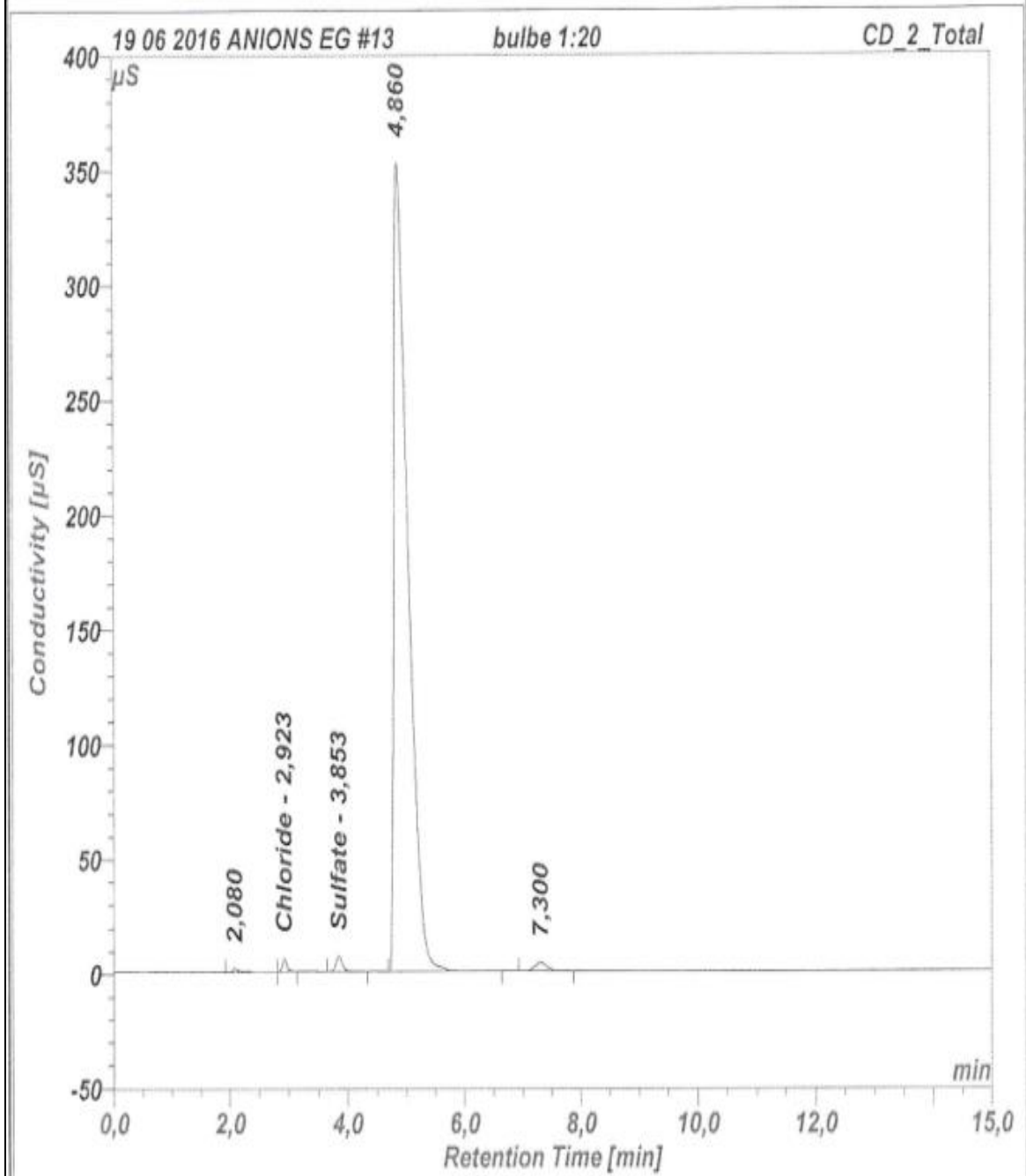
Run Time: 20,00



Spectre des cations dans les feuilles d'*A. triquetrum*

PROFILS CHROMATOGRAPHIQUES DES ANIONS

Sample Name:	bulbe 1:20	Inj. Vol.:	25,0
Sample Type:	unknown	Dilution Factor:	20,0000
Program:	19 06 2016 anions EG	Operator:	
Inj. Date/Time:	20,06,16 12:04	Run Time:	15,00



Sample Name: bulbe 1:400

Inj. Vol.: 25,0

Sample Type: unknown

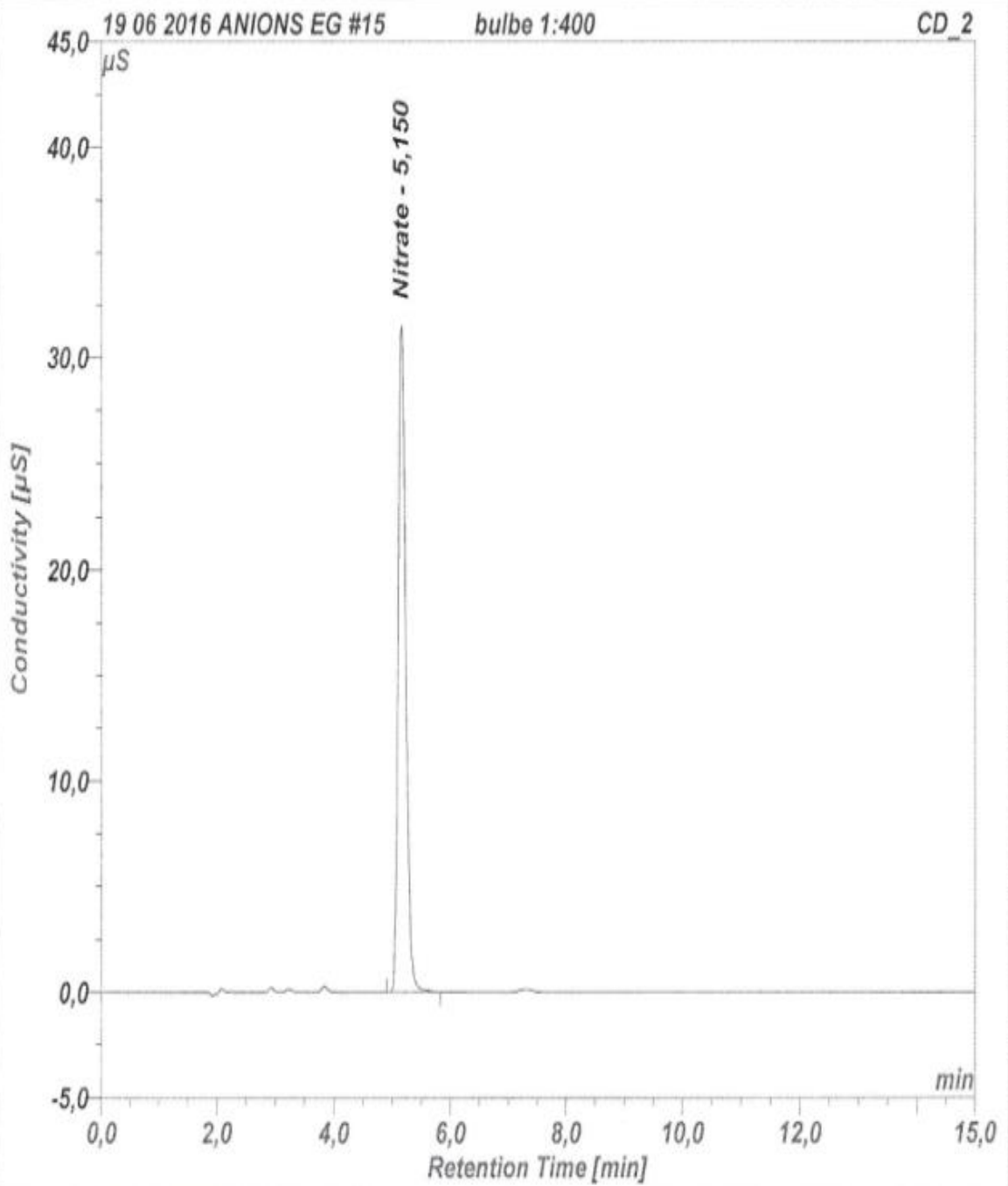
Dilution Factor: 400,0000

Program: 19 06 2016 anions EG

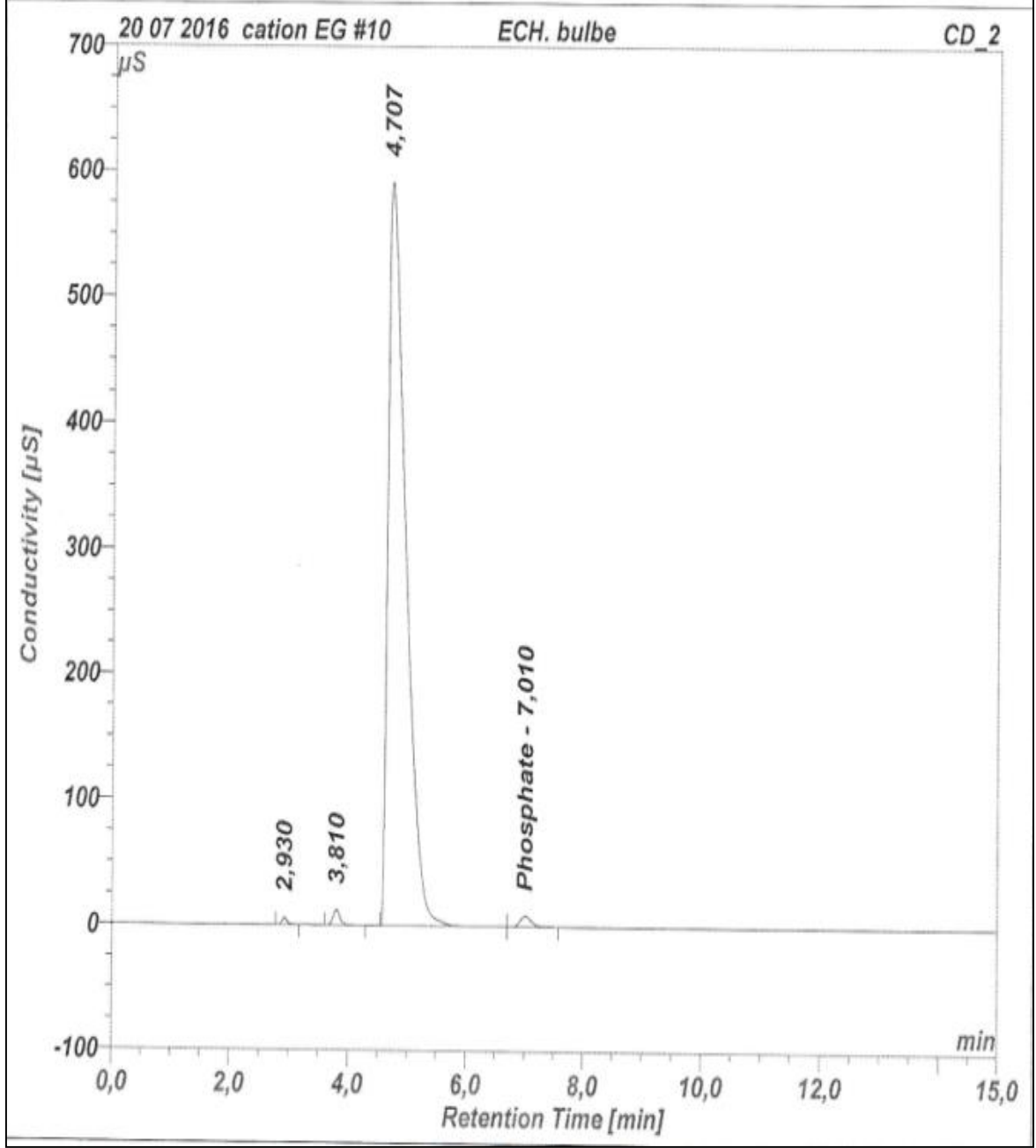
Operator:

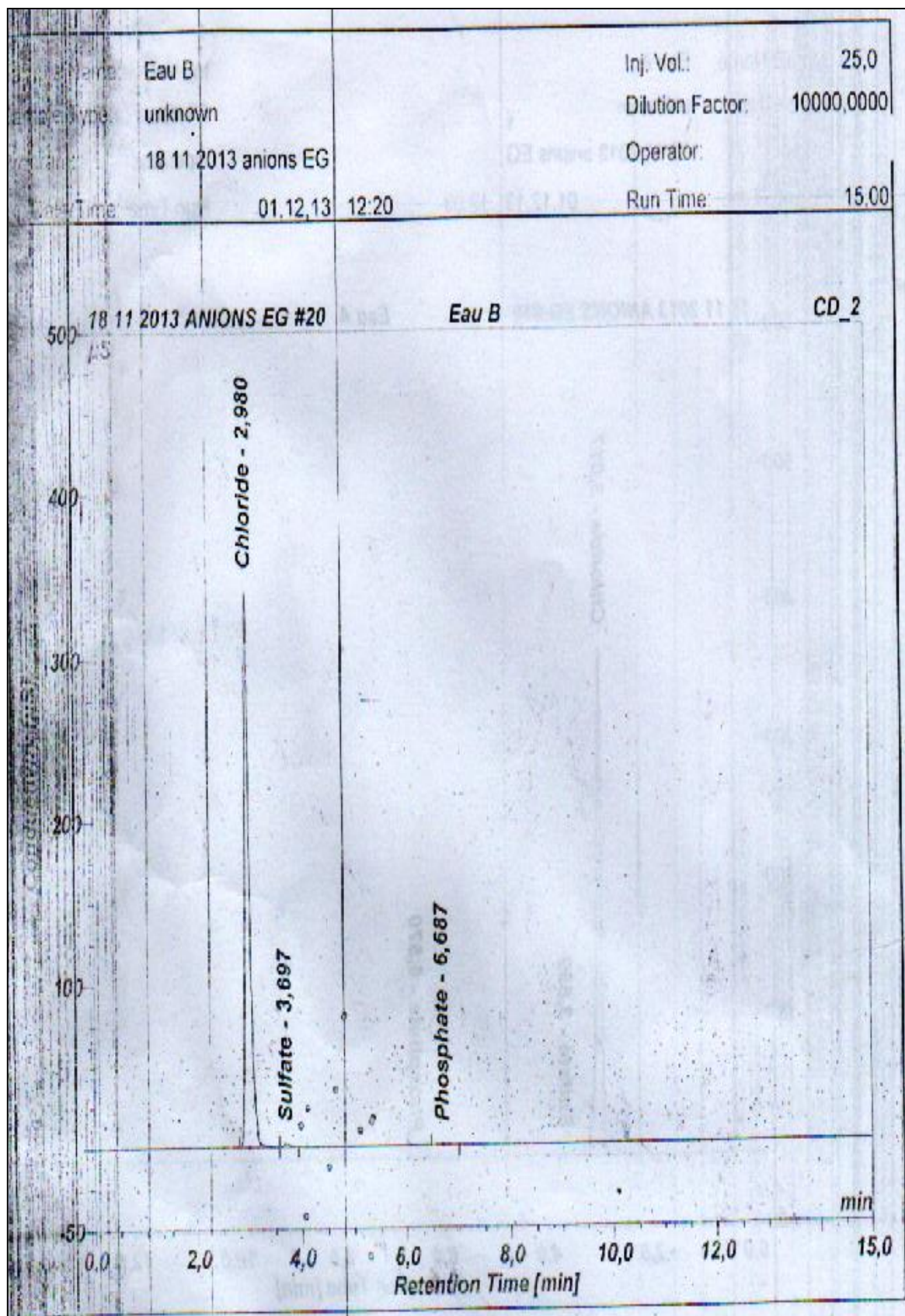
Inj. Date/Time: 20,06,16 13:51

Run Time: 15,00



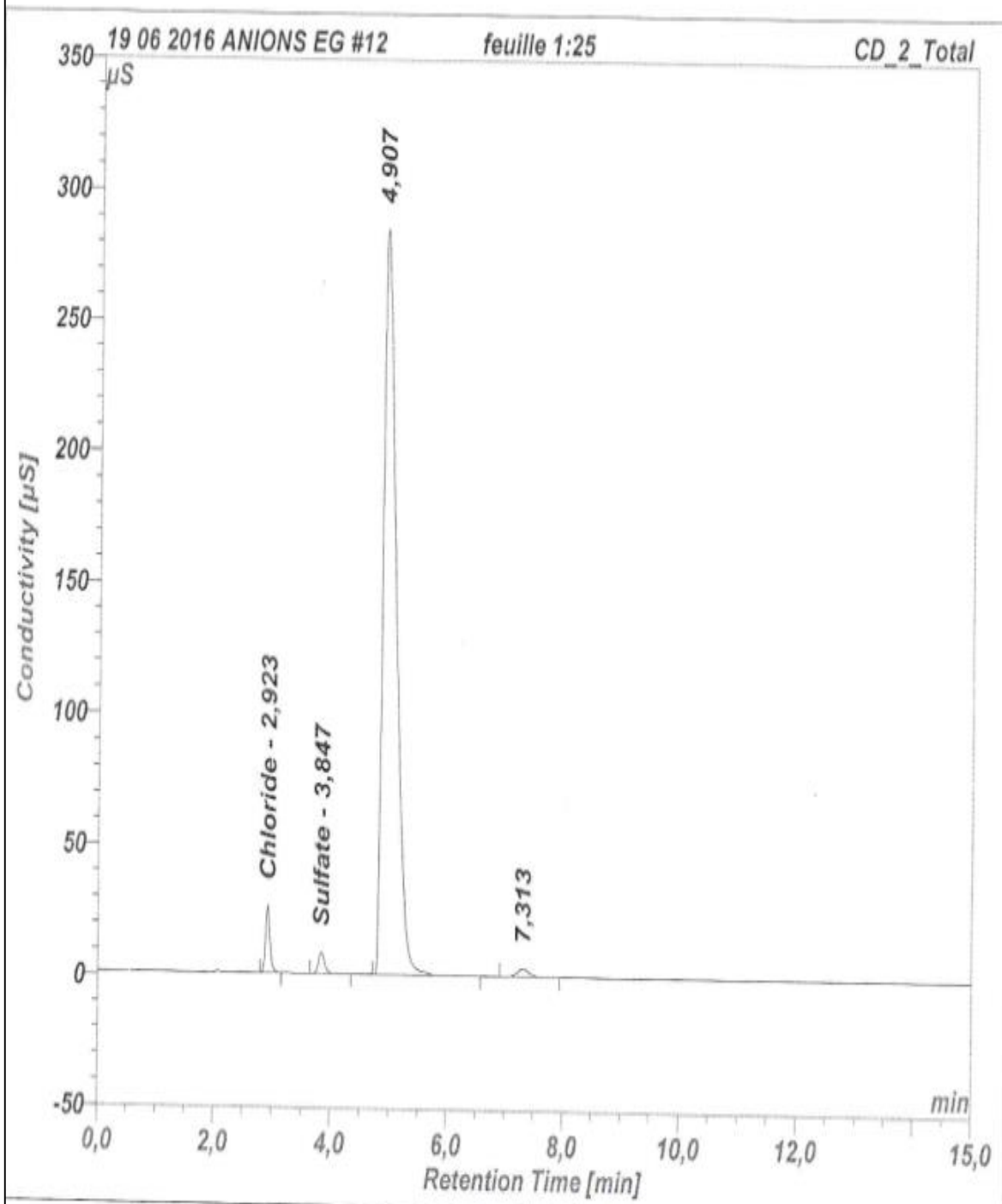
Sample Name:	ECH. bulbe	Inj. Vol.:	25,0
Sample Type:	unknown	Dilution Factor:	10,0000
Program:	20 07 2016 anions EG	Operator:	
Inj. Date/Time:	20,07,16 14:59	Run Time:	15,00



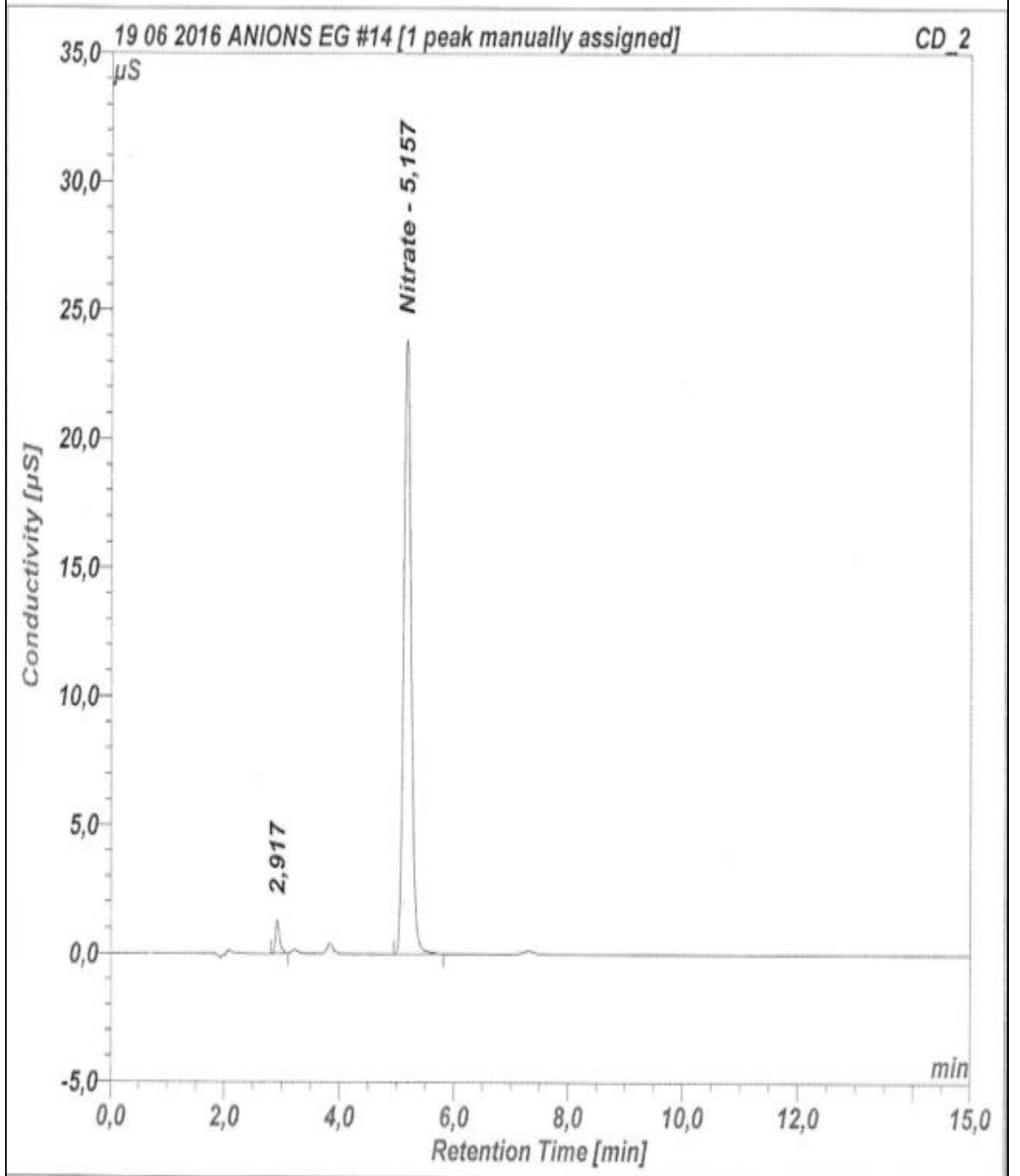


Spectres des anions dans les bulbes d'*A. triquetrum*

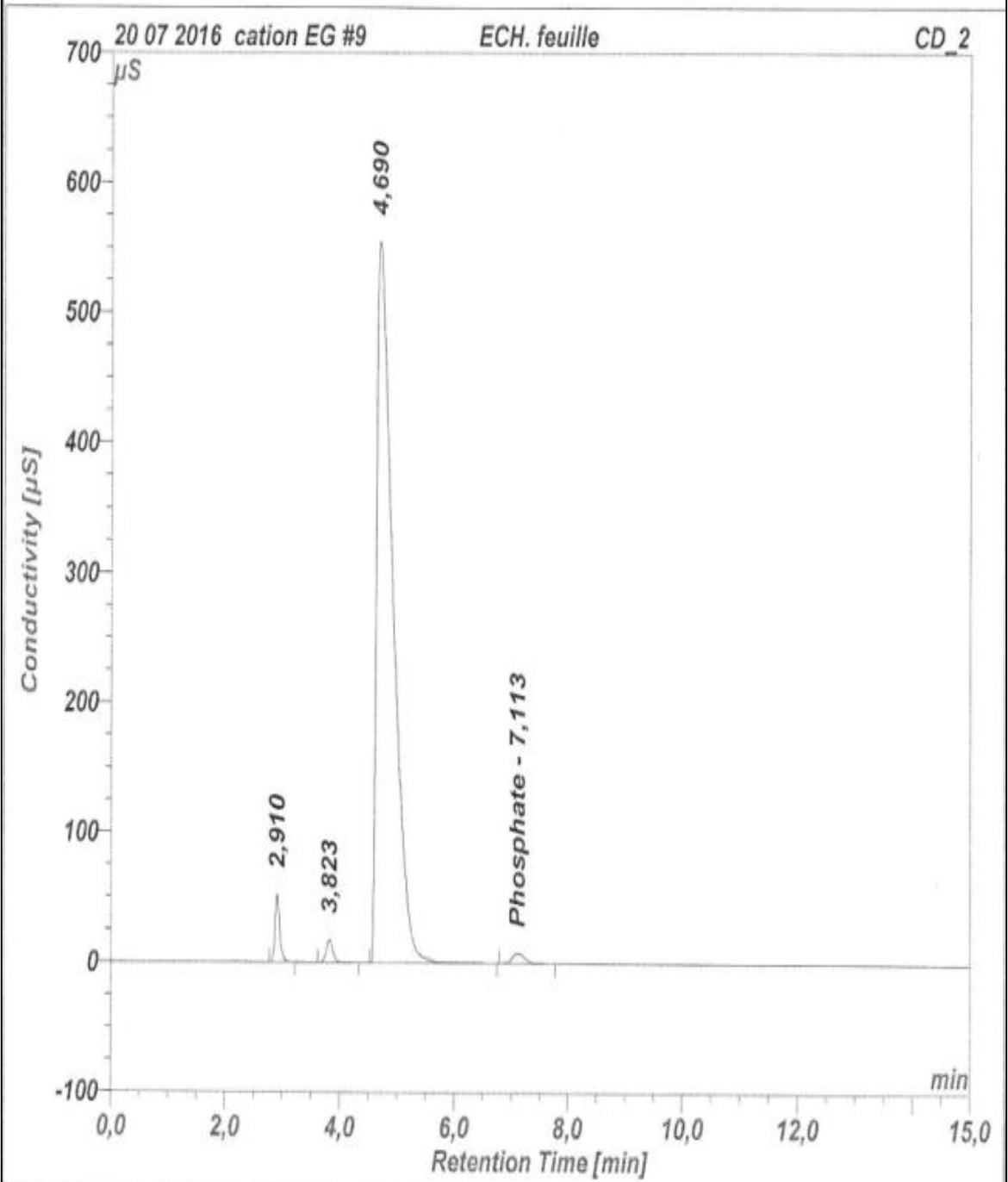
Sample Name:	feuille 1:25	Inj. Vol.:	25,0
Sample Type:	unknown	Dilution Factor:	25,0000
Program:	19 06 2016 anions EG	Operator:	
Inj. Date/Time:	20,06,16 11:47	Run Time:	15,00

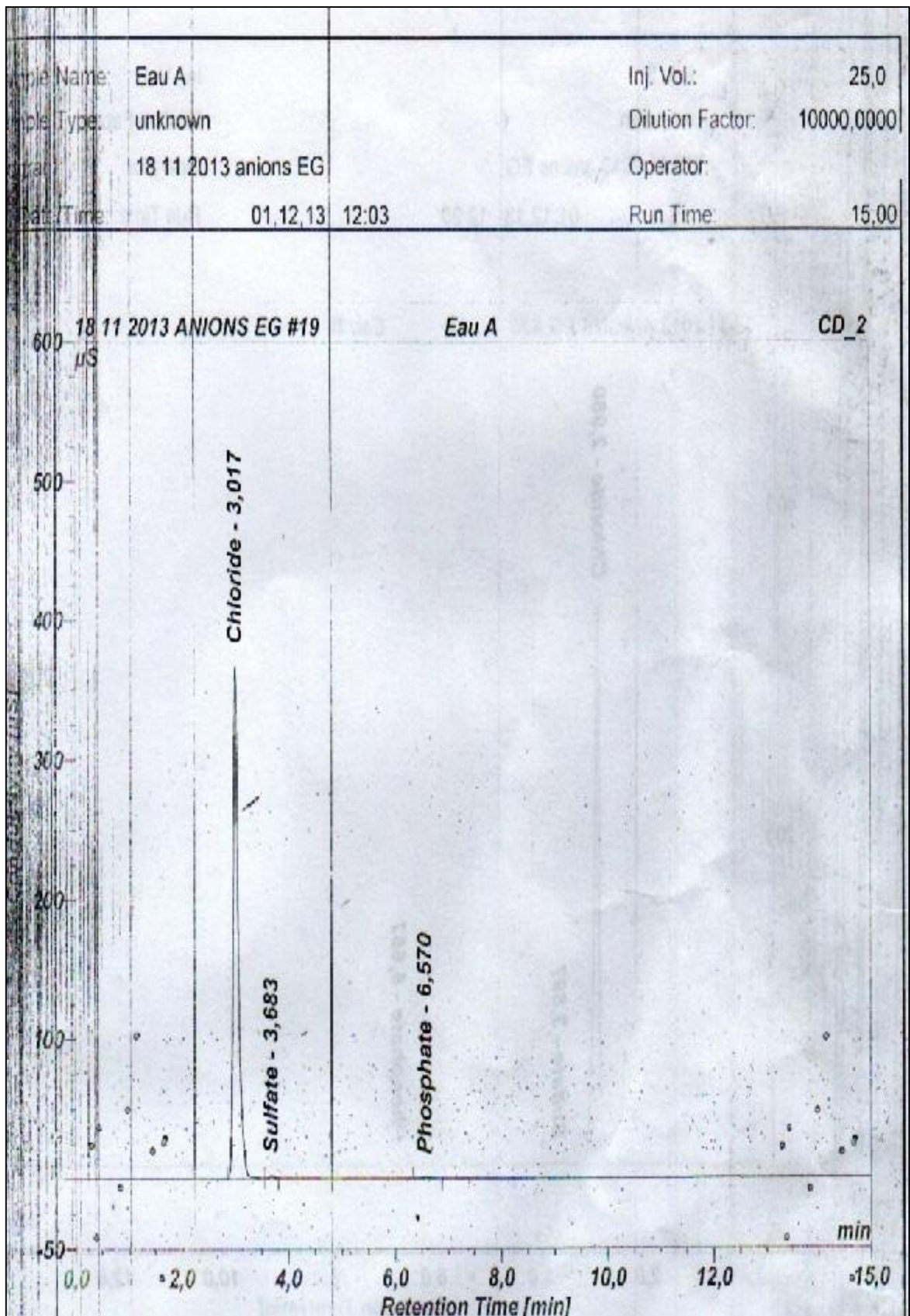


Sample Name:	feuille 1:500	Inj. Vol.:	25,0
Sample Type:	unknown	Dilution Factor:	500,0000
Program:	19 06 2016 anions EG	Operator:	
Inj. Date/Time:	20,06,16 13:34	Run Time:	15,00



Sample Name:	ECH. feuille	Inj. Vol.:	25,0
Sample Type:	unknown	Dilution Factor:	10,0000
Program:	20 07 2016 anions EG	Operator:	
Inj. Date/Time:	20,07,16 14:42	Run Time:	15,00

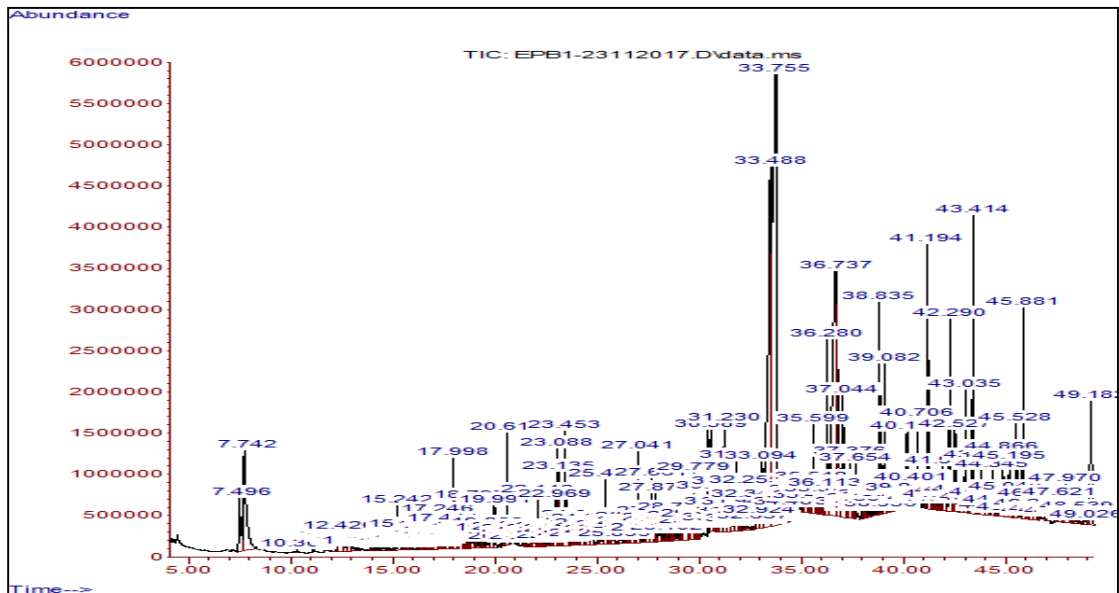




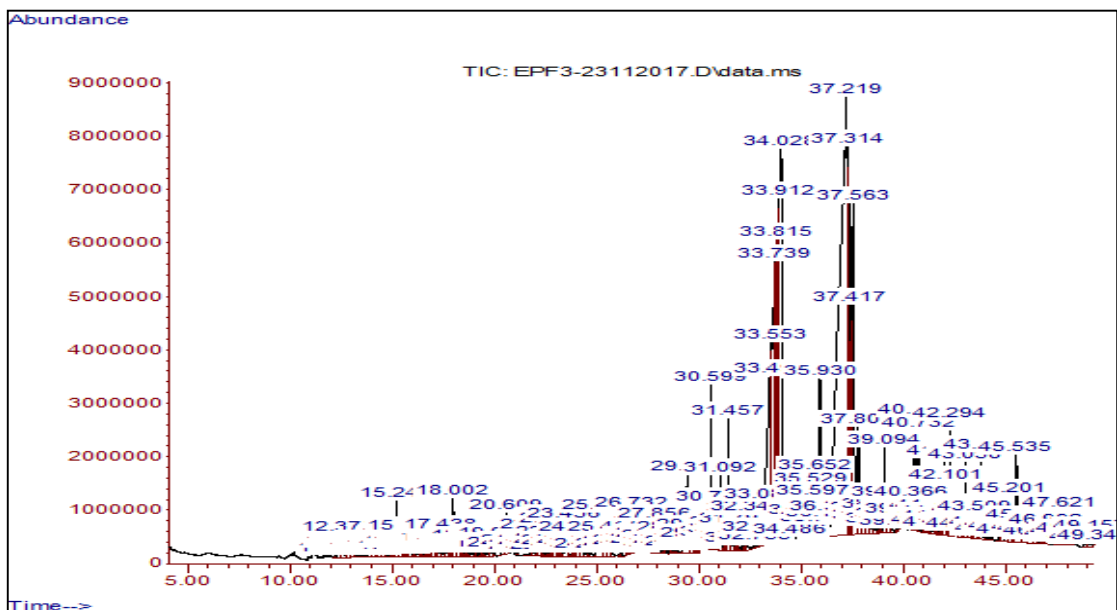
Spectres des anions dans les feuilles d'*A. triquetrum*

APPENDICE E

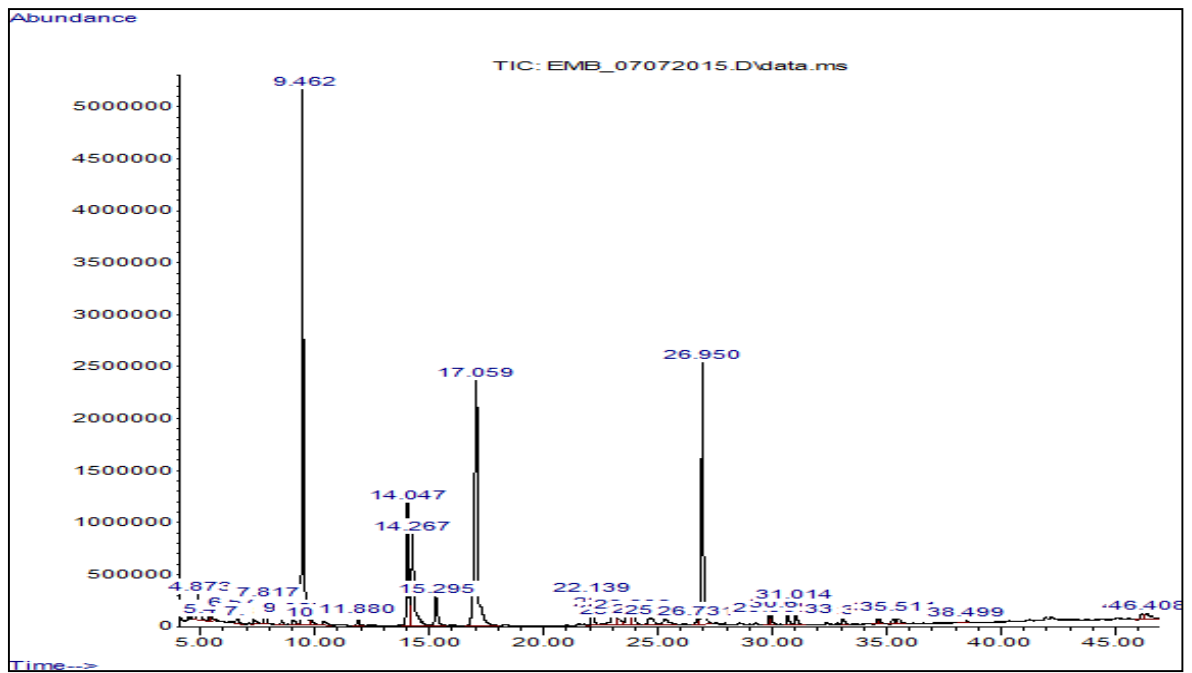
PROFILS CHROMATOGRAPHIQUE DE LA GC-MS



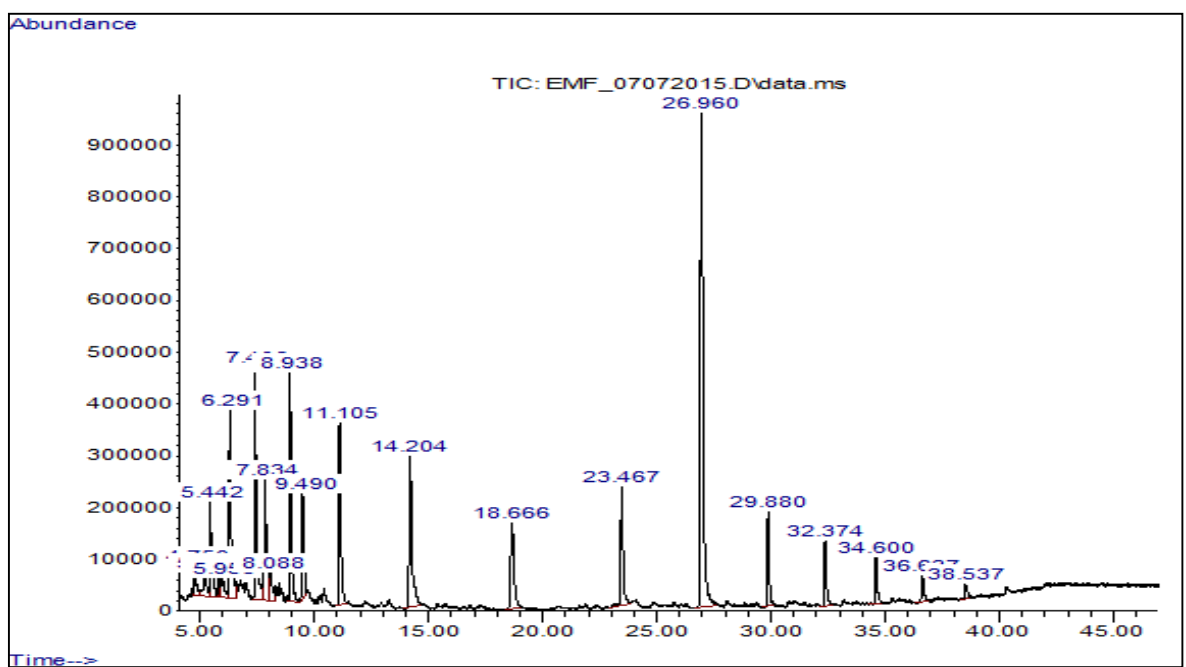
Chromatogramme de l'extrait éthérique de bulbes (EEPB) de *A. triquetrum*



Chromatogramme de l'extrait éthérique de feuilles (EFPF) de *A. triquetrum*



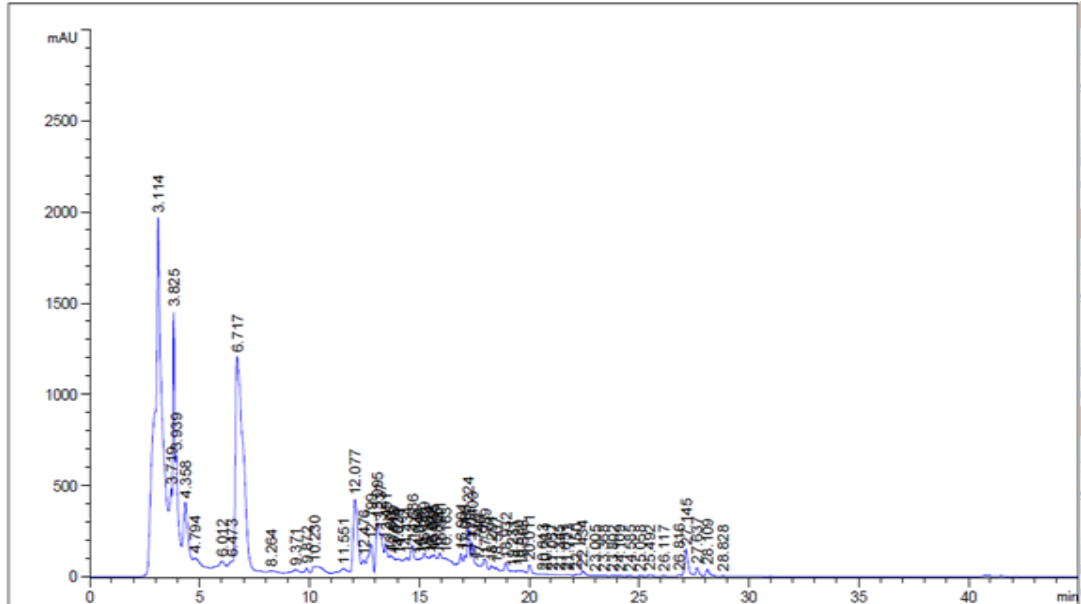
Chromatogramme de l'extrait méthanolique de bulbes (EMB) de *A. triquetrum*



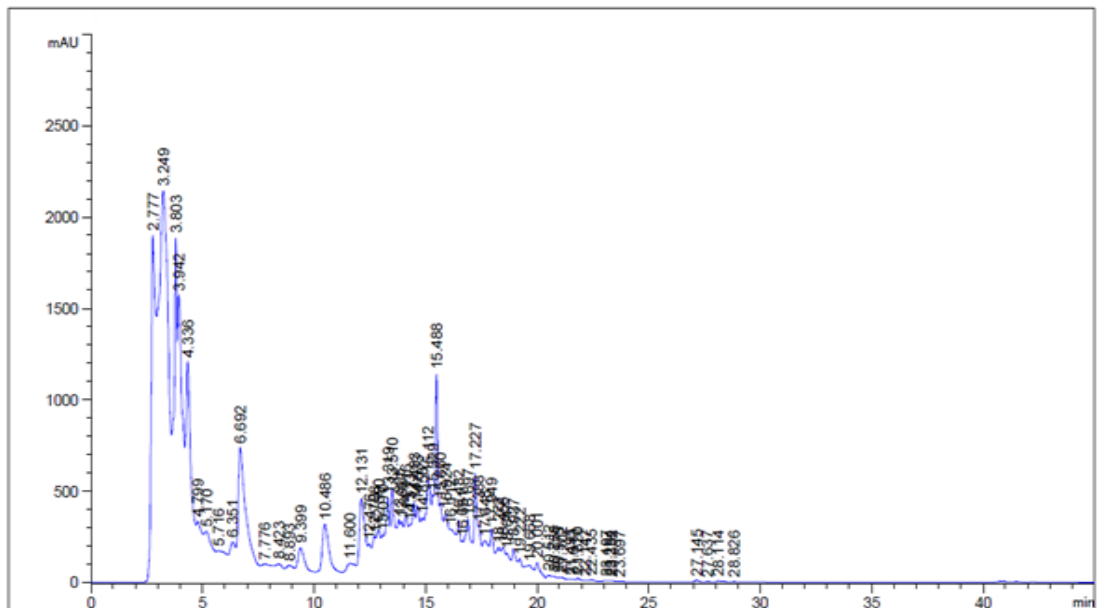
Chromatogramme de l'extrait méthanolique (EMF) de feuilles de *A. triquetrum*

APPENDICE F

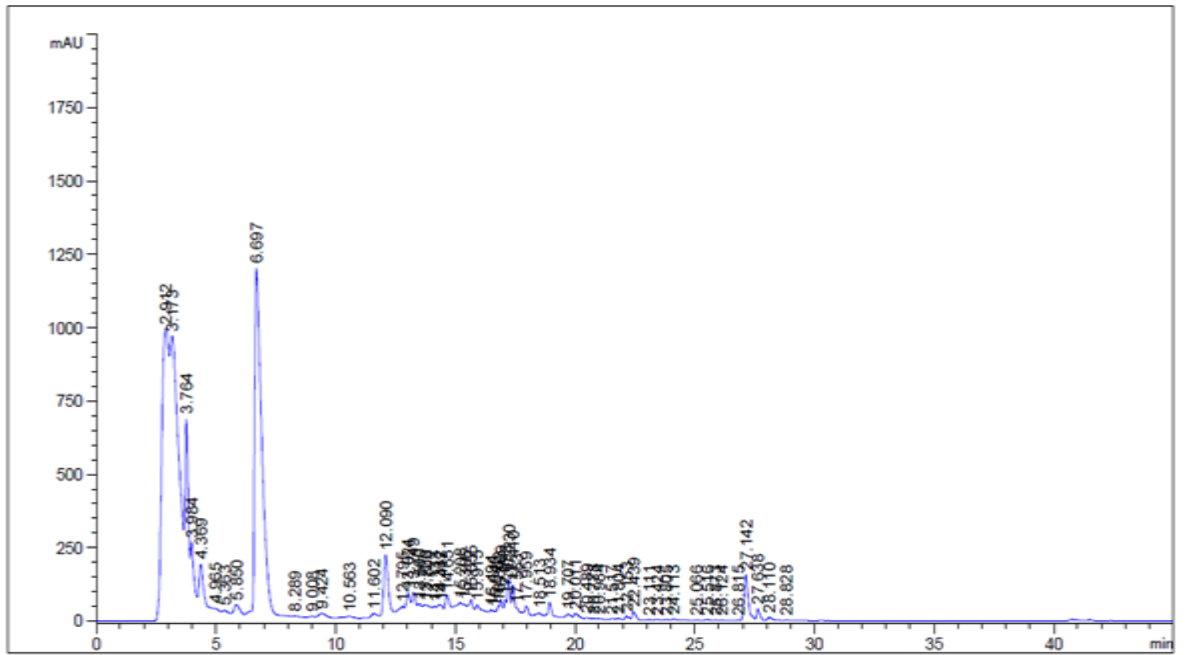
PROFILS CHROMATOGRAPHIQUE DE L'HPLC



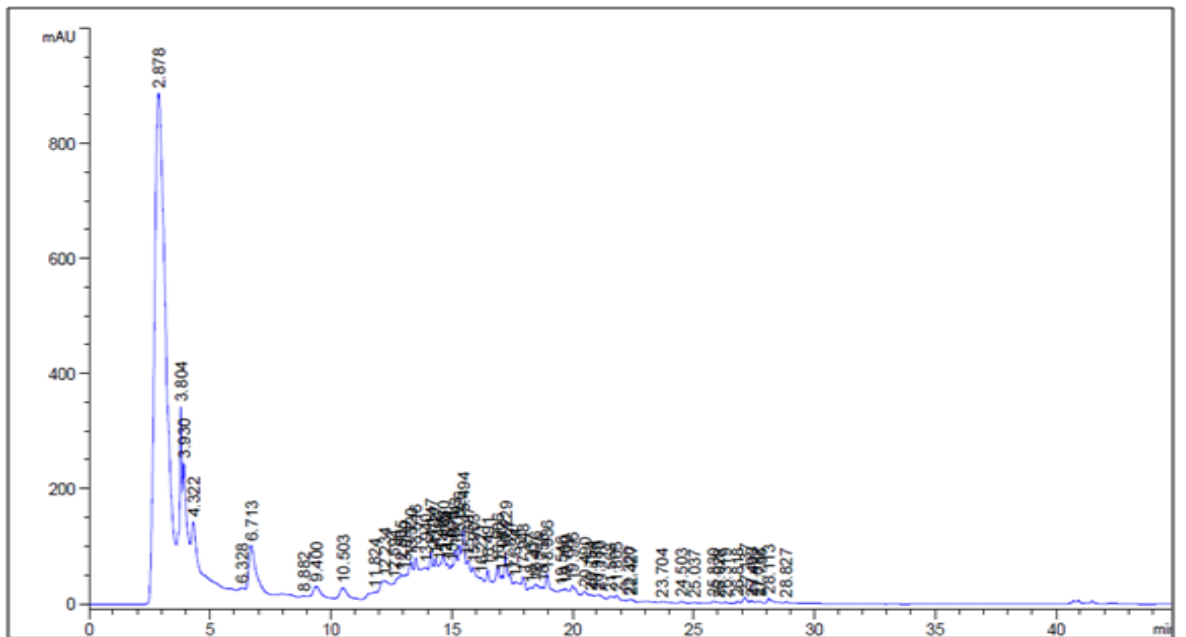
Chromatogramme de l'extrait méthanolique de bulbes (EMB) de *A. triquetrum*



Chromatogramme de l'extrait méthanolique de feuilles (EMF) de *A. triquetrum*



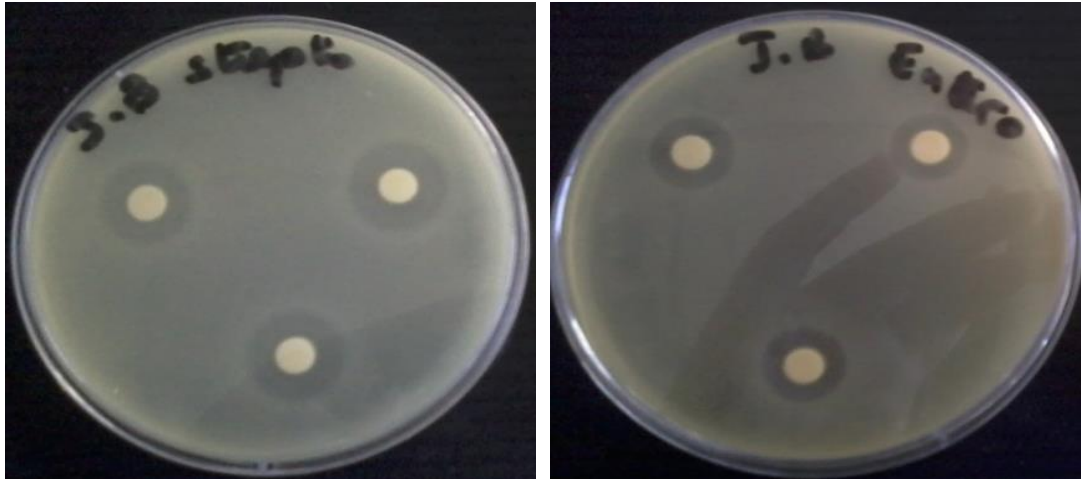
Chromatogramme de l'infusé de bulbes (IB) de *A. triquetrum*



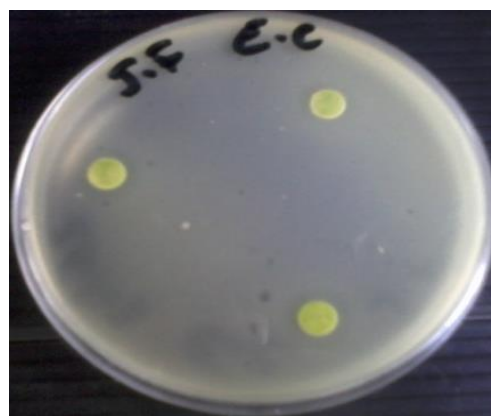
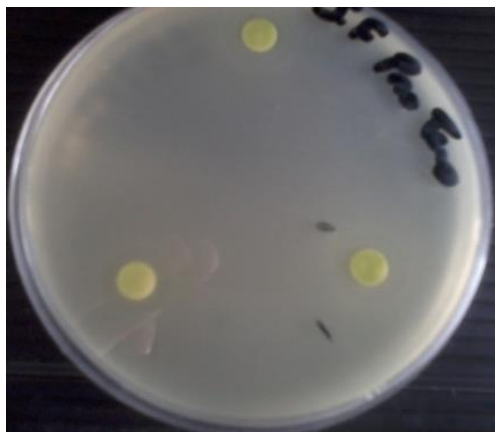
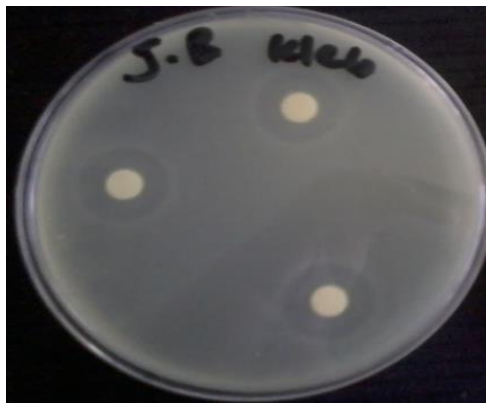
Chromatogramme de l'infusé de feuilles (IF) de *A. triquetrum*

APPENDICE G

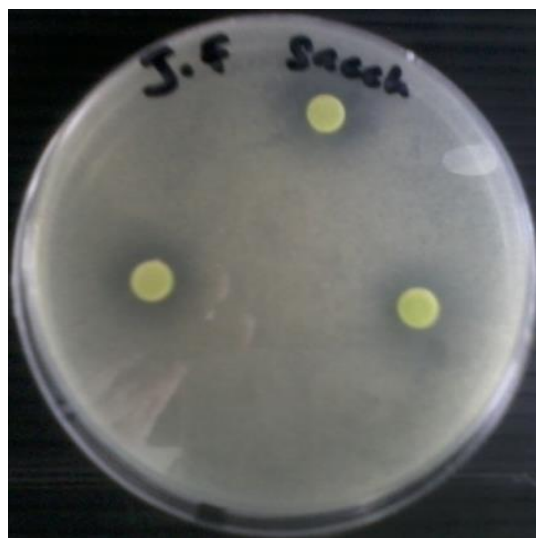
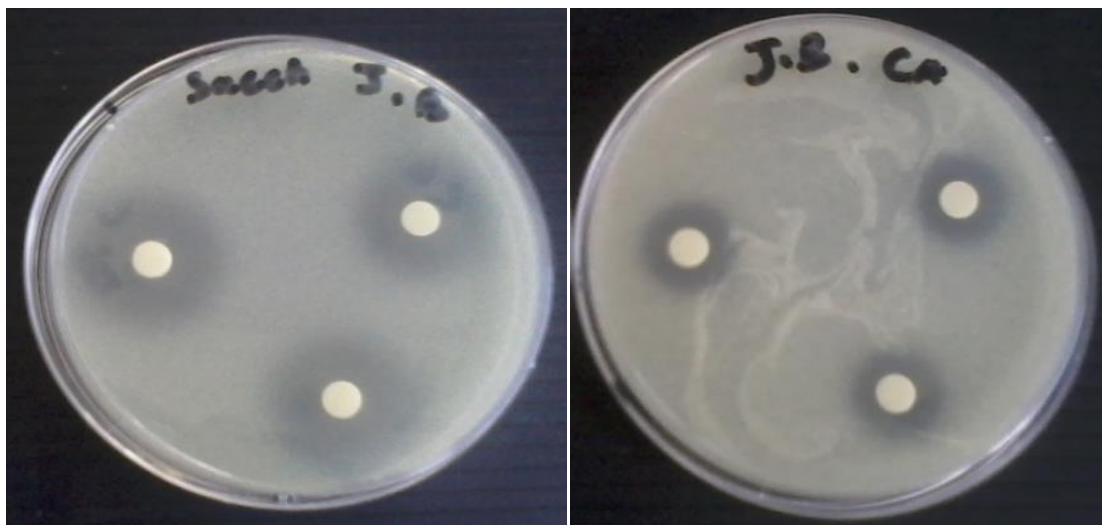
QUELQUES RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE



Les principaux résultats de l'effet inhibiteur des extraits d' *A. triquetrum* sur les bactéries Gram positif



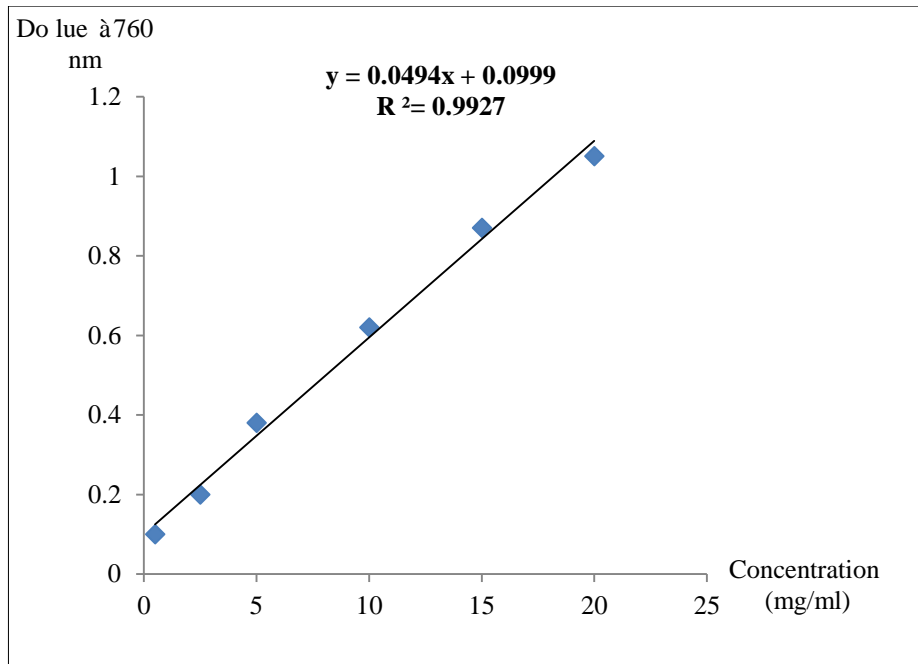
Les principaux résultats de l'effet inhibiteur des extraits d'*A. triquetrum* sur les bactéries Gram négatif



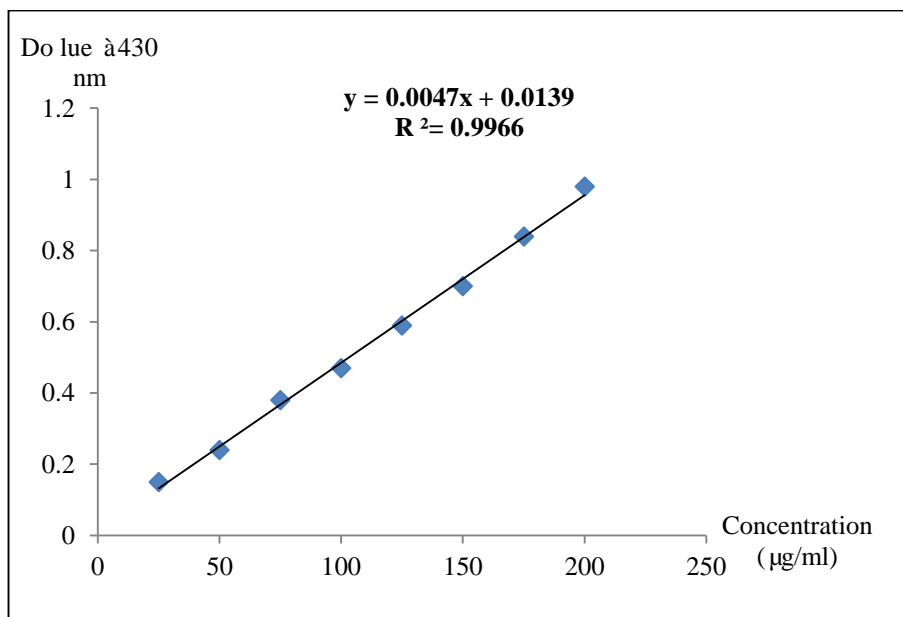
Les principaux résultats de l'effet inhibiteur des extraits d'*A. triquetrum* sur les levures

APPENDICE H

LES COURBES D'ETALONNAGE



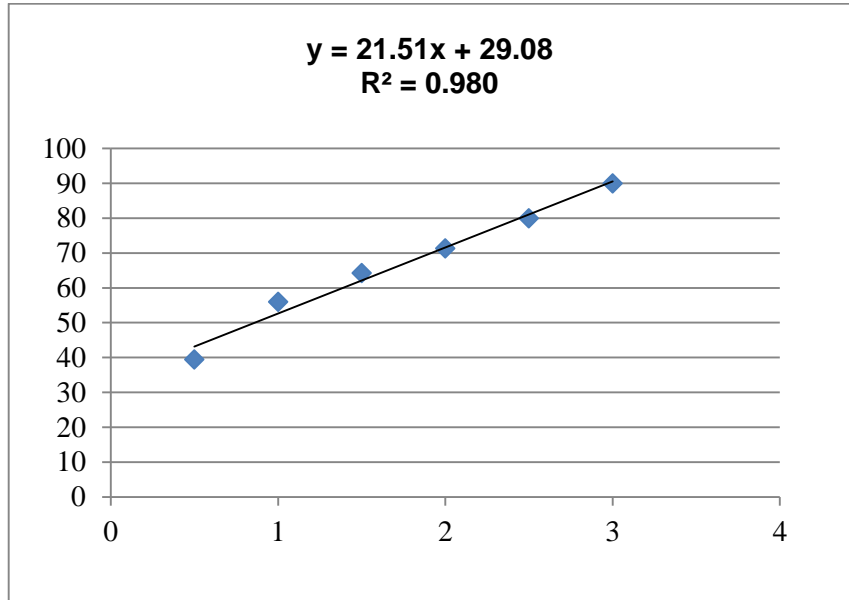
Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



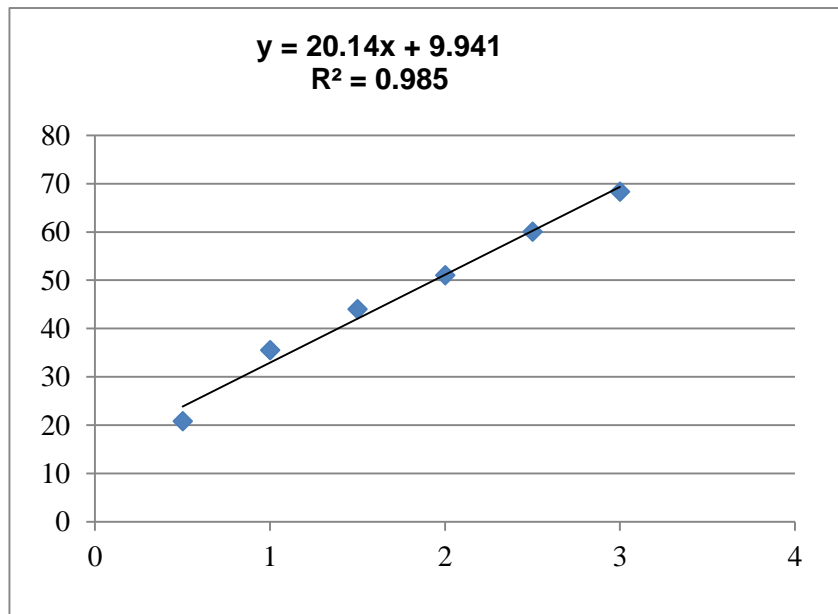
Courbe d'étalonnage de la quercétine

APPENDICE I

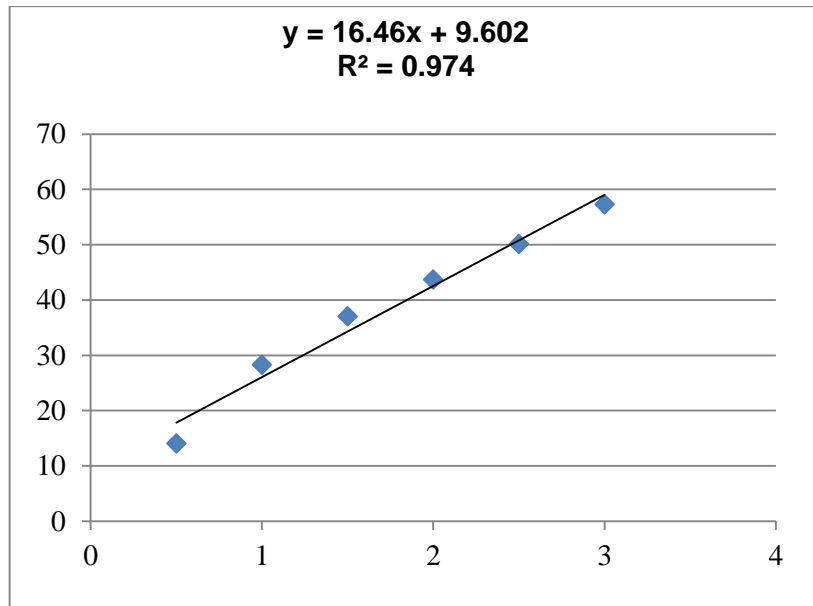
LES COURBES DE TENDANCE



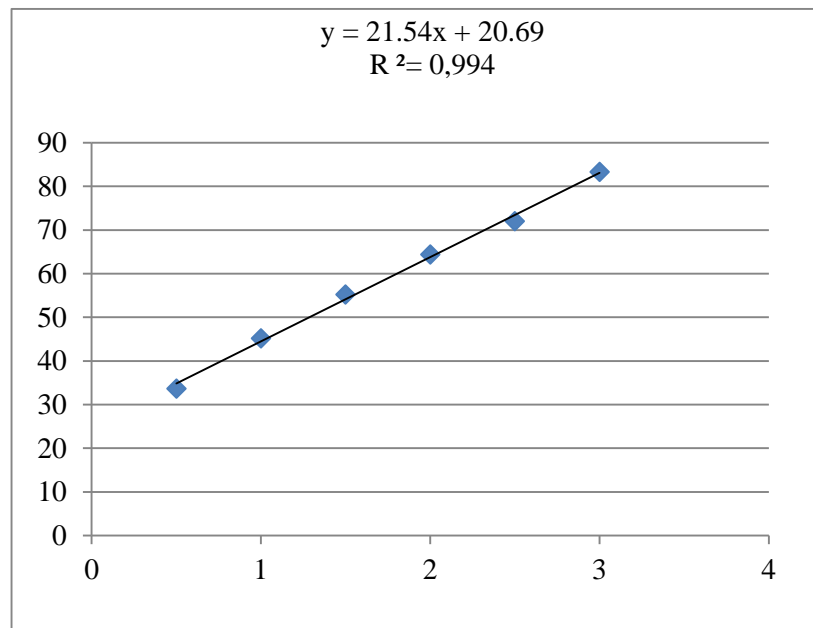
Courbe de tendance de l'IF



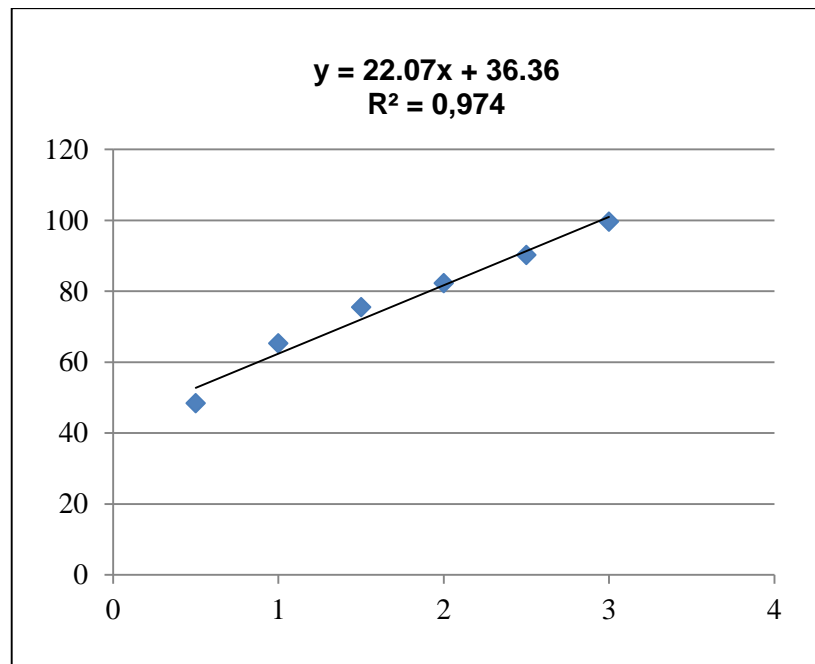
Courbe de tendance de l'EMF



Courbe de tendance de l'EMB



Courbe de tendance de l'IB



Courbe de tendance de l'AG