

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique

Université Blida 1



Faculté Des Science De La Nature Et De La Vie

Département Sciences alimentaires

Laboratoire de Recherche Sciences, Technologies Alimentaires et
Développement Durable

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master en

Spécialité : **Nutrition et Pathologie**

Filière : **Sciences Alimentaires**

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

**Etude physicochimique, nutritionnelle et activités biologiques de
*Ginkgo biloba L. (les feuilles)***

Présentée par :

Bouattou Rania

Devant le jury composé de :

BENZEKRI .Z	MCA	U. Blida1	Président
HADJADJ N	MCA	U. Blida 1	Examinatrice
BEN MANSOUR N	MCA	U. Blida 1	promotrice

Année 2021-2022

Remerciements

Je remercie tous d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la patience, la santé et pour m'avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma promotrice Docteur BENMANSOUR N, pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail je voudrais qu'elle trouve ici toutes mes connaissances pour ses encouragements, ses conseils, ses recommandations, le temps qu'elle m'a consacré et sa bienveillance je remercie vivement les membres de ce jury:

Docteur BENZEKRI Z, Enseignant au département d'agroalimentaire, Faculté des SNV, Université Saad Dahleb Blida 1 je suis très honorées que vous avez accepté la présidence du jury de ce mémoire.

Docteur HADJADJ N, Enseignante au département d'agro-alimentaire, Faculté des SNV, Université Saad Dahleb Blida 1, Merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire.

Je saisis cette occasion pour vous exprimer mon profonde gratitude tout en vous témoignant mon respect pour tous mes enseignants. Spécialement les enseignants qui ont contribué à notre formation en nutrition.

J'adresse mes profond remerciement aussi à l'équipe du laboratoire de la faculté des SNV pour leur aides qu'ils m'ont donnés et les efforts déployés pour faciliter mon travail et surtout pour leur gentillesse, en particulier l'ingénieure du laboratoire "elarbi.CH. "

Enfin je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

C'est avec l'aide et grâce de dieu que j'ai achevé ce modeste travail que

Je dédie :

*À la femme qui m'as donné la vie ma mère »**Rachida** »*

Pour moi tu es la raison de l'existence et un exemple de perfection, sans tes prières et votre soutien, je ne serais jamais arrivé Merci d'être là avec votre soutien, tendresse, encouragement et amour.

*À qui je me porte leur nom papa »**Mohammed** »*

Les mots ne peuvent pas m'aider à exprimer ma gratitude parce que je suis ta fille, vous m'avez toujours soutenu et encouragé, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

À ce qui a partagé ma peine avant ma joie ma chère sœur :

Farida

À l'homme qui m'a toujours soutenu et fait confiance :

Mon mari Mohammed

À tous mes enseignants tous ceux qui ont contribué de près ou De loin à la réalisation de ce travail et tous ceux ou celle qui m'aiment et que j'aime.

Résumé

Le travail visé à valoriser les vertus de *Ginkgo biloba L.* récoltée dans le jardin HAMMA d'Alger pendant le mois de Mai(2022). Il s'articule autour de Cinq parties : l'analyse physicochimique, screening phytochimique, dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique et aqueux des feuilles de *Ginkgo biloba L* et évaluer l'activité biologique des extraits métaboliques et aqueux.

Les analyses physicochimique effectuées sur les feuilles de *Ginkgo biloba L* ont révélé un PH acide et sa richesse en élément minéraux (teneur en cendre=7.32%),alors que L'examen phytochimique réalisé sur la poudre a révélé la richesse de l'extrait en composés phénoliques, des glucosides et des mucilages, stérols et terpènes.

Le dosage des poly phénols, dévoile 53.21mg d'équivalent d'acide gallique/g d'extrait dans l'extrait méthanolique de *Ginkgo biloba L.* Cependant l'extrait aqueux contient une teneur de 34.92mg d'équivalent d'acide gallique/g d'extrait.la détermination des taux de flavonoïdes révèle que l'extrait aqueux (0.212mg d'équivalent de quercétine/g d'extrait) est riche en flavonoïdes par rapport à l'extrait méthanolique (0.156 mg d'équivalent de quercétine/g d'extrait).

L'extrait aqueux pouvait ramener le radicale libre stable DPPH au diphenylpicryldrazine jaune-coloré avec un IC50 de 0,456mg/ml alors que l'IC50 de l'extrait méthanolique est 2,26mg/ml, l'extrait aqueux présent une activité antioxydant supérieur que l'extrait méthanolique et inférieur à celle de l'acide ascorbique (0,079mg/ml).donc l'extrait aqueux de *Ginkgo biloba L* exhibe une activité antioxydant importante.

La méthode d'antibièse a énoncé que *Les Staphylocoques aureus* se montre très sensibles vis-à-vis de l'extrait aqueux de *Ginkgo biloba L* avec des diamètres d'inhibition allant de 15 mm à 19 mm, tandis que l'extrait méthanolique inhibe faiblement les souches *Bacillus subtilis* (DI 10 mm) avec une concentration de 1000µg/ml. Alors que les *Aspergillus brasiliensis*, *Peudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* ne divulguent aucune sensibilité vis à vis des extraits de *Ginkgo biloba L*

Mots-clés : *Ginkgo biloba L*, Extrait aqueux et méthanolique, screening phytochimique, polyphénols totaux et flavonoïdes, activités antioxydants et antimicrobiennes.

Abstract

The work aimed at enhancing the virtues of *G. biloba* harvested in less than May(2022). it is structured around five parts: physicochemical analysis, phytochemical screening, Determination of total polyphenols and flavonoids in the methanol and aqueous powder extract of *G. Biloba* leaves by means of spectrophotometric assay study of antioxidant activity and antimicrobial activity of the methanol and aqueous extract from *G. biloba*. Physico-chemical analyses on the leaves of *G. biloba* revealed an acidic PH and its richness in water (H=7.76%) and mineral element (ash content=7.32%). Phytochemical examination of *G. biloba* powder revealed the richness of the extract in phenolic compounds (flavonoids, tannins, leucoanthocyanins and coumarin), glucosides and mucilages, sterols and terpenes. The results of the determination of polyphenols, reveal 53.21mg of Galic acid equivalent/g extract in the methanol extract of *G. biloba*. however the aqueous extract of *G. biloba* contains a content of 34.92mg of gallic acid equivalent/g extract. (0.212mg quercetin equivalent/g extract) is rich in flavonoids compared to methanol extract (0.156 mg quercetin equivalent/g extract).

The aqueous extract of *G. biloba* could return the stable free radical DPPH to yellow-colored diphenylpicryldrazine with an IC₅₀ of 0.456mg/ml while the IC₅₀ of the methanol extract is 2,26mg/ml, the aqueous extract has a higher antioxidant activity than the methanol extract and lower than the ascorbic acid (0.079mg/ml). Therefore, the aqueous extract of *G. biloba* exhibits an important antioxidant activity. The antibiosis method has stated that *Staphylococcus aureus* is very sensitive to aqueous extract of *G. biloba* with inhibition diameters ranging from 15 mm to 19 mm, while methanol extract of *G. biloba* weakly inhibits *Bacillus subtilis* strains (10 mm ID) with a concentration of 1000µg/ml. Whereas *Aspergillus brasiliensis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* do not disclose any sensitivity to *G. biloba*.

Keywords: *G. biloba*, Aqueous and methanol extract, phytochemical screening, total polyphenols and flavonoids, antioxidant and antimicrobial activities.

يهدف العمل إلى تعزيز مزايا الجنكة ببلوبا المحصودة من حديقة الحامة بالجزائر خلال شهر ماي (2022) و يتكون من خمسة أجزاء: الفحص الفيزيائي الكيميائي ، والفحص الكيميائي النباتي ، تحديد مجموع البوليفينول الكلي والفلافونويد في المستخلص الميثانولي

والمائي لأوراق الجنكة ببلوبا عن طريق dosage spectrophotométrique وتقييم الانشطة البيولوجية للمستخلصات الأيضية والمائية التي تم الحصول عليها من أوراق الجنكة

كشفت التحاليل الفيزيائية والكيميائية التي أجريت على أوراق الجنكة ببلوبا درجة الحموضة الحمضية وغناها بالعناصر المعدنية (محتوى الرماد = 7.32%). كشف الفحص الكيميائي النباتي الذي أجري على مسحوق الأوراق عن ثراء المستخلص بالمركبات الفينولية ، الجلوكوزيدات والصمغ ، الستيرولات والتربينات.

تكشف جرعة البوليفينول عن 53.21 ملغ من مكافئ حمض الجاليك / غرام من المستخلص في المستخلص الميثانولي للجنكة كم يحتوي المستخلص المائي على محتوى 34.92 ملغ مكافئ حمض الجاليك / غرام من المستخلص. تحديد مستويات الفلافونويد كشف أن المستخلص المائي (0.212 ملغ من مكافئ كيرسيتين / غرام من المستخلص) غني بمركبات الفلافونويد مقارنة بالمستخلص الميثانولي (0.156 ملغ كيرسيتين مكافئ / غرام من المستخلص)

يستطيع المستخلص المائي من الجنكة التقليل من الجذور الحرة المستقرة الى ثنائي فينيل بيكريل هيدرازين اصفر اللون مع

(0.456 ملغ/مل) في حين ان للمستخلص الميثانولي 2.26 ملغ/مل المستخلص المائي يظهر نشاط كبير كمضاد أكسدة مقارنة بالمستخلص الميثانولي وهو اقل من حمض الاسكوربيك

(0.079 ملغ/مل) اذا فان المستخلص المائي للجنكة يظهر نشاطا كبيرا كمضاد أكسدة اوضحت طريقة

تبدي حساسية اتجاه المستخلص المائي للجنكة بأقطار تثبيط Staphylocoques aureus أن antibiose (15مم الى 19 مم) بينما يثبط المستخلص الميثانولي بصفة ضعيفة سلالات

Bacillus

subtilis) DI 10 mm (بتركيز 1000ميكروغرام/مل في حين أن كل من) Aspergillus brasiliensis (

لم تظهر أية حساسية تجاه كلا المحلولين Escherichia coli , Peudomonas aeroginosa ,

الكلمات المفتاحية الجنكة ببلوبا المستخلص المائي والميثانولي الفحص الكيميائي النباتي البوليفينول الكلي والفلافونويد انشطة مضادات الاكسدة والميكروبات

Liste des figures

Figure N°	titre	page
i1	Arbre <i>Ginkgo biloba</i> L cultivée dans le jardin Hamma (photo originale)	3
i2	distribution de ginkgo biloba	4
i3	feuilles de G.biloba	5
i4	fruits de G.biloba	5
i5	Les structures des différents ginkgolides	6
i6	structure de bilobalide	7
i7	La structure des constituants de l'EGb 761	8
ii8	L'extrait aqueux	20
ii9	L'extrait méthanolique	20
ii10	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	25
ii11	Courbe d'étalonnage de la quercétine	26
ii12	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	26
iii13	pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique	39
iii14	pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux de G.biloba	39
iii15	pourcentage d'inhibition d'extrait méthanolique de G.biloba	40
iii16	IC50 de l'acide ascorbique, extrait méthanolique et l'infusé de la poudre des feuilles de G.biloba	41
iii17	Diamètres d'inhibitions (mm) de l'extrait méthanolique de G.biloba	43
iii18	Diamètres d'inhibitions (mm) de l'extrait aqueux de G.biloba	44
iii19	d'inhibition de différents extraits de Ginkgo biloba	45
iii20	Criblage de susceptibilité antibactérienne d'extraits de feuilles de Ginkgo biloba	45

Liste des tableaux

Tableau N°	titre	page
i1	Valeur nutraceutiques du ginkgo biloba	10
ii2	06 souches de référence	19
ii3	screening phytochimique	23
iii4	les résultats des paramètres physicochimiques	32
iii5	paramètre physicochimiques de <i>l'Artemisia campestris</i> récoltée dans différents région	32
iii6	résultats du screening phytochimique du G.biloba récolté dans la région d'Alger	33
iii7	screening phytochimique des extraits des feuilles du G.biloba récoltée dans différentes région	36
iii8	résultats de dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes condensés dans l'extrait de G.biloba	37
iii9	dosage des flavonoïdes et des poly phénols dans les extraits du G.biloba récoltée dans différentes régions	38
iii10	activité antioxydant IC50 des extrait méthanolique et aqueux des feuilles de G.biloba récoltée dans différentes région	42
iii11	Estimation de la sensibilité des souches	42

Liste d'Abréviations :

- **DPPH** :diphényle-pocrylhydrazyle
- **EM** : extrait méthanolique
- **EA** : extrait aqueux
- **MPN** : 4'-O-méthylpyridoxine
- **PAF** : Platelet Activating Factor
- **BB** : Bilobalide
- **GBE** : l'extrait de ginkgo biloba

Glossaire :

- **Antioxydant** : est un agent qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres.
- **Hypoxie** : Diminution de la quantité d'oxygène que le sang distribue aux tissus
- **Ischémie** : Anémie locale, arrêt ou insuffisance de la circulation du sang dans un tissu ou un organe.
- **Phytomédicaments** : sont des médicaments avec mention de l'indication ne contenant comme principes actifs qu'une ou plusieurs substances végétales ou préparations végétales et qui ne sont pas classifiables dans les médicaments de la médecine complémentaire
- **Carcinogénèse** : Processus de formation d'un cancer.
- **Apoptose** : Processus physiologique de mort cellulaire programmée.

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I : Espèce <i>Ginkgo biloba L.</i>	03
I.1-Généralités sur la <i>Ginkgo biloba</i>	03
I.1.1-Définition	03
I.1-2-Origine et distribution de <i>Ginkgo biloba L.</i>	03
I.1-3-Description botanique	04
I.1.4.Composition chimique	06
I.1.5-Valeur nutraceutiques de <i>Ginkgo biloba L.</i>	09
I.1.6.-L'utilisation de <i>Ginkgo biloba L.</i>	11
I.1.7.-Effet thérapeutique de <i>Ginkgo biloba L.</i>	11
I.1.8.Effets antioxydants	12
I.1.9.Prévention des maladies neurodégénératives	12
I.1.10.Effets cardioprotecteurs	13
I.1.11-Effets anti-obésité	13
I.1.12. Effet anti-inflammatoire	13
I.1.13.Effets indésirables	14
I.1.14.Les travaux antérieurs sur l'espèce <i>G.biloba L.</i>	14
Chapitre II : matériel et méthodes	18
II.1. Lieu de stage	18
II.2. Objectif du travail	18
II.3-Matériel	18
II.3.1. Matériel non biologique	18
II.3.2 : Matériel biologique	18
II.4-Méthodes	19
II.4.1-Préparation de la poudre	19
II.4-2-Préparation des extraits	19
II.4.3-Méthode d'analyse physicochimique	20
II.4.4-Screening phytochimique	22
II.4-5-Caractérisation quantitative des extraits	25
II.4.6.Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH	26
II.4.7.Etude du pouvoir antimicrobien	27
Chapitre III: résultats et discussions	31
III.1.Caractérisation physico-chimique	31

III.2.Screening phytochimique	32
III.3-Dosage des poly- phénols totaux et des flavonoïdes	36
III.4-Détermination du pourcentage d'inhibition du radical DPPH	39
III.5 : Evaluation de l'activité antimicrobienne	42
Conclusion	43
Références bibliographique	45
Annexe	55

Introduction

Les médicaments à base de plantes sont utilisés depuis plus de 1000 ans et ils sont l'une des sources les plus favorables de nouveaux médicaments.

Ginkgo biloba L. (famille : Ginkgoaceae) est une source essentielle de nouveaux médicaments à base de plantes contenant de nombreux constituants bioactifs à efficacité thérapeutique. Cette espèce végétale est ancienne, à feuilles caduques, haute et forte. Feuilles en forme d'éventail, à lobes irréguliers, et peut atteindre jusqu'à 40 mètres de haut. (Aacute et al, 2015)

G. biloba est clairement classé dans le règne végétal, et cette plante est souvent qualifiée de "plante à feuilles", elle est l'une des plus anciennes plantes à graines (Mohanta et al 2012). Après l'explosion de la détonation de la bombe atomique à Hiroshima, au Japon, en 1946 *G. biloba* a été la première plante à germer. Les micro-organismes, les polluants chimiques, les insectes, et les facteurs environnementaux ont peu d'effet sur la survie des espèces. (Wang et al ,2015)

Le criblage phytochimique des feuilles de *G.biloba* a permis d'identifier plusieurs agents bioactifs tels que les flavonoïdes, stérols et terpènes et les coumarines. Ces molécules possèdent des propriétés pharmacologiques telles que anti-inflammatoires, immunostimulantes, anti-convulsivantes, antioxydants et antihypertension. (Badore et al, 2017)

G. biloba est utilisé comme plante médicinale traditionnelle depuis plus de 2000 ans en Chine et dans d'autres régions du monde et est actuellement cultivé en Europe, en Asie, en Argentine, en Amérique du Nord et en Nouvelle-Zélande (Belwal et al 2019). De nombreuses recherches portant sur cette plante ont montré des avantages thérapeutiques prometteurs, comme le traitement de l'asthme, la tuberculose, les problèmes de peau, les troubles gastriques, bronchite, perte d'audition, nervosité, artériosclérose, les cardiopathies ischémiques et le diabète.. (Wang et al ,2015)

Dans ce contexte, et afin de mieux apprécier la qualité biologique des extraits des feuilles de *Ginkgo biloba L.* la présente étude se base sur la valorisation de cette espèce prélevée du jardin Hama. Pour ce faire nous avons procédé à une caractérisation de quelques paramètres physicochimiques des échantillons des feuilles de *Ginkgo biloba L.* Le dosage des métabolites secondaires plus particulièrement les poly phénols et les flavonoïdes, . Aussi nous avons évalué l'activité biologique des extraits des feuilles : activité antioxydant des extraits par la méthode DPPH et action antimicrobienne des extraits vis-à-vis de 06 souches microbiennes de référence : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa* , *Aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans*

Notre thèse est structurée de façon classique en trois chapitres. Le premier chapitre portant sur une synthèse des données relatives à notre thématique. Le second chapitre décrit les démarches méthodologiques, Dans le troisième chapitre, la discussion des résultats obtenus est rapportée.

Enfin, une conclusion relatant l'essentielle des résultats, accompagnée de perspectives concluant notre manuscrit

Chapitre I: *Ginkgo biloba* L.

I.1-Généralités sur la *Ginkgo biloba L.***I.1.1-Définition**

La Ginkgo biloba L. est la plus ancienne espèce d'arbre vivant au monde, arbre dioïque à feuilles caduques D'origine orientale, il est caractérisé par des organes reproducteurs particuliers et par un fruit d'odeur nauséabonde (un ovule fécondé à arille pulpeuse).il est cultivé dans le sud-ouest de la France et aujourd'hui, il est largement planté aux États-Unis, tant pour sa valeur ornementale que pour sa capacité à résister aux insectes et à la pollution.(Pasteur, 2013).(figure i1)

Nom Latin: *Ginkgo biloba L*

Nom anglais: Ginkgo

Synonymes : Arbre aux Ecus

Partie utilisée : Feuilles (Decock, 2019)



Figure i1 : Arbre *Ginkgo biloba L* cultivée dans le jardin Hamma (photo originale)

I.1-2-Origine et distribution de *Ginkgo biloba L.*

L'arbre *G. biloba* Originaire du sud-est de l'Asie (Chine, Corée, Japon), originaire de Chine, du Japon et de Corée, est distribué par la culture dans de nombreuses régions d'Europe, Amérique et dans les régions tempérées de l'Argentine et de l'Inde. Son nom provient du

chinois *yin-kuoou* encore *yin-hsing* (*yin* : argent, *hsing*: abricot), finalement transcrit *gin-kyo* puis *ginkgo* dans une graphie imprudente mais validée. (Dong et al, 2020) (Figure i2)

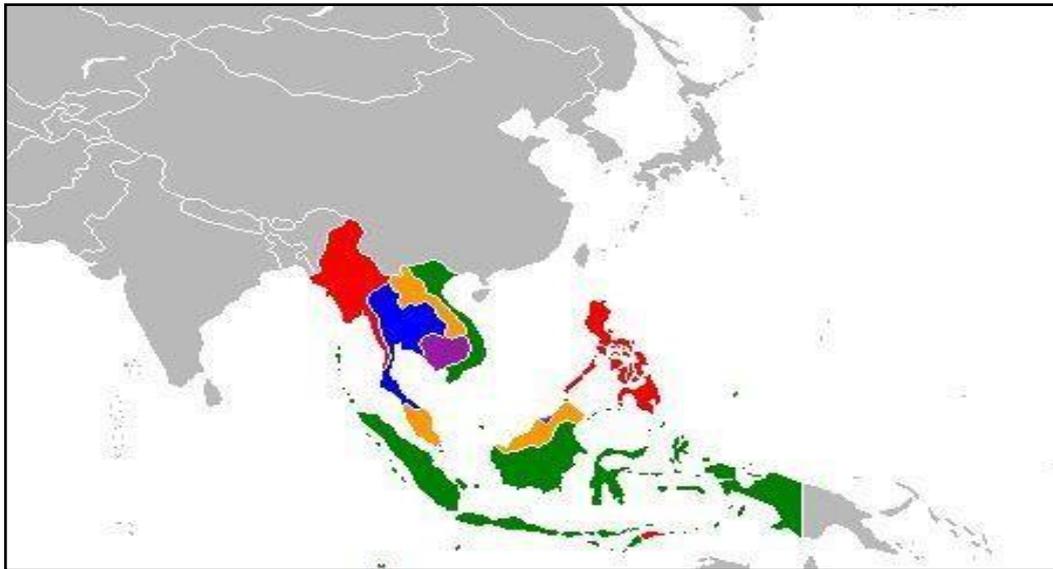


Figure i2 : distribution de *Ginkgo biloba* L.

I.1-3-Description botanique

Cette espèce végétale est ancienne, haute et forte, avec des feuilles en forme d'éventail, irrégulièrement lobées, hauteurs jusqu'à 40 mètres. Il s'agit d'une espèce dioïque, c'est à dire qu'on distingue le ginkgo femelle (plus trapu et plus large il porte des gros ovules à pulpe orange) et du ginkgo mâle *G. biloba*. C'est l'une des plus anciennes plantes à graines. Après le l'explosion d'une bombe atomique à Hiroshima, au Japon, en 1946.(Mingeon, 2014).

- **Les souches mâles et femelles**

La Ginkgo est une espèce dioïque, il existe donc des souches mâles et des souches femelles. L'inflorescence mâle présente sous la forme de chatons cylindriques contenant les sacs polliniques et assurant la reproduction. L'inflorescence femelle est reconnaissable, elle porte deux petits ovules libres, ovales, jaune/vert, qui, lorsque la fécondation à lieu, donne un ovule à la texture d'une drupe et a une odeur nauséabonde caractéristique lorsqu'il est écrasé. La distinction entre les plans femelles et mâles n'est pas chose aisée lorsqu'ils sont jeunes, on ne peut donc pas savoir quel adulte nous obtiendrons avant la floraison (Cadet, 2017).

- **L'écorce**

L'écorce, elle évolue avec le temps, en passant du brun au gris, du lisse au fendillé puis sinueux (Cadet, 2017).

- **Les feuilles**

Les feuilles vertes du ginkgo sont typiques et permettent une reconnaissance facile de cet arbre. En forme d'éventail, elles se composent de deux lobes, feuille bilobée, ce qui donne le nom à l'espèce biloba. Le long pétiole est le point de départ de minces nervures parallèle sillonnant la feuille, il n'y a pas de nervure centrale et peut atteindre dix à quinze centimètres de long. Elles sont caduques et changent de couleur en automne en prenant une vive couleur jaune d'or (Cadet, 2017) (figure i3)



Figure i3 : feuilles de *G.biloba L*

- **Les fruits**

Les fruits sont caractérisés par une odeur désagréable. Il s'agit en fait de drupes charnues résultant de la fécondation d'un ovule : ils ne sont portés que par les arbres femelles (Figure i4) (Mingeon, 2014).



Figure i4 : fruits de *G.biloba L.*

- **-Nom botanique**

Cette plante appartient:

A la classe des Gymnospermes,

A l'ordre des Ginkgoales,

A la famille des Ginkgoaceae,

Au genre **Ginkgo**,

Et à l'espèce *biloba* L (Cadet, 2017).

Composition chimique

- **Flavonoïdes**

110 flavonoïdes ont été identifiés dans un extrait de Feuilles de *G. biloba*. Ces flavonoïdes présentent des propriétés antioxydants Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits et les légumes. Des boissons telles que le vin rouge, le thé et le café en contiennent également des quantités importantes. Les flavonoïdes sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales (Ghedira, 2005).

- **Terpénoïdes.**

Dix lactones diterpénoïdes ont été découvertes, connues sous le nom de ginkgolides Q, P, N, M, L, K, J, C, B et A, Le ginkgolide A est un antagoniste efficace du PAF, qui est un messager dérivé des phospholipides qui est impliqué dans la réponse immunitaire à l'infection et aux dommages neuronaux dus à l'ischémie. Les lésions inflammatoires provoquent une augmentation de la production de PAF, qui peut agir comme message endocrine ou paracrine pour induire des protéines inflammatoires par activation dur récepteur du PAF (PAFR), Le ginkgolide B est médiateur impliqué dans de nombreux processus tels que l'agrégation plaquettaire, la formation de thrombus ou encore l'allergie. Les ginkgolides exercent également une activité anti-inflammatoire. (Zhang et al, 2020)

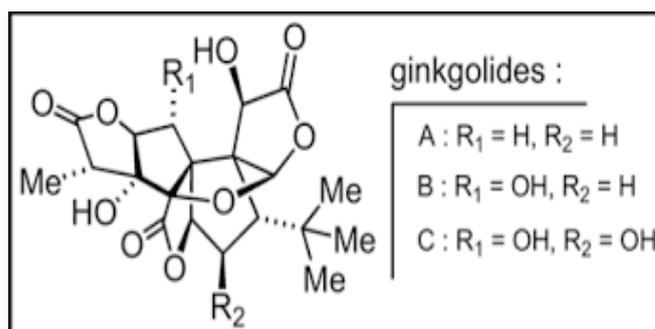


Figure i5 : Les structures des différents ginkgolides

- **le bilobalide**

Le BB est un terpène trilactone de *G. biloba*, similaire structurellement aux ginkgolides le BB a montré des propriétés bénéfiques. Des études récentes soutiennent les propriétés anti-inflammatoires du BB grâce à la réduction de l'inflammation neuronale induite par l'hypoxie. (Nash & Shah, 2015)

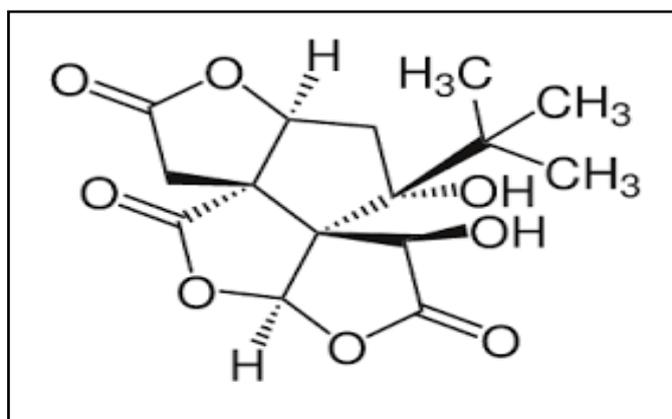


Figure i6 : structure de bilobalide

- **Alkylphénols et acides alkylphénoliques.**

Les alkylphénols peuvent être divisés en cinq groupes : les cardols, les cardanols, les α -hydroxycardanols, les urushiols et les isourushiols. Ces constituants chimiques de *G. biloba*. Bien que les acides ginkgoliques soient connus pour être toxiques. (Montoro et al, 2009)

- **-acides carboxyliques**

Les acides carboxyliques qui ont été identifiés chez la *G. biloba* comprennent l'acide férulique, l'acide p-coumarique, l'acide protocatéchuique, l'acide caféique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide m-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'acide isovanillique, l'acide gallique et l'acide sinapique. (Wang et al, 2021)

- **-Lignanes.**

Des lignanes ont été identifiées dans les racines de *G. biloba* en 2015 et dans les graines de *G. biloba* en 2018. Les lignanes obtenues à partir de *G. biloba* présentent des propriétés antioxydants. En 2018, des lignanes ont également été découverts dans GBE. (Wang et al, 2021)

- Polysaccharides.

Il est qu'ils composés de glucose, de rhamnose, de mannose, d'arabinose et de galactose. (Okhti et al, 2021)

- Autres

Le composant toxique 4'-O-méthylpyridoxine (MPN) a été découvert pour la première fois dans les graines de *G. biloba*. ils sont responsables d'effets secondaires tels que des pertes de conscience et la paralysie des jambes. (Tewari et al, 2015).

- -L'extrait de *Ginkgo biloba*(EGb761)

Les extraits de feuilles de *Ginkgo biloba* sont utilisés en thérapeutique depuis des siècles dans la médecine traditionnelle chinoise. Les feuilles et les fruits sont recommandés pour traiter les problèmes cardiaques et pulmonaires.

L'EGb 761 est un extrait sec en poudre préparé à partir de feuilles de *Ginkgo biloba*. Il s'agit d'un mélange normalisé de plusieurs constituants chimiques différents; ses deux principales classes de composés sont les glycosides flavonoïdes et les Terpénoïdes.

La fraction flavonoïde est principalement composée de trois flavonols: la quercétine, le kaempférol et l'isorhamnétine, qui sont liés à un sucre. La fraction terpénoïde est composée de ginkgolide et de bilobalide (Packer, 1997).

L'extrait Egb761 décrit dans la pharmacopée européenne est l'extrait le plus utilisé dans la majorité des études publiées. Il est également retrouvé dans certains phytomédicaments à base de ginkgo tel que le tanakan et le Ginkor Fort. Il est standardisé à 22-27% de flavonoïdes,

2,6-3,2% de bilobalides et à 2,8-3,2% de ginkgolides (A, B ou C). En dehors de cet extrait, ces taux sont probablement très variables d'un produit à l'autre, notamment au niveau des compléments alimentaires (Cadet, 2017).

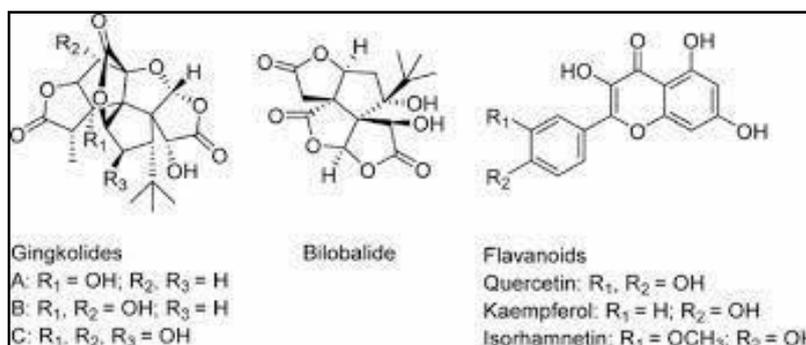


Figure i7: La structure des constituants de l'EGb 761

- **-Composés bioactifs de *Ginkgo biloba***

Les flavonoïdes et les terpénoïdes sont Les composants chimiques actifs trouvés dans les feuilles de *G. biloba*, et les extraits de plantes ont montré une variété d'activités pharmacologiques, y compris des activités anticancéreuses, antibactériennes, antioxydants, anti-inflammatoires, antiallergiques et cytotoxiques. (Gao et al, 2015),(Chan et al,2007)

I.1.5-Valeur nutraceutiques de *Ginkgo biloba* L.

Les nutraceutiques (également appelés phytochimique ou aliments fonctionnels) sont des composés chimiques bioactifs présents dans la nature qui ont des propriétés bénéfiques, telles que la promotion de la santé, la prévention des maladies ou d'autres effets médicaux. (Kumar et al, 2003)

Les nutraceutiques sont utilisés dans une large gamme de produits fabriqués par l'industrie pharmaceutique, l'industrie pharmaceutique/agroalimentaire récemment combinée, l'industrie alimentaire et le secteur des compléments à base de plantes et diététiques.les produits de *G.biloba* étaient parmi les médicaments les plus vendus par les détaillants d'aliments naturels aux États-Unis.les feuilles et les noix de ginkgo ont longtemps été utilisées comme aliment et médicament et ont été référencées pour la première fois dans les plantes médicinales vers 1350. (Tableau 01)

Les graines de *G. biloba* contiennent des niveaux élevés de vitamine C, de glucides, de riboflavine, de protéines et de divers autres nutriments les noix de ginkgo offrent des avantages pour la santé, tels que la prévention du cancer et le traitement des maladies neurologiques.(Hatano et al,2011)

Tableau i1 : Valeur nutraceutiques du *ginkgo biloba L.*(Pereira et al, 2013)

Les nutriments	Quantité dans 100g
calories	182kcal
calcium	2mg
Sodium	7mg
Potassium	510mg
zinc	0.34mg
magnésium	27mg
phosphore	124mg
eau	55.2g
cholestérol	0mg
serine	0.29g
proline	0.34g
glycine	0.23g
leucine	0.31g
glutamique	0.83g
histidine	0.1g
valine	0.28g
phénylalanine	0.17g
arginine	0.42g
cystéine	0.02g
alanine	0.24g
méthionine	0.05g
aspartique	0.54g
lysine	0.2g
isoleucine	0.2g
thréonine	0.26g
tryptophane	0.07g
tyrosine	0.06g
Vitamine C	15mg
Vitamine B1	0.22mg
Vitamine B2	0.09mg
Vitamine B3	0.16mg
Vitamine B6	0.328mg

I.1.6.-L'utilisation de *Ginkgo biloba L.*

L'amande (graine des fruits) de ginkgo est consommée en Asie, malgré sa toxicité potentielle. Elle renferme de la ginkgotoxine mais La cuisson détruirait la toxine.

Les plats populaires en Chine comprennent les œufs cuits à la vapeur au Ginkgo et le poulet frit au Ginkgo et le Cheng Teng est une friandise classique que l'on trouve en Asie du Sud Est (**Isah et al 2015**).

Les graines de *G. biloba* sont également couramment utilisées comme suppléments médicaux chinois conventionnels pour la prévention de la fièvre et pour traiter les troubles cutanés, les maux de dents et l'hyperactivité vésicale. Les graines de *G. biloba* sont couramment recommandées comme aliment fonctionnel pour la prévention des maladies neurodégénératives. Cependant, la présence de ginkgolique et les glucosides de ginkgotoxine, peuvent entraîner des carences en vitamine B6 et d'autres effets secondaires indésirables, empêcher les produits *G. biloba* de devenir quotidiens aliments (**Jang et al, 2015**). Les chercheurs ont commencé à explorer des méthodes pour réduire les niveaux de substances toxiques présentes dans les noix de *G. biloba* en utilisant diverses méthodes de traitement. Incubation des noix de *G. biloba* dans Na_2CO_3 (5 g/L) de à 15 °C pendant 3 h se sont révélées efficaces pour éliminer l'acide ginkgolique. De plus, les procédures traditionnelles de transformation des aliments, telles que la cuisson, l'ébullition et le chauffage par micro-ondes, peuvent également minimiser la toxicité des graines Parce que les graines de *G. biloba* peuvent être consommées comme nourriture et achetées librement sur les marchés. (**Liu et al, 2016**)

Les amandes grillées sont délicieuses et consommées lors des mariages en Chine et au Japon mais elles doivent être consommées avec modération car elles sont toxiques. Les feuilles lavées à l'eau bouillante puis gardées dans l'alcool servaient à améliorer la cicatrisation des ulcères et des ecchymoses, De nos jours, on utilise la feuille pour améliorer la microcirculation. (**Lieberman et al, 2017**)

Les feuilles de *G. biloba* sont utilisées en médecine traditionnelle chinoise pour traiter les problèmes neurologiques, les troubles circulatoires et les maladies respiratoires. Les feuilles de *G. biloba* sont également utilisées comme insecticides et engrais. (**Isah et al, 2015**). Les extraits de feuilles de *G. biloba* sont utilisés comme additifs alimentaires en raison de leurs avantages médicaux potentiels, qui ont captivé le marché mondial en raison de leur potentiel d'amélioration du bien-être. L'EGb 761 est un extrait commun utilisé dans plusieurs pays, dont les Etats-Unis, Allemagne, Chine et France et est commercialisé en Europe comme médicament pour le traitement des maladies cardiovasculaires. L'EGb 761 est distribué

Comme complément alimentaire à l'alimentation sous le nom commercial **Ginkgold**. (Belwal et al, 2019). Les noix de ginkgo ont toujours été utilisées pour traiter la toux, la fièvre, la diarrhée, les maux de dents, les maladies de la peau. (Isah et al, 2015).

I.1.7.-Effets préventives de *Ginkgo biloba L*

Il a été démontré que la *G. biloba* à un effet efficace sur les symptômes associés à la maladie d'Alzheimer, aux maladies cérébrovasculaires, aux accidents vasculaires cérébraux et aux maladies vasculaires périphériques. (Mahadevan et al, 2008).

Les essais expérimentaux prouvent que le GBE exerce une variété d'activités pharmacologiques, telles que la réduction du risque de maladie cardiovasculaire, la prévention de l'oxydation induite par l'ischémie, l'augmentation du débit sanguin cérébral, inhibition du développement des œdèmes cérébraux traumatique ou toxique et accélération de leur régression, Amélioration de la fluidité du sang, Action neuroprotectrice (ginkgolides A et B bilobalides), Piégeage des radicaux libres toxiques par les flavonoïdes, Amélioration de la mémoire et de la capacité d'apprentissage, aide à la compensation et les troubles de l'équilibre. (Napryeyenko et al, 2011), (Sasaki et al, 2002)

Effets antioxydants

Le principe sous-jacent de l'action préventive de l'extrait de feuille de Ginkgo sur les maladies chroniques (telles que les maladies neurodégénératives, les maladies cardiovasculaires et le cancer) s'est concentré sur ses propriétés antioxydantes. Les deux mécanismes d'action proposés sont le piégeage direct des radicaux libres et l'inhibition indirectement la formation de radicaux libres. L'extrait de feuille de Ginkgo peut piéger les espèces réactives de l'oxygène telles que les radicaux hydroxyles (OH), le radical peroxyde (ROO[•]), le radical oxyde nitrique (NO[•]) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). L'extrait de feuilles de ginkgo peut également renforcer les activités des enzymes antioxydantes tels que la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxy-glutathion peroxydase et la catalase. L'extrait de feuille de Ginkgo (EGb 761) est connu pour être régulateur et adaptatif, dilatant ou contractant les vaisseaux sanguins, ou contrôlant les substances neurochimiques. Les principaux constituants impliqués dans toutes ces actions sont les flavonoïdes (quercétine et kaempférol) et les terpénoïdes (ginkgolides et bilobalide), où chacun contribue différemment à leur propriété antioxydante. Les flavonoïdes sont connus pour exercer leurs effets par l'inhibition de l'enzyme cyclo-oxygénase-2, qui participe à la synthèse des prostaglandines, et son inhibition est connue pour réduire la carcinogenèse du côlon. Les bilobalides augmentent

l'activité des enzymes antioxydants (SOD et catalase) et améliorent la viabilité cellulaire. (Song et al, 2000).

Prévention des maladies neurodégénératives.

La maladie d'Alzheimer est une forme de démence qui détériore progressivement les capacités intellectuelle de divers domaines du cerveau, en particulier avec le vieillissement. La recherche a maintenant trouvé des liens entre maladie d'Alzheimer et le dépôt de peptide bêta-amyloïde (A β) (Ramassamy et al, 2007).

L'A β est un polypeptide de 39 à 43 résidus d'acides aminés qui est l'un des principaux composants des plaques séniles et des dépôts amyloïdes vasculaires du cerveau des patients souffrant de la maladie d'Alzheimer. L'extrait de feuilles de Ginkgo est connu pour inhiber la formation de l'A β à partir de la protéine β -amyloïde précurseur de la protéine β -amyloïde (APP), un processus crucial dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer. (Yao et al, 2004). La formation de la protéine précurseur de la protéine amyloïde a été indirectement liée à des taux élevés de cholestérol. Il a été postulé que l'inhibition de l'A β est due à la capacité de l'extrait de feuille de Ginkgo à entrer en compétition avec le cholestérol libre pour l'interaction avec A β , par conséquent, de diminuer leur agrégation. Par ailleurs, l'extrait de feuille de Ginkgo inhibe l'accumulation de ROS induite par A β (en particulier la quercétine, un flavonol). (Bastianetto et al, 2000)

Le flavonol et la quercétine ont réduit également l'apoptose des neurones, l'apoptose est considérée comme l'une des principales causes des maladies neurodégénératives et contribuent ainsi à soulager la maladie d'Alzheimer. Le ginkgolide B et le bilobalide sont signalés comme inhibant l'apoptose induite par staurosporine (médicament anticancéreux à base d'alcaloïde) (Ahlemeyer et al 2003).

Le bilobalide a également empêché la fragmentation de l'ADN due au radical hydroxyle β -amyloïde et au peroxyde d'hydrogène. En outre, la feuille de Ginkgo améliorerait le flux sanguin cérébral et elle a augmenté la durée de vie en raison de son action antioxydant en réduisant le stress oxydatif et la production de radicaux libres. (Yang et al, 2005)

Effets cardioprotecteurs :

Les effets cardioprotecteurs de l'extrait de feuille de Ginkgo sont dus à l'activité antioxydant, l'activité antiplaquettaire, par l'amélioration des fonctions contractiles et l'augmentation du flux sanguin par la libération d'oxyde nitrique et de prostaglandines ((Mahady 2002).

Effets anti-obésité

Le ginkgolide B a également réduit les taux plasmatiques de triglycérides (TG) et le poids corporel, le traitement avec le ginkgolide C a considérablement réduit l'agrégation lipidique améliore la lipolyse en augmentant la production de lipase TG adipeuse. **(Luo et al, 2017)**

Effet anti-inflammatoire

Les substances chimiques polyphénoliques trouvées dans la *G. biloba*, telles que les flavonoïdes, se sont avérées avoir des effets anti-inflammatoires. La toux, l'asthme et d'autres troubles pulmonaires sont traités depuis longtemps par le *G. biloba* dans la médecine traditionnelle chinoise. La *G. biloba* a été identifiée comme un aliment fonctionnel pour le traitement de l'inflammation des voies respiratoires. **(Chen et al, 2019).**

Effets indésirables

Il a été déterminé que la quatrième espèce la plus dangereuse était *G. biloba*. Les vomissements et la perte de conscience sont des symptômes associés à l'intoxication par les graines de *G. biloba*. Le produit chimique neurotoxique MPN, également connu sous le nom de ginkgotoxine, et son dérivé MPN glucoside sont les principales sources de toxicité. Le MPN est structurellement similaire à la vitamine B6 et entrave la synthèse, le métabolisme et les activités de la vitamine B6. Le MPN inhibe l'action enzymatique et l'activation de la vitamine B6 par la pyridoxal kinase, résultant carence en vitamine B6 et diminution de la synthèse de l'acide c-aminobutyrique (GABA). **(Fernandes et al ,2010)(Koch et al, 2013)**

Les travaux antérieurs sur l'espèce *G.biloba L.*

Les études entreprises jusqu'à présent sur la *G.biloba L* sont basées sur des activités Biologiques surtout sur les activités antimicrobiennes anti-inflammatoires et antioxydants de *ginkgo biloba* et sur la détermination de la composition chimique des extraites de *G.biloba* à partir de la poudre des feuilles. Les travaux scientifiques les plus cités sont :

Anita Pandey(2013) a déterminé l'influence de l'emplacement, de la variation saisonnière et du système de solvant dans la production de substances phytochimique et d'antioxydants à partir de feuilles de ginkgo. Les contenus phénoliques et flavonoïdes totaux et l'activité antioxydant dans les extraits de feuilles de ginkgo ont été estimés par spectrophotométrie. Une analyse factorielle a été réalisée pour corrélérer l'influence de l'emplacement, de la saison et du solvant sur la production de substances phytochimique et des antioxydants. Les contenus phénoliques et flavonoïdes totaux ainsi que les antioxydants

ont été estimés maximum en automne. Parmi les solvants, les extraits acétone/eau ont donné les meilleurs résultats en ce qui concerne les composés phénoliques et flavonoïdes, tandis que les extraits méthanoïques étaient les meilleurs pour les antioxydants.

Wuyuan Deng(2014) a utilisé La méthode du papier filtre pour étudier les effets antimicrobiens des extraits aqueux obtenus à partir des feuilles tombées du *Ginkgo biloba* sur les insectes communs. Les résultats ont montré que les extraits aqueux pouvaient inhiber toutes les souches testées à différents degrés. Différents degrés. Les extraits avaient la fonction antibactérienne la plus forte contre *Pseudomonas aeruginosa* et l'effet était plus important lorsque la concentration des extraits était plus élevée. Les extraits aqueux avaient une excellente stabilité thermique mais une faible stabilité aux ultraviolets.

Sati et al(2019) ont examiné l'effet de la méthode d'extraction sur la récupération des glucosides, flavonoïdes, des antimicrobiens et des antioxydants des feuilles de Ginkgo collectées dans six endroits différents de l'Uttarakhand, dans l'Himalaya indien. Quatre méthodes d'extraction, à savoir la macération, le reflux, l'agitation et le soxhlet, ont été considérées. Les extraits à reflux ont montré une activité antioxydant, antimicrobienne et une teneur en glucosides flavonoïdes plus élevées. Les standards de référence des glycosides flavonoïdes de Ginkgo (quercétine, kaempférol et isorhamnétine) et les extraits bruts ont été testés pour leur activité antimicrobienne contre les bactéries gram positives et gram négatives et les champignons selon la méthode de diffusion sur disques et la concentration minimale concentration minimale inhibitrice (CMI). Ils ont observé que tous les micro-organismes testés étaient inhibés de manière significative par les flavonoïdes de Ginkgo dans les essais sur plaque et ils ont confirmé que la méthode de reflux est une méthode potentielle d'extraction. En outre, l'activité antioxydant mesurée par l'essai DPPH s'est également avérée plus élevée dans la méthode à reflux. L'étude suggère donc que la méthode d'extraction par reflux est la meilleure pour une récupération maximale des glycosides flavonoïdes avec des propriétés antioxydants et antimicrobiennes plus élevées de l'extrait de Ginkgo.

Barbalho et al(2020) ont étudié les effets de ginkgo biloba sur les maladies liées au stress oxydatif. Cette plante régule l'expression des enzymes antioxydants positivement et réduit les espèces réactives d'oxygène et d'azote, contribuant à la réduction de la peroxydation des lipides.les résultats indiquent que *la Ginkgo biloba* ainsi que son extrait, a des propriétés bénéfiques pour la promotion de la santé en raison de sa vaste gamme propriétés inflammatoires et antioxydants.

Dridi et al(2021) ont réalisé une étude sur Vingt-quatre lapins de la race néo-zélandais de sexes mâle et femelle de la région locale wilaya de Tébessa. Les lapins qui ont été traités

avec une dose de 100 mg/kg de poids corporel de nitrite de sodium seul pendant six semaines ont montré des changements anatomiques différents d'un lapin à l'autre en fonction de la durée du traitement, et l'étude histologique a montré une inflammation et une fibrose du foie et des reins. Les lapins recevant 20 mg/kg de poids corporel de Tanakan pendant trois semaines après avoir reçu du nitrite de sodium pendant six semaines ont montré une amélioration de l'état du foie et des reins, avec une réduction de l'inflammation et de la fibrose dans les deux organes. Donc l'extrait de *Ginkgo biloba* a un grand potentiel thérapeutique pour améliorer l'état de la fonction rénale et hépatique et guérir l'inflammation et la fibrose causées par les nitrites.

Chapitre II : matériel et méthodes

Lieu de stage :

Dans le cadre de la valorisation et de la recherche d'éventuelles activités biologiques des extraits des feuilles de *Ginkgo.biloba* L. récoltée dans le jardin HAMMA d'Alger nous avons mené des analyses physicochimiques au niveau de laboratoire de contrôle de qualité et d'emballage de Diar el-bahri wilaya de Blida et laboratoire de PFE de l'université Blida 1, l'analyse antimicrobienne et les analyses de contrôle de qualité au niveau de laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.

La partie pratique s'est déroulée entre 27 mars 2022 et 23 juin 2022.

Objectif du travail :

Pour atteindre cet objectif notre étude est basée sur les analyses suivantes :

- Analyse physicochimique
- Dosage des poly phénols et des flavonoïdes
- Test de screening
- Activités Biologique (activité antioxydant : méthode DPPH et activité antimicrobienne : méthode antibiose))
-

II.3-Matériel**II.3.1. Matériel non biologique (voir annexe)****II.3.2 : Matériel biologique****II-3.2.1-Matériel végétal**

Le matériel végétal choisi dans la présente étude est représenté par les feuilles sèches du *Ginkgo biloba* L.

Les feuilles du *Ginkgo biloba* ont récoltées du jardin d'Essai EL HAMMA, sous forme fraîche elles ont été récupérées dans un sac propre pour servir ultérieurement à l'extraction. La plante a été authentifiée au niveau du département de botanique d'Institut National d'Agronomie (I.N.A.) d'Alger. Les plantes ont été au début de la matinée.

II.3.2.2 : Microorganismes utilisés :

Afin d'étudier le pouvoir antibactérien des Echantillons de G.biloba, nous avons utilisé des souches de référence. Ils sont obtenus par le laboratoire d'hygiène. Ces souches proviennent de l'Institut Pasteur d'Alger. Ils sont en tout 06 souches (voire **tableau ii2**)

Tableau ii2 : souches de référence

Nom de l'espèce bactérienne	Le numéro de code
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404

II.4-Méthodes :

II.4.1-Préparation de la poudre

Les feuilles de la plante fraîchement récoltée sont mis dans un local ombragé avec un plancher en bois (absorbe l'humidité) et laissée sécher et bien aéré pendant 20 jours.une fois les échantillons séchées ont été finement broyés à l'aide d'un broyeur électrique.la poudre obtenue est conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des flacons en verre stériles hermétiquement fermés.

Le séchage a pour but d'extraire des plantes l'eau qu'elles renferment pour assurer une bonne conservation, favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique, éviter la dégradation de certains constituants ainsi que la prolifération bactérienne.

II.4-2-Préparation des extraits

A-extrait aqueux

La préparation de l'extrait aqueux de 10% de notre plante est réalisée par additionnement de 10g de poudre de la partie aérienne à 100ml d'eau distillée bouillit, puis laissée 30 minutes en infusion avec agitation de temps en temps. L'extrait aqueux obtenu est ensuite centrifugé à 1000 tours/min pendant 10 minutes pour se débarrasser des débris de plantes puis filtré sur le papier filtre de type wattman N°3. Le filtrat est ensuite mis dans des petits flacons en verre (l'infusé) (Ljubuncic et al, 2005). **Figure ii8**

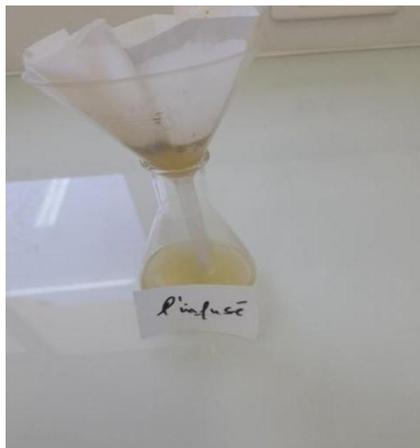


Figure ii8:l'extrait aqueux

B-l'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique de la plante a été préparé par prendre 10 g de poudre de feuilles séchées Avec ce 50 ml méthanol a été ajouté et conservé pendant 1 semaine avec agitation périodique (le matériau imbibé a été agité toutes les 18 h à l'aide d'une tige de verre stérilisée). Les extraits définitifs ont été transmis à travers le papier filtre. La mise en commun des extraits de méthanol ont été concentrés par évaporateur rotatif sous vide à 40°C, séché et stocké à 4 ° C dans des bouteilles hermétiques. Les solutions mères ont été préparées en dissolvant 5 mg extrait pur dans 20 ml de méthanol. (Jang, Y.S, et al, 2002) **Figure ii9:**

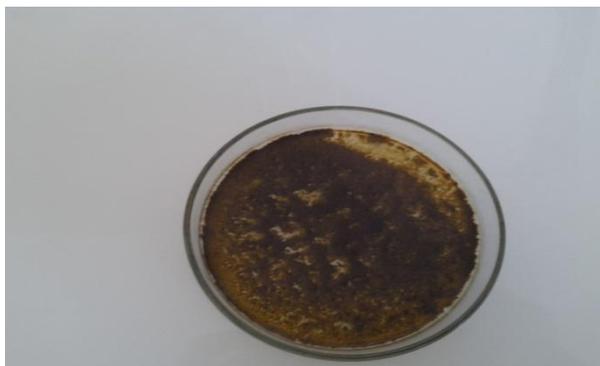


Figure ii9:l'extrait méthanoïque

II.4.3-Méthode d'analyse physicochimique.

❖ 2-3-1-détermination du PH (NF V05-108, juillet 1970).

-Principe :

La méthode est applicable aux liquide, épais congelés ou non et au produit secs après dilution appropriée.

-Mode opératoire :

- Etalonner le PH-mètre avec deux solutions au moins (acide et base)
- Placer 10g d'échantillon broyé convenablement, dans un bécher et ajouter au moins deux à trois fois son volume d'eau distillé
- Mélanger bien la solution pour quelle soit homogène
- Filtrer la solution
- Prolonger l'électrode dans le filtre

Expression des résultats

Lire directement le résultat sur le cadre du PH-mètre

❖ Taux d'humidité (NF T60-305, Juin1976)**-Principe**

Le taux des pertes pendant le séchage, c'est-à-dire l'eau et les matières volatiles est déterminé sur une partie aliquote de 1 g d'échantillon ou 2 g ou 3g ou 5g dans une capsule en porcelaine puis séché dans une étuve réglée à une température de 103 ± 2 °C ,jusqu'à obtention d'un poids constant.

-Mode opératoire

- Sécher des capsules vides à l'étuve durant 15 mn à 103 ± 2 °C ;
- Tarer les capsules après refroidissement dans un dessiccateur ;
- Peser dans chaque capsule 1 g d'échantillon ou 2g ou 3g ou 5g et les placer dans L'étuve réglée à 103 ± 2 °C pendant 3 heures ;
- Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans le dessiccateur et après refroidissement les peser.
- L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée de séchage à 30 mn) pour éviter la caramélisation.

Soit :

$$\mathbf{H\% = \left(\frac{M1 - M2}{P} \right) \times 100}$$

H % : Humidité + Matières volatiles.

M1 : Masse de la capsule + matière fraîche avant séchage en g.

M2 : Masse de l'ensemble après séchage en g.

P : Masse de la prise d'essai en g.

$$\text{Matières sèches} = 100 - H\%$$

❖ 2-3-3 -teneur en cendres (NF V 05-113, 1977)

Les cendres sont le résidu des composés minéraux qui reste après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques (AFNOR, 1977). L'estimation de cendres totales permet de juger la richesse en éléments minéraux du produit

-Principe

La poudre calcinée à 550 °C dans un four à moufle jusqu'à obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant.

-Mode opératoire

- Dans des capsules en porcelaine, on pèse 2 g de poudre
- On place les capsules dans un four à moufle réglé à 550 ± 15 °C pendant 5 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre. On retire les capsules du four, on les met dans le dessiccateur pour se refroidir et puis, on les pèse.

$$\text{Taux de cendres}\% = \left(\frac{M1 - M2}{P} \right) \times 100$$

Soit :

M1 : Masse des capsules + prise d'essai.

M2 : Masse des capsules + cendres.

P : Masse de la prise d'essai.

II.4.4-Screening phytochimique

Il englobe une série de méthodes colorimétriques qui permettent d'établir la présence ou l'absence de métabolites secondaires dans la plante à partir de sa poudre ou de l'infusé. Le screening aide à chercher : les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les tannins totaux, les tannins galliques, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les quinones, les coumarines et les mucilages. Le tableau montre la méthode appliquée à la recherche de chacun de ces métabolites secondaires. (Tableau III)

Tableau ii3 : screening phytochimique (Harbone, 1998 ; Raaman et al, 2006)

Métabolites secondaires	Méthodes	Résultat
glucosides	On mélange 2g de poudre de la plante avec quelques gouttes d'acide sulfurique (H ₂ SO ₄) concentré (96%)	l'apparition d'une couleur rouge-bleu
saponosides	Mélanger 2ml d'infusé avec 2 ml d'une solution d'acétate de plomb à 1%	Formation d'un précipité blanc
saponines	50 ml d'eau distillée et de 5g de poudre sont porté à ébullition modérée pendant 15 min. Après refroidissement, la solution est filtrée et ajustée à 50 ml avec de l'eau. Dans un tube à essai (de 160 X 16 mm), 10 ml du décocté précédemment préparé est introduit et une agitation dans le sens de la longueur pendant 15 secondes, à raison de deux agitations par seconde est pratiquée. On le laisse reposer pendant 15 min.	La formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm)stable et persistante pendant 15min, indique la présence des saponines
flavonoïdes	On met quelques gouttes de HCl concentré et 0,5 g de Mg dans 5ml de l'extrait méthanolique On laisse agir 3 minutes.	couleur orange ou rouge
tanins	On mélange 1ml d'extrait aqueux avec 1ml d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl ₃ diluée 10 %.	coloration verte foncée ou bleu-vert
anthocyanes	On mélange 5ml d'infusé avec 4 ml d'hydroxyle d'ammoniac (NH ₄ OH) concentré (30%).	Coloration rouge
terpènes	Mélanger 5ml d'acide phosphomolybdique et 5ml d'acide sulfurique concentré (96%) avec 5ml d'infusé.	apparition d'une couleur bleue
coumarines	Mettre 2g de poudre dans 20ml d'éthanol absolu. Bouillir pendant	Couleur rouge

	15 minutes à reflux puis refroidir et filtrer. Ajouter 10 gouttes de KOH et quelques gouttes de HCl concentré (37%) dilué à (10%) dans 2 à 3 ml de filtrat dilué dans l'éthanol (10%)	
mucilage	On introduit 1ml d'infusé dans un tube à essai, puis on ajoute 5 ml d'alcool absolu.	Précipité floconneux
quinones	Humecter 2g de poudre par 2 ml d'acide chlorhydrique+ 20 ml de chloroforme. Après 3 heures, le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque (1/2).	Coloration rouge
Leuco-anthocyanes	2 g de poudre+ 20 ml de propanol / acide chlorhydrique (1/1). Porter à ébullition au bain marie	Coloration rouge
Stérols et triterpènes	Le test de Liebermann- Burchard est utilisé pour la mise en évidence des stérols et terpènes. Une macération pendant 24 heures de 1g de poudre dans 20ml d'éther est pratiquée. La solution obtenue est filtrée et complétée à 20 ml avec de l'éther. 10 ml de l'extrait sont évaporés et le résidu est dissous dans 1 mL d'anhydride acétique puis 1 mL de chloroforme. Le mélange est partagé dans deux tubes à essai. Un volume de 1 à 2 ml de H ₂ SO ₄ concentré est introduit délicatement dans le fond du premier tube à essai à l'aide d'une pipette, le deuxième tube servant de témoin.	A la zone de contact des deux liquides, la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet

II.4-5-Caractérisation quantitative des extraits

❖ Dosage des polyphénols

But : détermination de la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait des feuilles du G.biloba par la méthode spectrophotométrie UV-Vis selon la méthode au réactif de FolinCiocaltu

Selon le protocole décrit par (Singleton et al, 1999). Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO_4^{2-}) phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon. Cinq cents microlitres (500 μ L) du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué à 10 % dans de l'eau distillée) ont été ajoutés à 100 μ L d'extrait. Quatre minutes après, 400 μ L de Na_2CO_3 (75 mg/ml), sont additionnées au mélange réactionnel. Après une incubation de 2 heures à température ambiante (30-35° C) et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 765 nm. La droite d'étalonnage est réalisée par l'acide gallique (20; 40; 80; 100 μ g/ml). Les concentrations des composés phénoliques ont été déterminées à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

Figure ii10

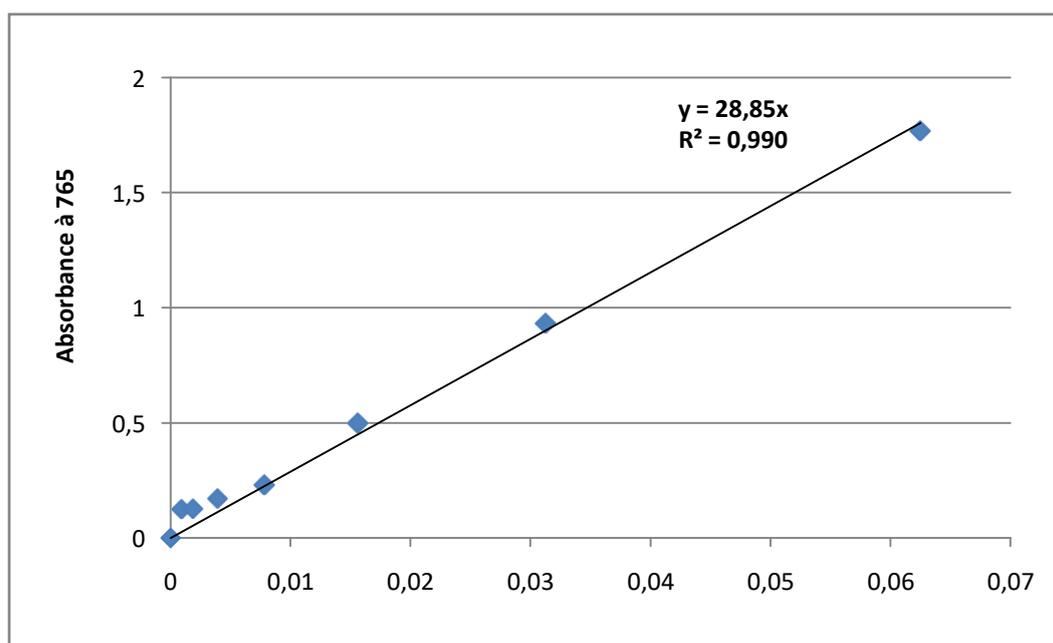


Figure ii10 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

❖ flavonoïdes :

Une quantité de 1 ml de chaque échantillon et de standard (préparée dans le méthanol) est ajoutée à 1 ml de la solution d' $AlCl_3$ (2 % dissous au méthanol). Après 10 minutes, l'absorbance a été mesurée par rapport au blanc préparé de réactif au $\lambda_{max} = 430$ nanomètres. Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la gamme de la courbe

d'étalonnage établis avec la quercétine. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine par g d'extrait. (Chang et al. 2002) **Figure ii11**

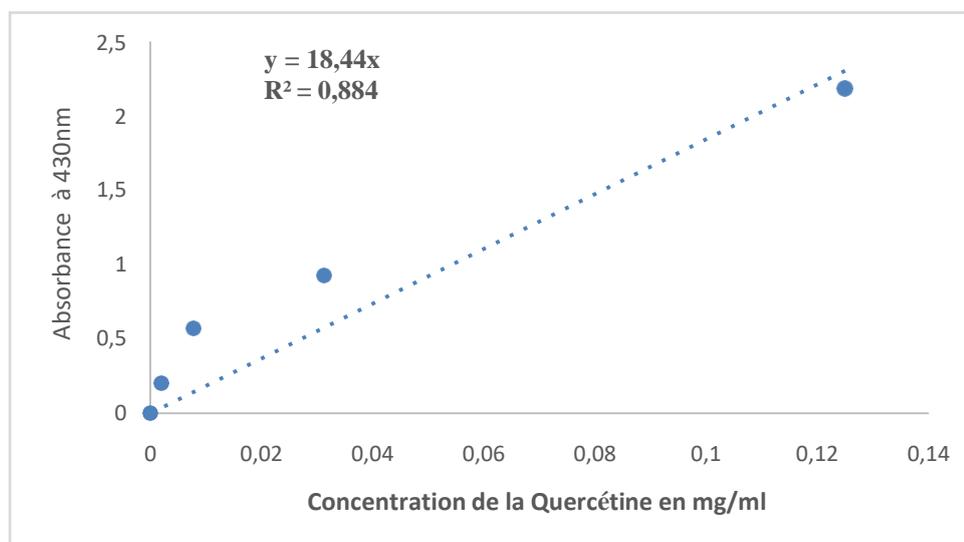


Figure ii11 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH

-Principe :

La capacité de céder des hydrogènes par les extraits est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique, en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH (1,1-Diphényl 2-picrylhydrazyl). **Figure ii12**

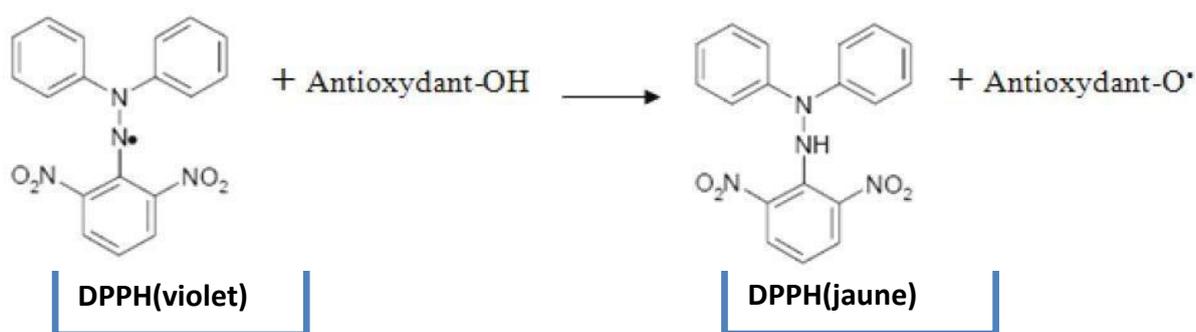


Figure ii12: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

❖ Mode opératoire

Le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composé antiradicalaire, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon. Cette méthode

est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1,95 ml d'une solution méthanolique de DPPH. Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc pour chaque concentration qui contient 50 µl de chaque concentration de l'extrait et 1,95 ml du méthanol. (Brand-Williams et al., 1995)

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

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A1 - A2}{A1} \times 100$$

A1: Absorbance du contrôle;

A2: Absorbance de l'échantillon

Les valeurs des concentrations nécessaires pour inhiber ou réduire 50% de la concentration initiale du DPPH (IC50) ont été déterminées graphiquement par régression linéaire.

❖ IC50

Ce paramètre est défini selon (pokorny et al.,2001)comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%,il est inversement lié à la capacité anti-oxydante.

Etude du pouvoir antimicrobien

❖ Souches microbiennes

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *G.biloba* été réalisée selon la méthode de diffusion par disque sur gélose (NCCLS, 2002). Nous avons choisi d'évaluer nos extraits sur un panel représentatif de bactéries Gram (-) et Gram (+).

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits de *G.biloba* sont donnés par le **tableau ii2**

Toutes les souches microbiennes ont été choisies par leurs fréquences élevées de contamination et leur pathogénicité dominante.

❖ But :

C'est une méthode quantitative, permettant de tester l'existence de l'activité antimicrobienne, qui se traduit par la formation d'une zone d'inhibition autour de la source à caractère antimicrobien.

❖ **Principe :**

Elle consiste à utiliser des disques buvards ; imprégnés dans la substance à tester à une dose bien déterminée. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension des germes utilisés. Après 24 heures d'incubation, il s'établit un gradient de concentration de la substance à tester, l'interaction entre les germes et cette dernière s'exprime par une zone d'inhibition (**Amhis, 2001**). Puis on mesure les diamètres des éventuelles zones d'inhibition observées autour des disques (**Loubaki et al. 1999, Archambaud, 2009**). Plus le diamètre de la zone inhibitrice est grand, plus que les souches sont sensibles à la substance. Plus qu'il est petit, plus qu'elles sont résistantes (**Faucher et al, 1997**).

❖ **Protocol expérimental :**

Travail s'effectue dans des conditions aseptiques, à côté du bec benzène entouré du matériel stérilisé auparavant et déposé sur une paillasse bien nettoyées avec l'eau de javel.

A- Préparation de l'inoculum

- Bactérien

L'inoculum est préparé à partir d'une culture de 18 heures sur milieu d'isolement comme suit : cinq colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide de l'anse de platine puis déchargées dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. La suspension bactérienne est ensuite homogénéisée. Son opacité doit être équivalente à 0,5Mc Ferland où à une DO de 0,08 à 0,10 à 625 nm pour les bactéries. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique s'il est trop fort.

- levurien

A partir d'une culture pure, on prélève une colonie bien isolée de *Candida albicans* que l'on ensemence sur un milieu Sabouraud liquide incubé à 30°C pendant 18 h. On effectue ensuite des dilutions jusqu'à l'obtention de 10⁵ cellules/ml c'est-à-dire DO varie entre 0,12 et 0,15 à la longueur d'onde $\lambda = 530$ nm pour les levures (turbidité équivalente à 0,5 McFarland)

- fongique

On prélève 3 à 4 disques d'agar de 5 mm de diamètre avec la manche de la pipette Pasteur, à partir de la périphérie d'une culture fongique pure. Les disques sont ensuite déposés à la surface du milieu gélose Sabouraud et incubés à 25°C, pendant 3 à 4 jours.

2- préparation des extraits 1000ug de ginkgo a été mélangé avec 10mL de DMSO dont la concentration est de 100ug/ml.

B- ensemencement

-Couler 15 ml de la gélose Meller –Hinton (pour les bactéries) et sabouraud pour les champignons et les levures) sur les boîtes de pétri (25 mm) et laisser refroidir à la température ambiante

- L'ensemencement des bactéries doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum à l'aide d'un écouvillon stérile. Ce dernier est trempé dans la suspension bactérienne puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Après ensemencement en frottant l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosé (le frottement se fait de haut en bas, en stries serrées cette opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois)

-Les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture approprié (milieu sabouraud) sont ensemencées par la levure par écouvillonnage ou par un disque d'agar de 5 mm de diamètre issue de chaque culture fongique (2 à 3 disques ensemencés séparément et en parallèle/boîte).

C- Application des disques

1- Dépôt des disques imprégnés de (10ul) à différentes concentrations (100ug/ml et 50ug/ml) ; au centre de la gélose à l'aide d'une pince permettant son adhésion sur la gélose (ensemencée soit par les bactéries, ou les champignons)

2- dépôt des disques d'antibiotiques gentamycine (témoin positif) et des disques imprégnés de DMSO (témoin négatif) sur les boîtes ensemencées par les bactéries, et les champignons.

- Laisser diffuser pendant 30 minutes,

- Les boîtes renversées sont mises dans 1 ml, incubateur à 37°C pendant 24h (pour les bactéries) à 30°C pour les levures et à 25°C pour les champignons.

D-Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (**Moreira et al., 2005**). La sensibilité aux différents extraits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition.

Chapitre III : Résultats et discussions

Il y'a peu de travaux réalisés sur la *G.biloba* donc on a comparé certains de nos résultats avec *Artemisia campestris L.* Car d'après **Hamaz et al (2020)** *l'Artemisia campestris* est une plante similaire au *Ginkgo biloba* dans l'Algérie

Caractérisation physico-chimique

❖ PH

Les résultats trouvés révèlent un pH allant jusqu'à 4.25 donc la poudre des feuilles de *Ginkgo biloba L.* est de nature acide et cette acidité est due à sa composition riche en acides organique (acide Oxalique, acide quinique et acide malique) (**tableau iii4**)

❖ Taux d'humidité

Le résultat trouvé a révélé un taux important de pertes pendant le séchage de 7.76% avec taux de pourcentage de matière sèche 92.24%.Donc la *G.biloba* est riche en matière volatiles.(**Tableau iii4**)

Les résultats de la présente étude sont pertinents avec ceux trouvés par (**Berrouane, 2012**) et (**Zeghdoud et al, 2018**) sur *l'Artemesia campestris* (**tableau iii5**)

En conséquence que La teneur en eau dans la poudre végétale issue de plantes étudiées est Inférieures à **10%** (7,76%) ce qui leurs confèrent une bonne conservation à long terme selon la norme décrite par la pharmacopée européenne.

❖ Teneur en cendre

Le résultat trouvé a noté un pourcentage des cendres est de 7.32% avec taux de matière organique de 92.68% .donc la *G.biloba* est riche en matière minéral (**tableau iii4**). Les résultats trouvés concordent avec ceux de *l'Artemesia campestris* trouvés par (**Berrouane, 2012**) et (**Zeghdoud et al(2018)**) (**tableau iii5**), en conséquence que la *G.biloba* est une plante riche en élément minéraux et oligo-élément nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme.

Tableau iii4: les résultats des paramètres physicochimiques

paramètre	Valeur
pH	4.25
Teneur en matière sèche	92.24%
H%	7.76%
Teneur en cendre	7.32%
Matière organique	92.68%

Tableau iii5 : paramètre physicochimiques de *l'Artemisia campestris* récoltée dans Différents région

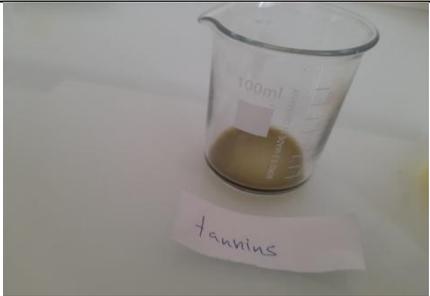
	(Zeghdoud et al, 2018) Biskra	(Berrouane,2012) Tamanrasset
H%	8.29	10.05
MS%	91.71	89.95
Teneur en cendre	8.41	5.12
Matière organique	91.59	94.88

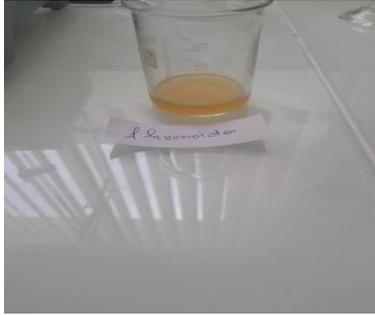
Screening phytochimique :

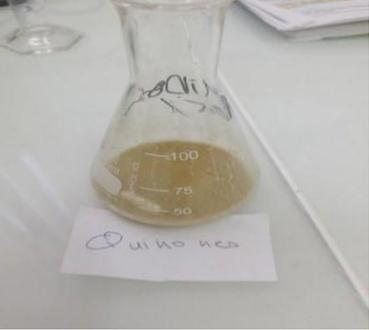
Les résultats des tests phytochimique réalisés sur l'extrait aqueux et la poudre des feuilles du ginkgo biloba sont résumés dans le (**tableau iii6**)

L'examen phytochimique réalisé sur l'extrait aqueux et la poudre des feuilles du *G.biloba* a révélé la richesse en composés phénoliques(les flavonoïdes, les tannins, les anthocyanes et les coumarines) et des quinones libres, des glucosides, et des mucilages.

Tableau iii6 : résultats du screening phytochimique du G.biloba récolté dans la région d'Alger

Les molécules testées	observation	Photos
anthocyanes	coloration rouge +	
Leuco anthocyanes	Coloration rouge +++	
tanins	Verte foncée +++	
Tanins catéchéque	précipité rouge +++	
saponosides	une précipitation. +++	

<p>flavonoïdes</p>	<p>couleur orange +++</p>	
<p>glucosides</p>	<p>Rouge bleu +</p>	
<p>mucilage</p>	<p>Présence de précipitation +++</p>	
<p>Stérols et terpènes</p>	<p>anneau rouge brunâtre +++</p>	

saponines	La persistance de mousse +	
coumaraines	Coloration rouge ++	
Quinones	-	

Les résultats de la présente étude sont en accord avec ceux trouvés par **Nwosu, O.K et al 2020 et Martha, P.I. et al (2016)** et ayant signalés la richesse des feuilles du *G. biloba* récoltée à Alger en glucosides, en saponines et en tannins et avec **Badore et al (2017)** qui a dévoilé la présence importante des poly phénols, stéroïdes et terpènes (**tableau iii7**)

Les résultats montrent que les feuilles de cette arbre ont une grande importance, elle est riche en composés phénoliques tel que les tanins et les flavonoïdes qui sont des substances reconnues pour leur propriété antioxydants.

Cette étude a également montré l'existence d'une réelle biodiversité moléculaire, qui confère aux feuilles des vertus médicinales importantes à valoriser. Parmi les métabolites secondaires mis en évidence, les flavonoïdes ont une action importante et possèdent de nombreuses vertus médicinales : antioxydants, anti-inflammatoires, antiulcérogènes,

effets protecteurs vasculaires, antitumoraux, antidiarrhétiques et hypotenseurs. (Umesh et al, 2018)

Tableau iii7 : screening phytochimique des extraits des feuilles du G.biloba récoltée dans différentes région

Métabolites secondaires	(Nwosu, O.K et al, 2020)	(Martha,P.I.et al,2016)	(Badore et al,2017)
Région de la plante G.biloba récoltée			
	Nigeria	Nigeria	Inde
Présence/absence dans l'extrait			
flavonoïdes	+	+	+
tannins	+	+	
saponines	+	+	-
anthocyanes	+		
glucosides		+	-
Stérols et terpènes		+	+

(+) présence, (-) absence

III.3-Dosage des poly- phénols totaux et des flavonoïdes :

III.3-1-Dosage des poly- phénols

L'étude quantitative des extraits méthanolique et aqueux des poudres des feuilles de G.biloba au moyen des dosages spectrophotométriques avaient pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes.la raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués.

Deux droites d'étalonnages ont été tracées pour cet objectif, qui sont réalisées avec des solutions d'étalons à différentes concentration.

Les quantités des polyphénols et des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en mg d'équivalents de l'étalon utilisé par milligramme d'extrait

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode au réactif de folinciocalteu, en utilisant comme standard l'acide gallique, elle est exprimée en mg EAG/mg d'extrait.(Tableauiii8)

Tableau iii8 : résultats de dosage des poly phénols totaux et des flavonoïdes condensés dans l'extrait de *G.biloba*

Teneur (mg/ml)	Polyphénols(a)	Flavonoïdes (b)
Extrait méthanolique	53.21	0.156
Extrait aqueux	34.92	0.212

(a) mg EAG/g d'extrait

(b) mg EQ/g d'extrait

La teneur en poly phénols totaux de l'extrait méthanolique est plus élevée soit 53.21 mg EAG/g d'extrait par rapport à l'extrait aqueux (34.92 mg EAG/g d'extrait. (**Tableau iii8**))

Le résultat obtenu durant cette étude est faible par rapport aux résultats trouvés dans les travaux de plusieurs auteurs pour l'extrait méthanolique tels que (**tableau iii9**) :

- **Mortazavi et al, 2021** a montré une teneur de 167.79 ± 5.04 mg EAG /g dans la *G.biloba* issue de la région Iran

- les travaux de **Geeta et al, 2017** sur la *G.biloba* indien ont trouvé une teneur en polyphénols de 285.00 ± 0.12 mg EAG/g

-**Eliana et al**, ont trouvé une moyenne de teneur en poly phénols de 129.5 ± 5.30 mg EAG/g

-l'étude de (**Milan, 2016**) sur la *G.biloba* a révélé une teneur en polyphénols de 71.02 ± 0.45 mg EAG/g

-la teneur en poly phénols totaux d'extrait aqueux du *G.biloba* concordent avec ceux dosés dans l'extrait aqueux du plant trouvés par **Milan et al(2016)**, **Eliana et Kocza(2015)** de teneur respectivement 33.22 mg EAG/g, 37.71 ± 0.04 mg EAG/g et 30.29 ± 0.42 mg EAG/g.

-**Feras et al 2003 et Geeta et al, 2011** ont noté une teneur très faible en polyphénols dans l'extrait méthanolique de *G.biloba* récoltée dans la région Jordon de teneur respectivement 35.3 mg EAG/g, 35.3 ± 1.0 mg EAG/g (**tableauiii9**)

Cette différence de teneurs en métabolites secondaires peut être due à la méthode d'extraction, la région de récolte, ainsi que le type de solvant utilisé. la teneur phénolique d'une plante dépend également d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques, en particulier les conditions climatiques, la maturité à la récolte et les conditions de stockage. L'augmentation de la température et l'effet des jours longs favorisent l'accumulation des poly phénols et exercent une influence sur la qualité des principes actifs poly phénoliques synthétisés par les plantes.

Tableau iii9: dosage des flavonoïdes et des poly phénols dans les extraits du *G.biloba* récoltée dans différentes régions

Métabolites secondaires	(Milan ,2016)		Eliana et al		(Kocza, 2015)		Feras et al,2003	
	Région de la plante récoltée							
	Serbie		Portugal		Hongrie		Jodon	
extrait	Poly (mg/g)	flav	Poly (mg/g)	Flav (mg/g)	Poly (mg/g)	flav	Poly (mg/g)	flav
E.méth	71.02±0.45	/	129.5±5.30	/	/	/	35.3	/
E. aqueux	33.22	/	37.71±0.04	/	30.29±0.42	/	/	/
	(Mortazavi, 2021)		(Geeta et al, 2017)		(Geeta et al, 2011)			
	Région de la planté récoltée							
	Iran		inde		jordon			
extrait	Poly (mg/g)	Flav (mg/g)	Poly (mg/g)	Flav (mg/g)	Poly (mg/g)	flav		
E.méth	167.79±5.04	93.21±1.41	285.00±0.12	257.04±0.36	35.3±1.0	/		
E. aqueux	/	/	/	/	/	/		

III.3-2-dosage des flavonoïdes :

La teneur des différents extraits de *G.biloba* en flavonoïde a été réalisée selon la méthode de trichlorure d'aluminium(AlCl3), en utilisant comme standard la quercétine.

Les résultats de dosage des flavonoïdes dans les échantillons de *G.biloba* analysés sont rapportés dans le **tableau iii8**.

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle une teneur faible en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de 0.156 et de 0.212 mg EQ/g d'extrait dans l'extrait aqueux.

Le résultat obtenu durant cette étude pour l'extrait méthanolique est faible de ceux trouvés par quelques auteurs. En effet l'étude faite par (Mortazavi, 2021) sur la *G.biloba* d'Iran a divulgué une teneur en flavonoïdes de 93.21±1.41 mg EQ/g alors que (Geeta et al, 2017) a noté une teneur en flavonoïdes de 257.04±0.36 mg EQ/g. (tableau iii9)

En outre, les différences dans les concentrations totales de flavonoïdes entre l'échantillon de *G.biloba* récoltée dans différentes régions peuvent être dues à de nombreux facteurs, tels que les conditions environnementales, le fond génétique, ou les techniques agricoles appliquées.

III.4-Détermination du pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont enregistrés dans les **figure iii13 figures iii14 et iii15**

Nous constatons que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour l'extrait méthanolique et aqueux de la poudre des feuilles du *G.biloba*.

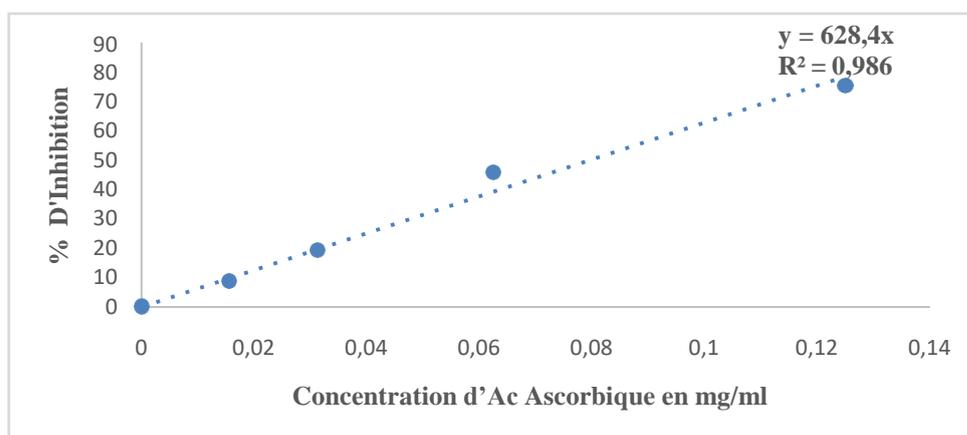


Figure iii13 : pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique

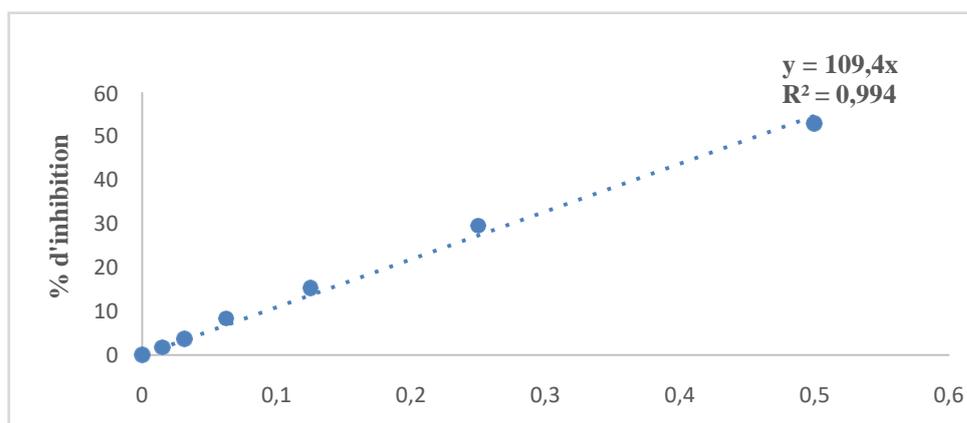


Figure iii 14: pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux de *G.biloba*

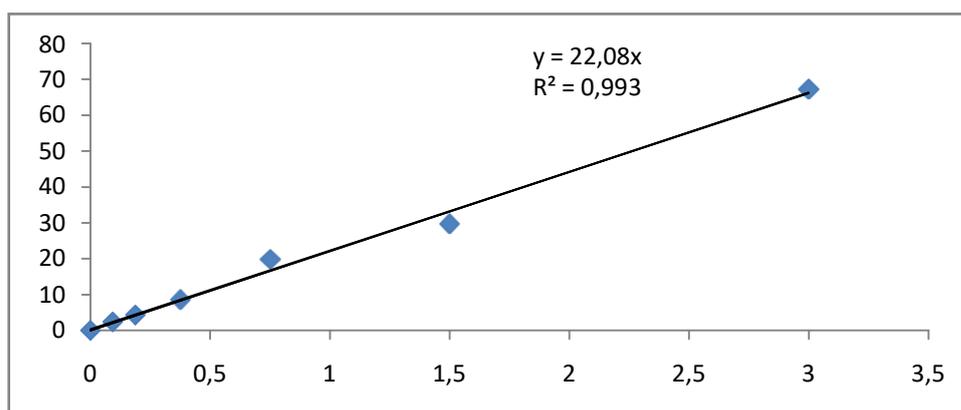


Figure iii15: pourcentage d'inhibition d'extrait méthanolique de *G.biloba*

On note que l'efficacité antioxydant augmente avec la concentration de l'extrait aqueux et méthanolique. Cependant, le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'extrait aqueux et méthanolique sont légèrement inférieur à celui de l'acide ascorbique. Pour une concentration de 3mg/1ml, l'extrait méthanolique de la poudre des feuilles du *G.biloba a* révélé un pourcentage d'inhibition de DPPH de 67,14% alors que l'extrait aqueux a noté un pourcentage d'inhibition de 68,34% pour une concentration de 2% tandis que l'acide ascorbique est de 78,73% pour une concentration de 0,125/ml.

❖ -Détermination d'IC50

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydant d'un composé. Elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande

L'extrait aqueux de *G.biloba* pouvait ramener le radicale libre stable DPPH au diphenylpicryldrazine jaune-coloré avec un IC50 de 0,456mg/ml alors que l'IC50 de l'extrait méthanolique est 2,26mg/ml. Donc l'extrait aqueux présent une activité antioxydant supérieur que l'extrait méthanolique et inférieur à celle de l'acide ascorbique (0,079mg/ml).donc l'extrait aqueux de *G.biloba* exhibe une activité antioxydant importante. (**Figure iii16**)

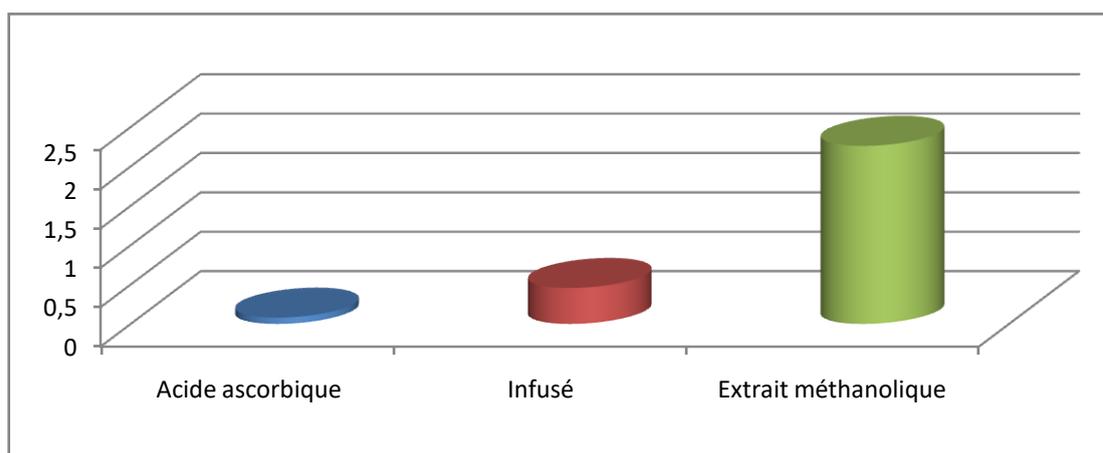


Figure iii16 : IC50 de l'acide ascorbique, extrait méthanolique et l'infusé de la poudre des feuilles de *G.biloba L.*

Nos résultats trouvés sont différents à ceux des extraits des feuilles de *G.biloba* étudiés par les chercheurs tels que (tableau **iii10**)

- L'étude de (Milan, 2016) sur la *G.biloba* a révélé un IC50 de $387.13 \pm 0.95 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait méthanolique.
- L'étude menée par (Eliana et al, 2014) a noté un IC50 de $0.74 \text{mg} \pm 0.17 \text{mg/ml}$ ($170 \mu\text{g/ml}$) pour l'extrait méthanolique et $1.52 \pm 0.17 \text{ mg/ml}$ pour l'extrait aqueux.
- (Geeta et al, 2017) a signalé un IC50 de $46.52 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait méthanolique (Tableau **iii10**)

Les résultats sont différents d'une étude à l'autre, cela peut être expliqué par plusieurs facteurs influençant l'efficacité de l'extraction, la nature et le volume du solvant utilisé et la région de récolte.

En outre, L'activité antioxydant élevée de L'extrait méthanolique de *G.biloba* récoltée dans la région l'inde peut être le résultat des composants phénoliques mais aussi d'antioxydants non phénoliques comme sesquiterpènes, flavonoïdes ou acides chlorogéniques.

Tableau iii10: activité antioxydant IC50 de l'extrait méthanoïque et aqueux des feuilles de *G.biloba* récoltée dans différentes régions

	Milan(2016)	Eliana <i>et al</i>	Hudaib et al(2011)	(Geeta et al2017)
	Région de la planté récoltée			
	Serbie	Portugal	Jordon	Inde
	IC50 (µg/ml)	IC50 (mg/ml)	IC50 (µg/ml)	IC50 (µg/ml)
E.méthanolique	387.13±0.95	0.74±0.04	595.8	46.52
E. aqueux	272.90±1.61	1.52±0.17		

III.5 : Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation des activités antimicrobiennes des extraits de *G.biloba L*, provenant de la région d'Alger à l'égard des bactéries pathogènes testées a été réalisée selon la méthode de diffusion par disque sur gélose.

Dans le principe de l'antibiogramme solide, un antimicrobien est d'autant plus efficace que son cercle d'inhibition de la croissance microbienne est grand. Les mesures montrent des variations des diamètres de la zone d'inhibition sont estimés selon trois niveaux d'activité dessouches utilisées (**Tableau iii11**)

Tableau iii11 : Estimation de la sensibilité des souches (**Moreira et al. 2005**).

Diamètre (mm)	Activité antimicrobienne	souche
D < 7	Nulle	Résistance
D [7-14]	Faible	Sensible
D [15-19]	Moyenne	Très sensible
D > 20	Forte	Extrêmement sensible

L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à l'autre

Les résultats trouvés sont donnés par les figures **17** et **18**.

Selon la **figure iii17** et **iii18**, Les *Staphylocoques aureuse* se montrent très sensibles vis-à-vis l'extrait aqueux de *G.biloba* avec des diamètres d'inhibition allant de 15 mm à 19 mm,

tandis que l'extrait méthanolique de *G.biloba* inhibent faiblement les souches *Bacillus subtilis* (DI 10mm) avec une concentration de 1000 μ g/ml.

En ce qui concerne, les *Aspergillus brasiliensis*, *Pseudomonasaeruginosa* et *Eschericha coli* ne divulguent aucune sensibilité vis à vis les extraits de *G.biloba*.

Pour les levures *Candida albicans*, ne montre aucune sensibilité à l'encontre des extraits de *G.biloba*.

En outre, l'antibiotique la gentamicine se montre très actif vis-à-vis des 04 souches par rapport aux extraits de *G.biloba* (10%)

En conséquence, l'effet bactériostatique faible des extraits de *G.biloba* dut à sa composition pauvre en poly phénols et en flavonoïdes.

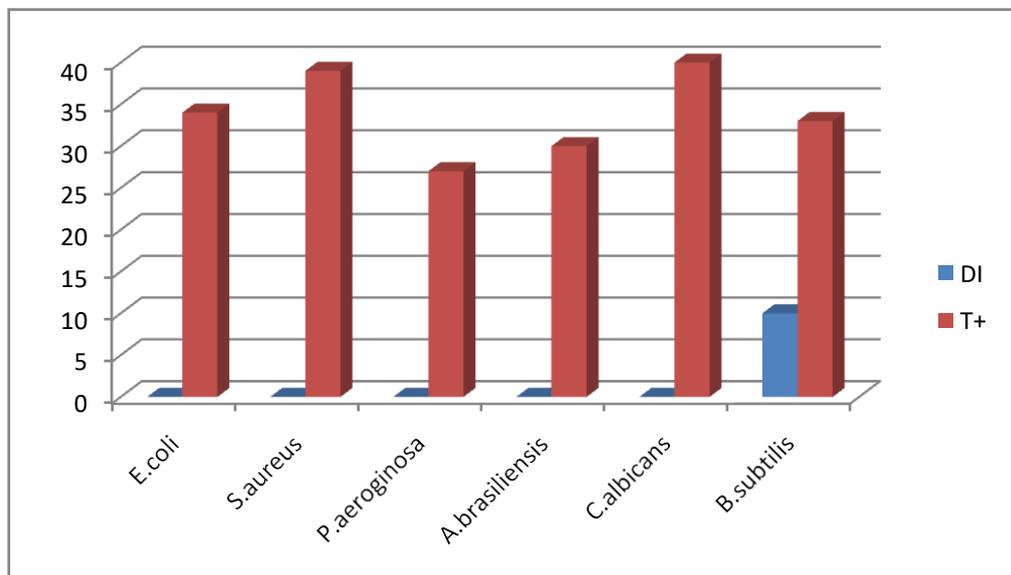


Figure iii17: Diamètres d'inhibitions (mm) de l'extrait méthanolique de *G.biloba* T+:témoin positif (antibiotique)

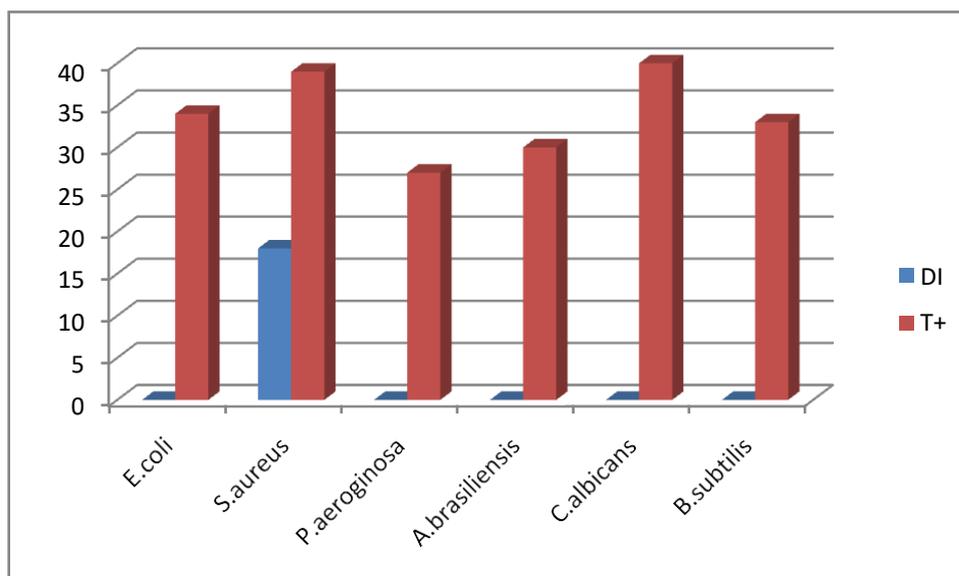


Figure iii18: Diamètres d'inhibitions (mm) de l'extrait aqueux de *G.biloba* T+:témoin positif (antibiotique)

D'après (**Fazal et al2011**) les bactéries *E.coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* n'ont signalé aucune sensibilité pour L'extrait méthanolique des feuilles du *G.biloba* alors que il a noté une faible sensibilité contre *P.aeruginosa* (11.00 ± 0.02 mm).

S.C.sati et al(2011) a noté une sensibilité pour *B.subtilis* de 19 ± 0.6 mm et *E.coli* de 19 ± 0.6 mm (**tableau iii19**)

Suivant l'estimation de la sensibilité des souches décrite par (**Nwasu,O.K et al2020**),les bactéries *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *P.aeruginosa* ne montrent aucun sensibilité pour l'extrait aqueux des feuilles du *G.biloba*(**tableau iii20**) par contre l'étude du (**deng,2014**) a montré une faible sensibilité(13mm) des bactéries *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *P.aeruginosa* et *B.subtilis*.

Les extraits de *G. biloba* n'ont montré aucune inhibition de la croissance bactérienne pour les plupart des bactéries et ce résultat est quelque peu en accord avec l'étude de (**Fazal et al,2011**) et (**Nwasu, O.K et al2020**). Le résultat peut être que le contenu végétal du bilobalide (qui est considéré comme un composé efficace contre les micro-organismes) dans notre étude aurait pu être trop faible pour afficher une activité contre les bactéries ou l'interaction du bilobalide avec de nombreux autres composés phytochimique.

Tableau iii19 : Zone d'inhibition de différents extraits de *Ginkgo biloba*

Microorganisms	Diameter of inhibition zone (mm)*			
	H	C	E	M
<i>A. tumefaciens</i>	16 ± 0.8	19 ± 0.6	14 ± 1.0	15 ± 0
<i>B. subtilis</i>	20 ± 1.7	18 ± 0	19 ± 0.6	19 ± 0.6
<i>E. coli</i>	15 ± 0	14 ± 0.3	19 ± 1.0	19 ± 0.6
<i>E. chrysanthemi</i>	16 ± 0.5	17 ± 0.8	16 ± 0.6	17 ± 0.3
<i>X. phaseoli</i>	16 ± 0.8	16 ± 0.6	19 ± 1.0	21 ± 0.2

*All the values are mean ± SEM of three determinations. H, C, E, M: hexane, chloroform, ethanol, methanol

Tableau iii20: Criblage de susceptibilité antibactérienne d'extraits de feuilles de *Ginkgo biloba*

Zone of Inhibition (mm)			
Isolates	Aqueous Extract	Ethanol Extract	Positive Control
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	15.5 ± 0.71*	39 ± 1.41
<i>Escherichia coli</i>	-	10.5 ± 0.71*	26 ± 2.12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	42 ± 2.83

Conclusion

Conclusion

Les plants médicinaux occupent de plus en plus une place en thérapeutique. Les usages de *Ginkgo biloba L* sont essentiellement thérapeutiques qui occupent une très grande place dans la prévention des maladies, surtout les maladies neurodégénératives. En effet, la ginkgo constitue de véritable usine chimique de flavonoïdes dont il faut tirer le maximum de profit pour le bien être de la population.

Cette arbre occupe de plus en plus une place de choix en thérapeutique surtout en Asie, pour traiter les troubles cutanés, les maux de dents et l'hyperactivité vésicale Les recherches entreprises sur la ginkgo ont permis de montrer que celle-ci pouvait être une alternative efficace dans bon nombre de troubles et pathologies comme l'hypertension et l'Alzheimer.

Dans le but de rechercher de nouvelles molécules à intérêt thérapeutique, nous nous sommes intéressées à valoriser les vertus de *G.biloba* par une caractérisation phytochimique et l'évaluation des activités biologiques.

Le choix de cette plante est justifié par la maque d'étude dans l'Algérie et leurs effets thérapeutiques inconnus.

Les analyses physicochimiques ont révélée la richesse des feuille en oligoéléments Le screening phytochimique a fait ressortir une richesse des extraits en polyphénols, en flavonoïdes et en coumarines

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folain-ciocalteau et les flavonoïdes pa la méthode de trichlorure d'aluminium révèle la richesse de l'extrait méthanolique en polyphénols et l'extrait aqueux en flavonoïdes.

Un fort pouvoir antiradicalaire est noté pour l'extrait aqueux représenté par IC50 légèrement faible à celle de l'extrait méthanolique.

Concernant l'effet antimicrobien, l'analyse ne montre aucune sensibilité avec la plupart des bactéries sauf les *Staphylocoques aureus* se montrent très sensibles vis-à-vis l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique de *G.biloba* .

Perspectives:

Ceci n'est qu'une initiation d'un gros travail qui reste à faire ; nous projetons dans le futur proche, vers une étude détaillée de la composition chimique des différents extraits des feuilles de *G.biloba L.*, en utilisant les différentes méthodes d'analyse : RMN 1D et 2 D, CPG...etc.

Comme notre objectif ultime est l'isolation d'un produit et faire de l'hémi synthèse, une purification des différents extraits est primordiale à l'identification complète de la composition chimique et utilisation les feuilles de *G.biloba L.*, comme complément

alimentaire vue sa richesse en métabolismes secondaires et en oligoéléments et ayant un pouvoir antioxydants élevé

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

-Ahlemeyer B, Krieglstein J. 2003

Neuroprotective effects of Ginkgo biloba extract. *CellMol Life Sci* 60:1779–92.

-Bastianetto S, Ramassamy C, Dore S, Christen Y, Poirier J, Quirion R. 2000.

The Ginkgobiloba extract (EGb 761) protects hippocampal neurons against cell death induced by beta-amyloid. *Eur J Neurosci* 12:1882–90.

-Bustanji(2011)

Xanthine oxidase inhibitory activity of the methanolic extracts of selected Jordanian medicinal plants

-Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C.

Use of free radical method to evaluate anti-oxidant activity. 1995;28(1):25-30.

-Cadet, E. (2017).

Etude phytochimique et emplois de plantes veinotoniques. (Thèse de Doctorat, Université de Lorraine). 99p.

Chang C, Yang M, Wen H, Chern J.

Estimation of total flavonoids content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Analysis* 2002; 10:178-182.

Decock, C. (2019).

Le foie et la phytothérapie. (Thèse de Doctorat, Université de Lille). 130p.

-D. Kaushik, V. Kumar, and H. Dureja

“Developments in nutraceuticals” *Indian Journal of Pharmacology*, vol. 35, no. 6, pp. 363–372, 2003.

-E. S. Fernandes, R. M. Pinto, J. E. de Paula Reis, M. de Oliveira Guerra, and V. M. Peters

“Effects of Ginkgobiloba extract on the embryo-fetal development in wistarrats,” Birth Defects Research. Part B, Developmental and Reproductive Toxicology, vol. 89, pp. 133–138, 2010.

-E. Koch, M. Noldner, and J. Leuschner

“Reproductive and developmental toxicity of the Ginkgo biloba special extract EGb 761 in mice,” Phytomedicine, vol. 21, 2013.

-E. Pereira, L. Barros, and I. C. F. R. Ferreira

“Chemical characterization of Ginkgo biloba L. and antioxidant properties of its extracts and dietary supplements,” Industrial Crops and Products, vol. 51, pp. 244–248, 2013.

-FARNS WORHT, N.R., AKERELE, O., BINGEL, A.S., SOEJARTO, D.D. et GUO, Z. (1986).

Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l’OMS. 64, (2), 159-163

-Harbone JB (1989).

Recent advances in chemical ecology. Nat. prod. Rep. 1989, 25(7) : 85-109

-H. R. Lieberman, M. D. Kellogg, V. L. Fulgoni, and S. Agarwal

“Moderate doses of commercial preparations of Ginkgo biloba do not alter markers of liver function but moderate alcohol intake does: a new approach to identify and quantify biomarkers of “adverse effects” of dietary supplements,” Regulatory Toxicology and Pharmacology, vol. 84, pp. 45–53, 2017.

-H.-s. Jang, S. Y. Roh, E. H. Jeong, B.-S. Kim, and M. K. Sunwoo

“Ginkgo toxin induced seizure caused by vitamin B6 deficiency,” Journal of Epilepsy Research, vol. 5, no. 2, pp. 104–106, 2015.

-ISERIN, P. (2001)

Larousse encyclopédie des plants médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse, Paris, 212 p.

-GAZENDEL, J.M. et ORECCHONI, A.M. (2001).

Le préparateur en pharmacie. Technique et documentation, Paris, 271 p

-Ghedira, K. 2005. Les flavonoïdes

structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique.

Phytothérapie, n° 4, p. 162-169

-G. Tewari, B. Mohan, K. Kishor, L. M. Tewari, and T. K. Nailwal

“Volatile constituents of ginkgo biloba L. Leaves from Kumaun: a source of (E)-nerolidol and phytol” Journal of the Indian Chemical Society, vol. 93, 2015.

-K. i. Hatano, T. Miyakawa, Y. Sawano, and M. Tanokura

“Antifungal and lipid transfer proteins from ginkgo (ginkgo biloba) seeds,” Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention, vol. 2011, pp. 527–534, 2011.

-L. Luo, Y. Li, and D. Wang

“Ginkgolide B, lowers bodyweight and ameliorates hepatic steatosis in high-fat diet induced obese mice correlated with pregnane X receptor activation,” RSC Advances, vol. 60, 2017.

-L. Liu, Y. Wang, J. Zhang, and S. Wang

“Advances in the chemical constituents and chemical analysis of Ginkgo biloba leaf, extract, and phytopharmaceuticals,” Journal of Pharmacy Biomedicine Analytical, vol. 193, p. 2021.

-L. F. B. Aacute Rbara

C. M. Michele, and B. L. d, F. Guilherme, “Ginkgo biloba L.: phytochemical components and antioxidant activity,” African Journal of Pharmacy and Pharmacology, vol. 9, 2015.

-Mingeon, C. (2014)

La place de la phytothérapie dans la prise en charge de l'insuffisance veineuse : étude de six plantes médicinales. (Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier). 99p.

-Narendra Singh Badore, Prabhat Kumar Das, Sujit Pillai, Akshita Thakur

Role of Ginkgo biloba Extract, Against Isoproterenol Induced Cardiac Toxicity in Rats (2017)

-Nash. Kevin M,&Zahoor A. Shah. 2015. Current Perspectives on the Beneficial Role of Ginkgo biloba in Neurological and Cerebrovascular Disorders. *Integrative Medicine Insights*, vol. 10, p. 1-9

-O. Napryeyenko and I. Borzenko

“Ginkgo biloba special extract in dementia with neuropsychiatric features,” *Arzneimittelforschung*, vol. 57, 2011.

-Pasteur, L. (2013).

La maladie d'alzheimer : intérêt des molécules d'origine naturelle.(Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques, Université de Toulouse 3 Paul Sabatier faculté des sciences pharmaceutiques). 113p.

-Packer L.1997.

Antioxidant Action of Ginkgo Biloba Extract (EGB 761). *Food and Free Radicals*, p. 75-84

- P. Shu, M. Sun, J. Li, L. Zhang, and H. Xu

“Chemical constituents from Ginkgo biloba leaves and their cyto-toxicity activity,” *Journal of Natural Medicines*, vol. 74, pp. 269–274, 2020.

-P. Chen, M. Hei, L. Kong et al.

“One water-soluble poly-saccharide from Ginkgo biloba leaves with antidepressant activities via modulation of the gut microbiome,” *Food & Function*, vol. 10, no. 12, pp. 8161–8171, 2019.

-P. C. Chan, Q. Xia, and P. P. Fu

“Ginkgo biloba leave extract: biological, medicinal, and toxicological effects,” *Journal of Environmental Science and Health-Part C: Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews*, vol. 25, 2007.

-Q. Zhao, C. Gao, and Z. Cui

“Ginkgolide A reduces inflammatory response in high-glucose-stimulated human umbilical vein endothelial cells through STAT3-mediated pathway,” *International Immunopharmacology*, vol. 25, pp. 242–8, 2015.

R. S. R. TarunBelwal, L. Giri, B. Amit, M..Tariq, and P. Kewlani

”Ginkgo Biloba,” 2019.

-Ramassamy C, Longpre F, Christen Y. 2007.

Ginkgo biloba extract (EGb 761) inAlzheimer’s disease: is there any evidence? Curr Alzheimer Res 4:253–62.

-Salle, J.L. (1991).

Les huiles essentielles: synthèse d’aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie.Frison-Roche, Paris, 149p

-S. Kressmann, A. Biber, M. Wonnemann, B. Schug,H. H. Blume, and W. E. Müller

“Influence of pharmaceuticalquality on the bioavailability of active components fromGinkgo biloba preparations,” Journal of Pharmacy andPharmacology, vol. 54, no. 11, pp. 1507–1514, 2010.

S. C.Sati and Savita Joshi.

Antibacterial Activities of Ginkgo BilobaL. Leaf Extracts 2011.

S. Mahadevan and Y. Park

“Multifaceted therapeutic benefits of Ginkgo biloba L.: chemistry, efficacy, safety, anduses,” Journal of Food Science, vol. 73, pp. R14–9, 2008.

-S. Wang, D. Wang, and Z. Liu

“Synergistic, additive andantagonistic effects of Potentillafruticosa combined withEGb761 on antioxidant capacities and the possible mechanism,” Industrial Crops and Products, vol. 67, 2015.

-T. A. van Beek and P. Montoro

“Chemical analysis andquality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals,” Journal of Chromatography A, vol. 1216,no. 11, pp. 2002–2032, 2009.

-T. Isah

“Rethinking Ginkgo biloba L. medicinal uses and conservation,” *Pharmacognosy Reviews*, vol. 9, no. 18, pp. 140–148, 2015.

-**T. K. Mohanta, A. Occhipinti, S. AtsbahaZebelo, M. Foti, and C. M Berteau**, “Ginkgo biloba responds to herbivory by activating early signaling and direct defenses,” *PLoS One*, vol. 7, p e32822, 2012.

VANNEY, J. R. (1978).

La terre. Larousse, Paris, 245p

-**Song W, Guan HJ, Zhu XZ, Chen ZL, Yin ML, Cheng XF. 2000.**

Protective effect of bilobalide against nitric oxide-induced neurotoxicity in PC12 cells. *Acta Pharmacol Sin* 21:415–20.

-**Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM.**

Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol* 1999;299:152-178.

-**Yang YL, Su YW, Ng MC, Chang CL, Lu KT. 2005.**

Extract of Ginkgo biloba EGb 761 facilitates fear conditioning measured by fear-potentiated startle. *Neurosci Lett* 383:145–50.

-**Yao ZX, Han Z, Drieu K, Papadopoulos V. 2004.**

Ginkgo biloba extract (Egb 761) inhibits beta amyloid production by lowering free cholesterol levels. *J Nutr Biochem* 15:749–56.

-**Y. Sasaki, T. Noguchi, E. Yamamoto et al.**

“Effects of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on cerebral thrombosis and blood pressure in stroke-prone spontaneously hypertensive rats,” *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, vol. 29, pp. 963–7, 2002.

-**Z. A. Okhti, M. E. Abdalah, and D. B. Hanna**

“Phyto-chemical structure and Biological -Effect of Ginkgo biloba leaves: A review,” *International Journal of Pharmacological Research*, vol. 13, no. 2, 2021.

-Z. H. Liu, D. M. Wang, S. F. Fan, D. W. Li, and Z. W. Luo

“Synergistic effects and related bioactive mechanism of *Potentilla fruticosa* L. leaves combined with *Ginkgo biloba* extracts studied with microbial test system (MTS),” *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 16, no. 1, p. 495, 2016.

Annexes

AnnexeI

Verreries et autres matériels :

- Boit de pétrie
- Bécher gradué
- Eprouvettes graduées
- Entonnoirs
- Erlenmeyers
- Papier filtre
- Pipetes gradués à 5ml et à 10ml stériles
- Spatules métalliques
- Bec bunsen
- disque bactérienne stérile
- Papier aluminium
- Pissette
- Pince

Annexe II

Matériel utilisé

spectrophotométrie	
vortex	
agitateur	
Ph mètre	

balance



etuve



four à moufle



capsules en porcelaine

