



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des Sciences

Département de chimie

Spécialité : Chimie appliquée

Mémoire de fin d'études

En vue d'obtention de diplôme de master 2

Thème :

**Étude phytochimique et biologique d'une plante
de genre *asphodelus* de la famille *Liliaceae***

Préparé Par :

HAFIS YOUSOUF Abdoulaye

ERROUKRMA Yazid

Devant le jury composé de:

Mme. N. BENSEMMANE

Maitre-assistant B

Présidente

Mme. M. AISSAOUI

de conférences B

Examinatrice

Mr. A.MEZRAG

Maître de conférences B

Promoteur

Soutenu le 10/07/2023

Résumé

Notre étude vise à approfondir la compréhension des propriétés phytochimiques et à évaluer les activités biologiques des extraits de plantes appartenant au genre *Asphodelus* de la famille Liliaceae. Dans le cadre de notre recherche, nous avons réalisé un criblage phytochimique des parties aériennes de la plante, suivi de la quantification des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins totaux dans les extraits éthanoliques et chloroformiques. De plus, nous avons évalué l'activité antioxydante en utilisant deux méthodes : le piégeage du radical libre DPPH et le blanchiment du β -carotène. Ensuite, nous avons examiné les activités antimicrobiennes.

L'analyse phytochimique réalisée sur l'espèce étudiée a révélé la présence de divers métabolites secondaires, notamment des flavonoïdes, des tannins et les quinones.

La teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins dans les extraits de la plante a révélé une concentration élevée de ces composés. L'extrait chloroformique a affiché une teneur en polyphénols de $81,82 \pm 0,035$ mg EAG/g et une teneur en tanins de $12,84 \pm 0,035$ mg EC/g d'extrait, tandis que l'extrait éthanolique a présenté une teneur en flavonoïdes de $11,82 \pm 1,81$ mg EQ/g.

l'activité antioxydante DDPH Le résultat de l'extrait éthanolique est de 0.715 ± 0.03 mg/ml comparé à celle de l'acide ascorbique qui est de 0.020 ± 0.01 mg/ml.

l'extrait éthanolique de notre plante a montré quant à lui aussi une activité antioxydante significative proche de celle du BHT qui est de 61,36 %.

Selon les résultats de l'activité antimicrobienne testés nous constatons que l'extrait éthanolique n'a donné aucune réponse sur les 7 souches visés par contre l'extrait chloroformique nous a montré une sensibilité contre la souche *staphylococcus aureus* avec un diamètre de 10, 3mm et contre *l'Aspargillus brasiliensi* de 9,7 mm.

Mots clés : *Asphodelus*, activité antioxydant, activité antimicrobienne, flavonoïdes.

Abstract

Our study aims to deepen the understanding of phytochemical properties and to evaluate the biological activities of plant extracts belonging to the genus *Asphodelus* of the family Liliaceae. As part of our research, we carried out phytochemical screening of the aerial parts of the plant, followed by quantification of polyphenols, flavonoids and total tannins in the ethanolic and chloroformed extracts. In addition, we evaluated antioxidant activity using two methods: the trapping of the free radical DPPH and the bleaching of β -carotene. Then we looked at antimicrobial activities.

Phytochemical analysis of the study species revealed the presence of various secondary metabolites, including flavonoids, tannins and quinones.

Polyphenols, flavonoids and tannins in plant extracts showed a high concentration of these compounds. The chloroformed extract had a polyphenol content of 81.82 0.035 mg EAG/g and a tannin content of 12.84 0.035 mg EC/g extract, while the ethanolic extract had a flavonoid content of 11.82 1.81 mg EQ/g.

the antioxidant activity DDPH The result of the ethanol extract is 0.715 0.03 mg/ml compared to that of the ascorbic acid which is 0.020 0.01 mg/ml.

The ethanolic extract of our plant also showed a significant antioxidant activity close to that of BHT which is 61.36%.

According to the results of the antimicrobial activity tested we find that the ethanolic extract gave no response on the 7 strains targeted by the chloroformed extract showed us a sensitivity against the strain *staphylococcus aureus* with a diameter of 10, 3mm .and 9.7mm *Aspargillus brasiliensi*.

Keywords: *Asphodelus*, antioxydant activity, antimicrobial activity, flavonoids.

ملخص

دراستنا تهدف إلى تعميق فهم الخصائص الفيتوكيميائية وتقييم الأنشطة البيولوجية لمستخلصات النباتات التابعة لجنس *Asphodelus* من عائلة Liliaceae. في إطار بحثنا، قمنا بإجراء فحص فيتوكيميائي لأجزاء النبات الهوائية، تلاه قياس محتوى البوليفينولات والفلافونويدات والتانينات الكلية في المستخلصات الإيثانولية والكلوروفورمية. بالإضافة إلى ذلك، قمنا بتقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقتين: معايرة حر راديكال DPPH وتلاشي β -carotène. بعد ذلك، قمنا بدراسة الأنشطة المضادة للميكروبات.

كشف التحليل الفيتوكيميائي الذي أجري على النوع المدروس عن وجود مجموعة متنوعة من المركبات الثانوية الأيضية، بما في ذلك الفلافونويدات والتانينات والكينونات.

كشف محتوى البوليفينولات والفلافونويدات والتانينات في مستخلصات النبات عن تركيز مرتفع من هذه المركبات. أظهرت المستخلص الكلوروفورمي محتوى بوليفينولات بمقدار 81.82 ± 0.035 ملغ/EAG جم ومحتوى تانين بمقدار 12.84 ± 0.035 ملغ/EC جم من المستخلص، بينما أظهر المستخلص الإيثانولي محتوى فلافونويدات بمقدار 11.82 ± 1.81 ملغ/EQ جم.

أظهرت نتيجة النشاط المضاد للأكسدة DPPH للمستخلص الإيثانولي 0.715 ± 0.03 ملغ/مل مقارنة بنتيجة حمض الأسكوربيك التي بلغت 0.020 ± 0.01 ملغ/مل. أظهر مستخلص الإيثانول أيضاً نشاطاً مضاداً للأكسدة ملحوظاً يقترب من نشاط BHT بنسبة 61.36%.

وفقاً لنتائج النشاط المضاد للميكروبات التي تم اختبارها، لاحظنا أن مستخلص الإيثانول لم يظهر أي استجابة ضد السلالات السبع المستهدفة، بينما أظهر مستخلص الكلوروفورم حساسية ضد سلالة *staphylococcus aureus* بقطر 10.3 مم، وضد *Aspargillus brasiliensi* بقطر 9.7 مم.

الكلمات الرئيسية: *Asphodelus* ، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات، الفلافونويد.

Remerciement

Tout d'abord, on remercie DIEU tout puissant de nous avoir donné la patience, le courage et la volonté afin de rédiger notre travail.

Un merci particulier à Mr. Abderrahmane . MEZRAG pour l'attention portée à notre travail. Elle nous a encadrées avec une grande rigueur scientifique.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mme Nachida BENSEMANE, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'accepter d'être présidente du jury.

Nous tenons également à remercier Mme Meriem AISSAOUI, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, que ce soit professionnellement, moralement, ou financièrement.

Nous remercions le membre du laboratoire de chimie qui nous ont accompagné toute au long de cette expérience professionnelle avec beaucoup de gentillesse et patience.

Nous adressons nos meilleurs et chaleureux remerciements à tous les enseignants de la filière de chimie appliquée et à toute personne qui nous a aidés de près ou de loin dans la réalisation de ce travail, sans oublier bien sur nos collègues de la promotion.

Merci à tous.

Dédicace

C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que nous dédions ce modeste travail de fin d'étude à nos chers parents ; qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite et nous ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux, Nous n'espérons qu'un jour, nous pourrions leurs rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour nous, que DIEU leur prête tout le bonheur et une longue vie. Nous dédions aussi ce travail à nos frères et sœurs, nos familles, nos amies, tous nos professeurs qui nous ont enseignés et à tous ceux qui sont chers.

HAFIS YOUSOUF Abdoulaye

ERROUKRMA Yazid

Listes des tableaux

Tableau I.1: Les espèces d'asphodèles en Algérie.....	7
Tableau I.2 : Les composés isolés du genre <i>Asphodelus</i>	9
Tableau II.1: Absorbance en UV à 420 nm des deux extraits asphodelus de dosage flavonoïdes	21
Tableau II.2: Absorbance en UV à 765 nm des deux extraits asphodèlus de dosage polyphénols totaux.....	23
Tableau II.3: Absorbance en UV à 550 nm des deux extraits asphodèlus de dosage tanins... ..	23
Tableau II.4 : Absorbance en UV à 517 nm des trois extraits asphodèlus et desantioxydants de référence lors du test de piégeage de radicale libre DPPH.....	26
Tableau II.5: Absorbance en UV à 490 nm des deux extraits de asphodèlus.....	28
Tableau II.6: Souches bactériennes testées et leurs provenances.....	29
Tableau II.7: Souches de champignons testées et leurs provenances.....	30
Tableau III.1: Résultats de screening phytochimique de plante asphodèlus.....	35
Tableau III.2: Aspect couleur et rendement de différents extraits asphodèlus	37
Tableau III.3: Résultats du dosage en polyphénols totaux dans les deux extraits <i>Asphodelus</i>	39
Tableau III.4 : Résultats du dosage en flavonoïdes totaux dans les deux extraits <i>Asphodelus</i>	40
Tableau III.5: Résultats du dosage en tanins totaux dans les deux extraits des plantes <i>Asphodelus</i>	42
Tableau III.6 :zones d'inhibitions des extraits et de références dans différentes souches	46

Listes des figures

Figure I-1 :Description botanique de la famille des Liliacées.	5
Figure II-1 : Les étapes d'extraction solide-liquide.....	17
Figure II-2 : Schéma de protocole d'extraction solide-liquide	18
Figure II-3: Extraits préparées pour le screening	19
Figure II-4: Réaction du Chlorure d'aluminium et les Flavonoïdes	21
Figure II-5 : Protocole de dosage des flavonoïdes totaux	22
La figure II-6: résume le protocole de dosage des tanins totaux	24
Figure II-7 : Réaction de radical DPPH• avec un antioxydant AH.	25
Figure II-8: Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des trois extraits de plante Asphodélus par la méthode de DPPH	26
Figure II-9 : Protocole de l'évaluation de l'activité antiradicalaire par la méthode de DPPH .	27
Figure II-10 : protocole d'évaluation du blanchiment du β -carotène	29
Figure II-11: Extraits dissous dans le DMSO	31
Figure II-12: Préparation du milieu de culture.....	31
Figure II-13: Ensemencement des bactéries.....	32
Figure II-14: Dépôt des disques imprégnés par les extraits	33
Figure II-15: Schéma de zone d'inhibition dans un test antibactérien	33
Figure III-1: Courbe d'étalonnage d'acide gallique	38
Figure III-2: Diagramme à barre représentatif des teneurs en polyphénols des extraits.....	39
Figure III-3 : Courbe d'étalonnage de la quercétine	40
Figure III-4 : Évaluation des flavonoïdes totaux des deux extraits de plante <i>Asphodelus</i>	41
Figure III-5 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	41
Figure III-6 : Évaluation des tanins des deux extraits de plantes <i>Asphodelus</i>	42
Figure III-7 : Courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH par standard testé d'acide ascorbique en fonction de la concentration.	43
Figure III-8 : Courbe d'inhibition % du DPPH en fonction de concentration de l'extrait	44
Figure III-9 :Courbe d'absorbance de bêta-carotène en fonction du temps en présence des extraits et de référence	45
Figure III-10 : Diagramme à barre représentatif d'activité antioxydante % de extraits et de référence du test bêta-carotène.....	45
Figure III-11 :Résultats des test activité antimicrobienne.....	47

Liste des abréviations

HA : l'extrait hydro-alcoolique

C : l'extrait chloroformique

E : l'extrait éthérique

CHCl₃ : chloroforme

EtOH : éthanol

NaOH : hydroxyde de sodium

Mg : magnésium

AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium

HCl : acide hydrochlorique

FeCl₃ : chlorure ferrique

KOH : hydroxyde de potassium

IC₅₀ : concentration inhibitrice à 50%

DPPH: radical 1,1-diphényl-2 picrylhydrazyl

OH•: radical hydroxyl

DMSO: Diméthyle sulfoxyde

EAG : équivalent de l'acide gallique

EQ : équivalent de quercétine,

EC: équivalent de Catéchine

% : Pourcent

NaCl : chlorure de sodium

Table de matière

Introduction générale

Chapitre I : APERÇUE BIBLIONGRAPHIQUE

I	Généralités sur la plante étudié	4
I.1	Description de la famille des <i>Liliacées</i>	4
I.1.1	Description botanique de la famille des <i>Liliacées</i>	4
I.1.2	Place dans la systématique.....	5
I.1.3	Utilisation médicinale	5
I.1.4	Utilisation Alimentaire.....	6
I.1.5	Principales métabolites secondaires de la famille Liliacée.....	6
I.2	généralités sur le du genre <i>Asphodelus</i>	6
I.2.1	le genre <i>asphodelus</i>	6
I.2.2	description botanique du genre <i>Asphodelus</i>	6
I.2.3	Différentes espèces du genre <i>Asphodelus</i> les plus documentées.....	8
I.2.4	Études ethnomédicales.....	8
I.2.5	Les travaux antérieurs sur le genre <i>Asphodelus</i>	9
I.2.6	rôles et usages traditionnelles	12
I.3	Les composés phénoliques.....	13
I.3.1	Polyphénols.....	13
I.3.2	Flavonoïdes	13
I.3.3	Acides phénoliques	13
I.3.4	Tanins.....	14
I.4	Propriétés biologiques des métabolites secondaires	14
I.4.1	Activités biologiques	14
I.4.2	Activité antioxydante	14
I.4.3	Activité antibactérienne	14
I.4.4	Activité antifongique	15

Chapitre II : PARTIE EXPÉRIMENTALE

II	Matériels et méthodes	17
II.1	Matériel végétal	17
II.2	Extraction.....	17
1.1.1	Extraction par macération à froid	17
II.3	Analyse qualitative.....	18
II.3.1	Le screening phytochimique	18
II.3.1.1.	Préparation des extraits du screening.....	19
II.3.1.2	Préparation de l'extrait hydro-alcoolique (HA).....	19
II.3.1.3	Préparation de l'extrait chloroformique (C)	20
II.3.1.4	Préparation de l'extrait éthérique (E).....	20
II.3.2	Différentes classes recherchées.....	20
II.3.2.1.	Flavonoïdes	20
II.3.2.2.	Tannins	20
II.3.2.3	Quinones.....	20
II.3.2.4	Anthraquinones	20
II.4	Quantification des composés phénoliques	20
II.4.1	Dosage des flavonoïdes totaux :	21
II.4.1.2	Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine(C ₁₅ H ₁₀ O ₇) :.....	22
II.4.2	Dosage des polyphénols totaux.....	22
II.4.3	Dosage des tanins.....	23
II.5	Évaluation des activités biologiques.....	24
II.5.1	Évaluation de l'activité antioxydante	24
II.5.1.1	La méthode de piégeage du radical libre DPPH	24
II.5.1.1.1	Préparation du DPPH :.....	25
II.5.1.2	Méthode de blanchissement du β-carotène :.....	27
II.5.2	Activité antibactérienne in vitro.....	29

II.5.3	Activité antifongique in vitro	30
II.5.3.1	Préparation des extraits	30
II.5.3.2	Préparation de milieu de culture	31
II.5.3.3	Préparation de la suspension bactérienne	32
II.5.3.4	Ensemencement	32
II.5.3.5	Applications des disques d'extrait.....	32
II.5.3.6	Lecture des résultats.....	33

Chapitre III : RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

III	RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS.....	35
III.1	Screening phytochimique.....	35
III.2	Rendement de l'extraction	37
III.3	Résultats de l'étude quantitative	38
III.3.1	Dosage des polyphénols totaux.....	38
III.3.2	Dosage des flavonoïdes.....	39
III.3.3	Dosage des tanins	41
III.4	Résultats des tests biologiques.....	43
III.4.1	Activité antioxydante	43
III.4.2	Méthode de réduction du radical libre DPPH.....	43
III.4.3	Méthode de blanchissement du β -carotène (BCB).....	44
III.5	Résultat de l'évaluation de l'activité antibactérienne et fongique.....	46

Conclusion générale

Références bibliographiques

INTRODUCTION GÉNÉRALE

De nos jours, malgré les avancées réalisées en médecine, de nombreuses populations continuent de se tourner vers les plantes pour se soigner. Cette démarche peut être motivée soit par l'inaccessibilité aux médicaments prescrits par la médecine moderne, soit par les résultats thérapeutiques prometteurs observés lors de l'utilisation de ces plantes, associés à des effets secondaires moindres. Par ailleurs, l'utilisation de plantes est souvent perçue comme moins agressive et moins nocive pour l'organisme.

Les plantes sont une source immense de molécules chimiques complexes exploitées par l'homme dans plusieurs industries telles que l'industrie cosmétique, l'industrie agro-alimentaire et l'industrie pharmaceutique. La diversité de ces molécules naturelles qui ne sont pas essentielles à la viabilité des plantes restent une énigme pour les biologistes qui essayent de décrypter leur rôle dans la nature. De même, l'élucidation des voies de biosynthèse conduisant à des produits naturels originaux est un champ d'investigation inépuisable pour les scientifiques. L'homme préhistorique, qui avait très peu de moyens, devait se nourrir des produits de cueillette et de chasse. En assimilant la flore locale, il a découvert les plantes utiles et indispensables pour survivre. Ce régime, essentiellement végétarien, a constitué le berceau de l'utilisation des produits naturels [1].

On sait que beaucoup de plantes médicinales sont toxiques et en tant que tels ont des effets secondaires sur l'organisme. En effet, la même plante pourrait contenir des principes actifs autres que ceux qui ont des propriétés thérapeutiques pouvant entraîner des effets secondaires. Avant toute utilisation des plantes médicinales, il est donc nécessaire de faire une étude toxicologique pour éviter des accidents liés aux doses qui doivent être bien déterminées.

Cela permet en même temps d'approfondir la connaissance des divers principes dans ces plantes.

A côté des métabolites primaires, les végétaux accumulent des métabolites dits secondaires dont l'absence n'est pas létale, mais ont des fonctions très importantes pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent [2] [3]. Par ailleurs, les métabolites secondaires sont des molécules bioactives exploitables dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire [4].

Le continent africain est doté d'une biodiversité importante et l'Algérie qui s'y situe possède une flore considérable qui comporte un très grand nombre d'espèces, cependant cette richesse reste peu explorée.

Dans ce travail, on s'est intéressés à la valorisation la plante *Asphodelus* par la recherche des principaux groupes chimiques et le dosage des polyphénols totaux, des

flavonoïdes et des tannins, et par l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne de leurs extraits.

Le présent manuscrit est organisé comme suit.

La première partie de ce travail concerne tout d'abord la synthèse bibliographique qui porte sur une description botanique et chimique des plantes du genre *Asphodelus*.

La deuxième partie est consacrée aux matériel et méthodes où sont détaillés les protocoles expérimentaux relatifs à l'extraction, au dosage qualitatifs et quantitatif des composés phytochimiques, à l'évaluation des activités anti-oxydants et antibactériennes des composés isolés.

Puis la dernière partie résultats et discussion qu'est consacrée pour la présentation et la discussion des différents résultats.

Et enfin une conclusion générale ainsi que des perspectives de recherche sont apportées pour compléter le présent travail.

Chapitre I : APERÇUE BIBLIONGRAPHIQUE

I Généralités sur la plante étudié

I.1 Description de la famille des *Liliacées*

La famille des *Liliacées* est très hétérogène et elle a été depuis longtemps divisée en multiples familles plus petites et plus homogènes : c'est cette conception qui prévalu dans la belle synthèse d'ensemble de la classification des Monocotylédones (incluant donc les *Liliacées*).

Liliacées sont utilisées localement lors de la fête des Rameaux comme substitut aux branches de buis. Ils sont comestibles, crues ou cuites, comme les asperges sauvages, par contre, les baies sont toxiques [5].

Les recherches récentes ont fait éclater cette famille qui n'avait rien d'un groupe monophylétique [6].

I.1.1 Description botanique de la famille des *Liliacées*

La famille des Liliacées est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs. Elle comprend plus de 250 genres et 3000 espèces qui sont des monocotylédones très largement distribuées [7]. La plupart sont herbacées possèdent des bulbes, des cormes (bulbes formés d'une tige renflée entourée d'écailles) ou des rhizomes. Un certain nombre d'espèces sont xérophytiques et quelques-unes sont charnues comme l'aloès. Les inflorescences sont généralement racémiques, mais les tulipes, par exemple, sont célibataires. Les fleurs sont régulières et parfaites. Cette famille tient une place importante dans la flore méditerranéenne et dans celle les régions steppiques des divers continents. Cette famille est représentée au Sahara par les genres suivants ; *Colchicum L.*, *Merendera Ramod.*, *Asphodelus L.*, *Asparagus L.*, *Androcymbium Willd.*, *Urginea Steinh.*, *Battandiera Maire.*, *Aphyllanthes L.*, *Asphodeline Rchb.*, *Simethis Kunth.*, *Anthericum L.*, *Fritillaria L.*, *Tulipe L.*, *Gagea Salisb.*, *Scilla L.*, *Dipacdi Medik.*, *Ornithogalum L.*, *Bellivallia Lapeyr.*, *Muscari Mill.*, *Ruscus L.*, *Smilax L.* et *Allium L* [8].

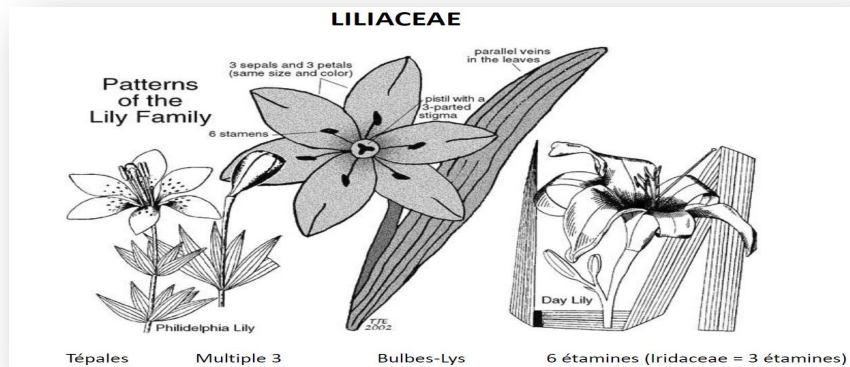


Figure I-1 : Description botanique de la famille des Liliacées.

I.1.2 Place dans la systématique

C'est l'une des plus importantes familles selon la classification suivante :

- Règne : **Plantae**
- Sous règne : **Tracheobionta**
- Superdivision : **Spermatophyta**
- Division : **Magnoliophyta**
- Classe : **Liliopsida**
- Sous classe : **Liliidae**
- Ordre : **Liliales**
- Famille : **Liliaceae**

I.1.3 Utilisation médicinale

Les bulbes des Liliacées ont une importance économique notable notamment dans les domaines de la médecine et de l'horticulture. Beaucoup d'espèces sont ainsi utilisées comme nourriture et fréquemment comme médicament. Certains bulbes de *Fritillaria* (environ 8 espèces) sont communément utilisés dans la pharmacopée chinoise. Différents bulbes de *Lilium*, *Gagea (Lloydia) tibetica*, *Amnaedulis* et *Cardiocrinum giganteum* sont très utilisés dans le traitement de la toux ou des plaies et sont diurétiques et toniques. En Iran les bulbes d'*Amnaedulis* sont grillés et consommés. Un amidon de bonne qualité a extrait des bulbes d'*Erythronium japonicum* et de *Cardiocrinum cordatum* [9].

I.1.4 Utilisation Alimentaire

Certaines espèces de Liliacée, notamment l'oignon, l'ail, l'échalote produisent des bulbes très appréciés en cuisine, qui interviennent dans de nombreuses recettes, Ces plantes comestibles fournissent lors de la digestion un grand nombre de fibres alimentaires [10].

I.1.5 Principaux métabolites secondaires de la famille Liliacée

La famille des Liliacées est une riche source de produits naturels présentant une vaste gamme de diversité structurelle. Une multitude de produits naturels ont été isolés et caractérisés à partir des Liliacées, notamment les diterpènes entériques de kaurane [11], les glycosides flavonoïdes [12], les anthocyanines [13], les stilbènes, les phénoliques [14], les glucosides phénoliques [15]. Les amides phénoliques [16], les caroténoïdes [17], les stérols [18], les alcaloïdes [19] et les composés contenant du soufre [20].

I.2 Généralités sur le du genre *Asphodelus*

I.2.1 Le genre *Asphodelus*

Asphodelus est un genre d'herbes principalement vivaces, avec des rhizomes amyliacés, des cormes ou des bulbes. Ce sont des plantes vivaces herbacées robustes aux feuilles radicales étroites et touffues et à la tige allongée portant des fleurs pédonculées blanches ou jaunes sous forme d'une grappe. Ce genre est originaire d'Europe tempérée, de la Méditerranée, d'Afrique, du Moyen-Orient et du sous-continent indien, et maintenant naturalisé dans d'autres endroits (Nouvelle-Zélande, Australie, Mexique, sud-ouest des États-Unis, etc.) [21]. Il atteint sa plus grande diversité à l'ouest de la Méditerranée, notamment dans la péninsule ibérique et en Afrique du Nord-Ouest, comprend cinq sections et il se présente par 18 espèces. Les espèces du genre *Asphodelus* ont été utilisées pour plusieurs applications ethnomédicales telles que le diabète et différentes parties de la plante (feuille, fruit, graine, fleur et racine) ont été utilisées dans les médecines traditionnelles à base de plantes, seules ou en combinaison avec d'autres plantes pour traiter diverses maladies [22]

I.2.2 Description botanique du genre *Asphodelus*

Herbes annuelles ou vivaces, avec ou sans rhizomes ; tiges simples ou ramifiées, racines généralement épaissies, gonflées ou fusiformes. Feuilles en rosette basale, dorsiventrale, linéaire, fistuleuse, bord entier. Inflorescences axillaires et terminales, simples ou ramifiées, scapiformes, racémeuses à paniculées, peu de fleurs et espacées vers l'apex ; bractées florales lancéolées, à 1 nervure, souvent scarieuses. Pédicelles à 2 articulations. Fleurs montantes, périanthe blanc ; 6 tépales libres ou légèrement connés à la base formant un tube court, blanc ou rose, à une nervure centrale sombre ; 6 étamines, filaments blancs, élargis vers la base et

anthères elliptiques, linéaires, oblongues ou ovales- ellipsoïdes ; ovaire avec 2 ovules par loge, style filiforme, stigmaté sous-capité. Capsules globuleuses ou sous-globuleuses, coriaces ; graines 1-2 par locule, ridées transversalement [23].

Tableau I.1: Les espèces d'*Asphodèles* en Algérie.

Espèce	Synonymes	Nom arabe	Localisation
<i>Asphodelus acaulis</i>	<i>Clausiana acaulis</i>	Azzidda	Pâturages, clairières, fissures des rochers. Ain Mlila, Sétif. Assez commune : Sous-secteur littoral algérois : près de Boghar. Sous-secteur des sahels littoraux oranais. Sous-secteur de l'Atlas tellien oranais.
<i>Asphodelus cerasiferus</i>	<i>Asphodelus repens</i> <i>Asphodelus corsicus</i>	Berouaga Ançal Belouaz	Forêts et pâturages de montagnes. Assez commune : Sous-secteur de l'Atlas tellien oranais, monts de Tlemcen et de Daya.
<i>Asphodelus microcarpus</i>	<i>Asphodelus nervosus</i> <i>Asphodelus morisitanus</i>	Baton de saint joseph Berouaga Ançal Belouaz	Forêts et pâturages Très commune : Tell, hauts plateaux, Atlas saharien.
<i>Asphodelus refractus</i>	<i>Asphodelus pendulinus</i>	Acheub el Ibel Izéan, Tazia.	Pâturages sablonneux désertiques et subdésertiques. Assez commune dans la Sahara septentrional. Rare au Sahara central et méridional.

<i>Asphodelus fistulosus</i>		Bouzlima Boussila Belouaz Berouiga Zittout	Pâturages arides, steppes. Assez rare : sous-secteur du littoral algérois. sous-secteur des hauts plateaux algérois et oranais. sous-secteur des hauts plateaux constantinois. sous-secteur de l'Atlas saharien.
<i>Asphodelus tenuifolius</i>		Acheub el Ibel Izéan, Tazia.	Dunes, pâturages arides, steppes. Commune : Sous-secteur des sahels littoraux oranais. Sous-secteur des hauts plateaux. Tout le Sahara.

I.2.3 Différentes espèces du genre *Asphodelus* les plus documentées

Différentes espèces du genre *Asphodelus* les plus documentées Parmi les nombreuses plantes utilisées dans la médecine traditionnelle, nous avons les plantes du genre *Asphodelus*, qui sont présentes dans la zone méditerranéenne en Afrique du Nord et en Asie du Sud-Est, et ont été utilisées par la population locale jusqu'à récemment pour diverses pathologies, notamment le psoriasis, l'alopecie areata, l'acné, les brûlures, les maux de dents et les inflammations locales [24].

Dix-huit espèces appartiennent au genre *Asphodelus*, avec différentes sous-espèces et variétés, et les plus décrites sont les espèces *Asphodelus tenuifolius*, *Asphodelus microcarpus*, *Asphodelus ramosus*, *Asphodelus aestivus* et *Asphodelus fistulosus*. Les parties utilisées de la plante sont les bulbes, les racines, la tige, les feuilles, et des graines, sous forme de décoctions à appliquer sur les zones touchées, sous forme d'extraits en milieu aqueux et alcoolisé. De plus, les plantes de l'Asphodèle sont consommées comme aliments dans la tradition gastronomique de certains pays [24].

I.2.4 Études ethnomédicales

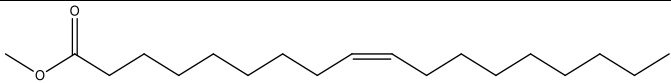
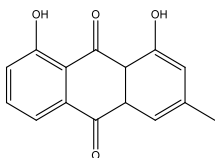
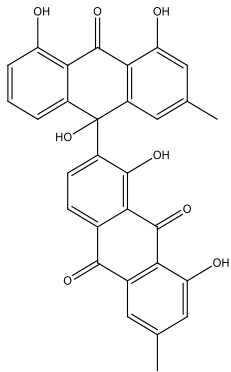
Les dossiers ethno médicaux ont montré que parmi les 18 espèces du genre *Asphodelus*, seules cinq espèces, à savoir *A. aestivus*, *A. fistulosus*, *A. microcarpus*, *A. ramosus* et *A. tenuifolius*, ont été documentées pour leurs utilisations traditionnelles. Le plus

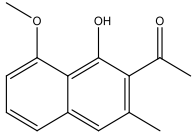
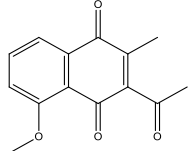
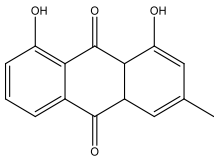
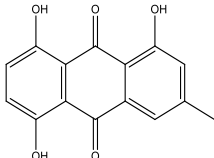
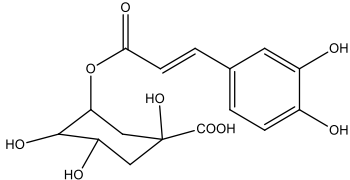
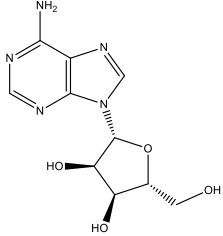
souvent, ces espèces étaient utilisées comme agents anti-inflammatoires et anti-infectieux. En particulier, *A. aestivus*, *A. fistulosus* et *A. microcarpus* ont été signalés comme étant utilisés dans les infections dermatomucosales dans divers pays, dont Chypre, l'Égypte, la Libye, la Palestine et l'Espagne. *A. microcarpus*, *A. ramosus* et *A. tenuifolius* étaient généralement inculpés comme agents anti-inflammatoires spécifiquement pour le traitement du psoriasis, de l'eczéma et des rhumatismes. *A. aestivus* et *A. tenuifolius* sont également utilisés pour le traitement des ulcères en Turquie, en Inde et au Pakistan. *A. ramosus* et *A. tenuifolius* ont fréquemment été signalés comme diurétiques chez les habitants de l'Égypte, de l'Inde, du Pakistan et de la Turquie [25].

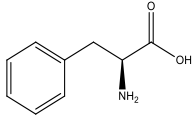
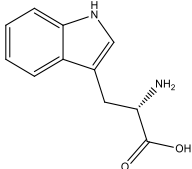
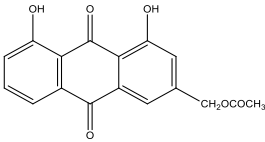
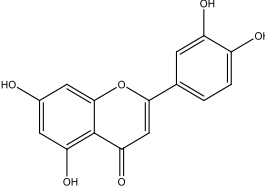
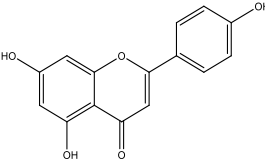
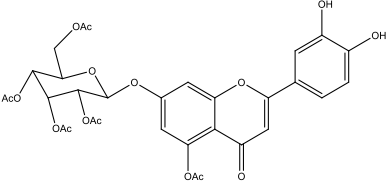
I.2.5 Les travaux antérieurs sur le genre *Asphodelus*

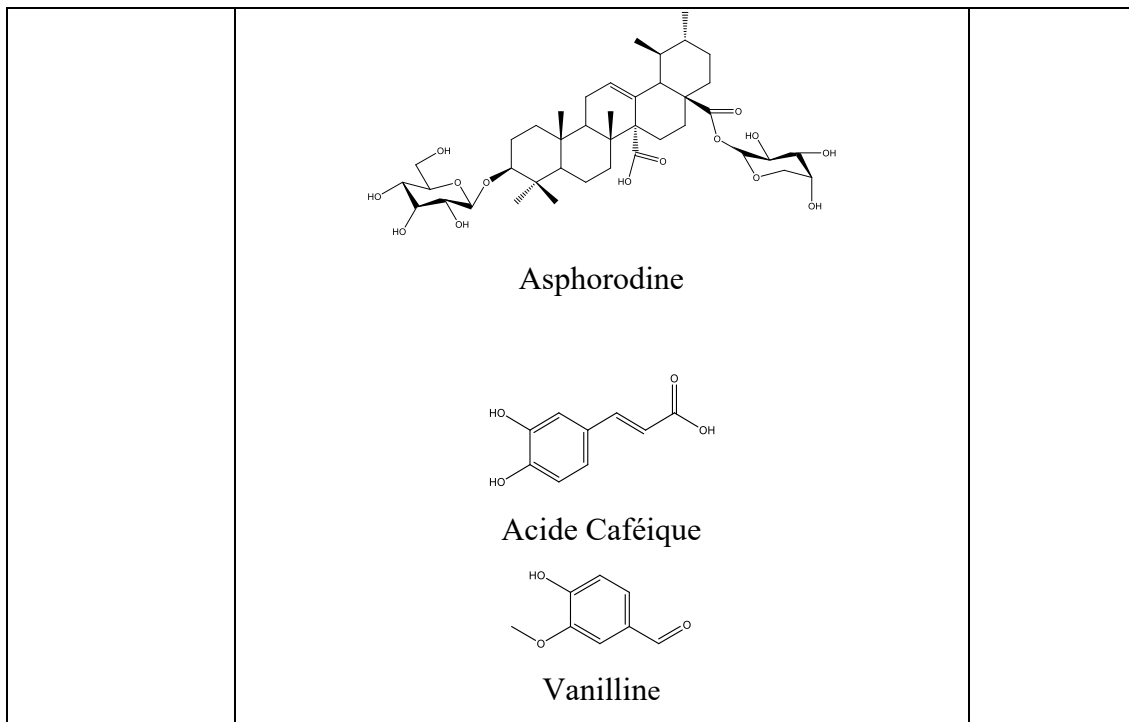
Du point de vue chimique, ce genre a fait l'objet d'intenses investigations dans le but d'isoler différents types de composés comme le montre le tableau ci-dessous

Tableau I.2 : Les composés isolés du genre *Asphodelus*.

Espèces	Composés isolés	Référence
<p><i>Asphodelus microcarpus</i></p>	 <p>Ester méthylique d'acide oléique</p>	[26]
	 <p>Chrysophanol</p>	[26]- [27]
	 <p>10- (chrysophanol-7'-yl)-10-hydroxy chrysophanol- 9-anthrone</p>	[26]

<p><i>Asphodelus lutea</i></p>	<div style="text-align: center;">  <p>2-acétyl-1-hydroxy-8-méthoxy-3-méthylnaphtalène</p> <p>[28]</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>2-acétyl-8-méthoxy-3-méthylnaphtoquinone</p> <p>[28]</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Chrysophanol</p> <p>[28]- [29]</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>1,5,8-trihydroxy-3-méthylantraquinone</p> <p>[27]</p> </div>	<p>[28]</p> <p>[28]</p> <p>[28]- [29]</p> <p>[27]</p>
<p><i>Asphodelus aestivus</i></p>	<div style="text-align: center;">  <p>L'acide chlorogénique</p> <p>[30]</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Adénosine</p> <p>[30]</p> </div>	<p>[30]</p> <p>[30]</p> <p>[30]</p>

	 <p>Phénylalanine</p>	[30]
	 <p>Tryptophan</p>	[30]
	 <p>Aloe-emodin acetate</p>	
<i>Asphodelus tenuifolius</i>	 <p>Luteoline</p>	[31]
	 <p>Apigenine</p>	[31]
	 <p>Luteolin 7-O-β-D-glycopyranosidetetraacetate.</p>	[32]
		[33]



I.2.6 Rôles et usages traditionnelles

Différentes utilisations ethno médicales ont été décrites pour les espèces *d'Asphodelus*. Différentes parties de la plante, y compris les feuilles, les fruits, les graines, les fleurs et les racines, sont utilisées comme plantes médicinales traditionnelles, seules ou en mélanges pour traiter diverses affections. Dans la péninsule ibérique, les usages médicaux généraux suivants ont été décrits : en frottant avec les tubercules coupés pour le traitement de l'eczéma cutané, les cendres des racines étaient utilisées contre l'alopecie, et la décoction de feuilles et de tiges était utilisée pour le traitement de la paralysie et le jus de capsules fraîches pour le traitement des maux d'oreilles [34]. Usage médicinal de l' *Asphodèle* est également commun dans les pays d'Afrique du Nord et d'Asie de l'Ouest et du Sud [35]. Outre ses usages médicaux, dans la péninsule ibérique, l'alcool obtenu par fermentation des tubercules est extrait et utilisé comme combustible et les populations locales d'Iran, de Turquie et d'Égypte utilisent les tubercules de racine d' *A. aestivus* et d'*A. microcarpus* pour produire un colle forte utilisée par les cordonniers et les cordonniers [36], et comme colorants jaunes et bruns pour teindre la laine.

I.3 Les composés phénoliques

I.3.1 Polyphénols

Les polyphénols, sont des groupes de molécules aux structures diverses, trouvent déjà une large utilisation en phytothérapie. Cependant, leurs connaissances sont encore imparfaites, mais elles suscitent actuellement beaucoup d'intérêt en raison des bénéfices qu'elles pourraient apporter en termes de prévention des maladies liées au vieillissement : infarctus du myocarde, cancers, maladies neurodégénératives [37]. Ils sont également impliqués dans la défense des plantes contre les rayons ultraviolets ou l'agression par des agents pathogènes et selon [38], les composés phénoliques constituent l'un des groupes de produits chimiques les plus étendus du règne végétal, dans lequel plus de 8000 composés ont été isolés et décrits par une structure caractérisée par la présence, au moins, d'un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles.

I.3.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments végétaux, simples ou glycosylés, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavones (par exemple, l'apigénol 13) et flavonols (comme le quercétol 14), incolores, ont un rôle de co-pigment et de protection alors que les flavonoïdes jaunes (chalcones comme l'isoliquiritigénine 16, aurones dont l'hispidol 17, et flavonols jaunes) et les anthocyanosides bleus et rouges sont directement visibles [3], ce composé se caractérise par 3 cycles, A, B et C, dont seuls A et B sont des cycles phénoliques, le cycle C étant un cycle chromanique. Cette structure est généralement notée C6-C3-C6. La structure générale de cette famille présente le cycle B en position C2 de cycle C. Cependant, certaines sous-classes de flavonoïdes diffèrent sur ce point avec une Obligation C3 ou C4. En effet, de nombreuses sous-classes se cachent derrière ce dénominateur commun : anthocyanes ; chalcones; les dihydrochalcones; les flavanols; les flavanones; les flavonols; isoflavones...etc. [39].

I.3.3 Acides phénoliques

Les acides phénoliques se trouvent en abondance dans les aliments et divisés en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique [38]

Acides phénoliques Les acides phénoliques se trouvent en abondance dans les aliments et divisés en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique.

I.3.4 Tanins

Les tanins sont des composés plus gros que les classes décrites précédemment. En effet, ce sont des molécules de polymère ([39]). Deux sous-classes se distinguent encore parmi les tanins : les tanins hydrolysables sont dérivés d'acides phénoliques simples, qui sont liés au Sucre par estérification et les tanins condensés ou proanthocyanidines sont des polymères de flavan-3-ols (catéchines) et de flavan-3,4-diols (leucoanthocyanines), ils ne sont que partiellement solubles dans l'eau et l'alcool [40].

I.4 Propriétés biologiques des métabolites secondaires

I.4.1 Activités biologiques

Les métabolites secondaires sont connus pour présenter diverses activités biologiques et thérapeutiques. Des études antérieures ont démontré l'implication de ces composés phénoliques dans un éventail d'activités biologiques telles que l'activité antioxydante, antibactérienne, anticancéreuse et enzymatique.

I.4.2 Activité antioxydante

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques. Les antioxydants sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs, la raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulier (0) et les radicaux hydroxyles (HO), collectivement connu sous le nom d'oxygène actif [41].

I.4.3 Activité antibactérienne

Les propriétés antibactériennes des plantes sont connues depuis longtemps car elles ont été une source d'inspiration pour l'étude et le développement de nouveaux composés pharmaceutiques et de médicaments dérivés des plantes, ces propriétés sont généralement dues aux métabolites secondaires contenus dans la plante. Parmi les principaux groupes de composés antimicrobiens on peut citer : Les polyphénols et les acides phénoliques, les flavonoïdes, les quinones, les tanins, les coumarines et les alcaloïdes [42] Les agents antimicrobiens sont des substances naturelles ou synthétiques capables de détruire ou d'inhiber la croissance de micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les algues, y compris les agents antibactériennes qui sont utilisés pour traiter les maladies et prévenir les infections causé par les bactéries [43]. Le mode d'action de ces agents sur les bactéries peut être bactériostatique,

lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries, ou bactéricide lorsque la substance détruit complètement les bactéries.

I.4.4 Activité antifongique

Le pouvoir antifongique des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes et contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans* (levure) [45].

Chapitre II : PARTIE EXPÉRIMENTALE

II Matériels et méthodes

II.1 Matériel végétal

Les parties aériennes d'une plante du genre *Asphodelus* ont été collectés au cours du mois d'avril dans la wilaya de Blida, située dans la région de Chiffa. La collecte des échantillons a été réalisée le matin afin de minimiser les effets de la chaleur.

Le matériel végétal récolté a été trié et séché à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant environ quinze jours. Une fois complètement sec, la partie aérienne a été broyée dans un mortier traditionnel, puis pulvérisée à l'aide d'un broyeur. Les extraits obtenus ont ensuite été soumis à différents tests phytochimiques. Les poudres végétales obtenues sont conservées dans des sacs en papier opaque pour les manipulations ultérieures.

II.2 Extraction

L'extraction est une étape qui permet la transformation de la matière végétale en un extrait. Le choix du solvant d'extraction est un facteur déterminant dans la procédure d'extraction.

II.2.1 Extraction par macération à froid

Cette étape d'extraction des substances naturelles est du type solide-liquide, c'est-à-dire qu'un solide, la matrice végétale, est mélangé avec un liquide, le solvant d'extraction.

100 g de la plante séchée et broyée ont été macérée dans trois solvants choisis pour l'extraction: 500 ml de cyclohexane, 500 ml du mélange chloroforme et 500 ml d'éthanol. Chaque macération dure 48 heures sans renouvellement de la plante [46].

Les macérats ainsi obtenus sont filtrés par du coton, puis évaporés par un Rotavapor sous pression réduite. Les résidus secs obtenus sont récupérés dans des flacons. Le protocole suivi figure dans les photos ci-dessous (Figure II.1) et le schéma de la (Figure II.2).

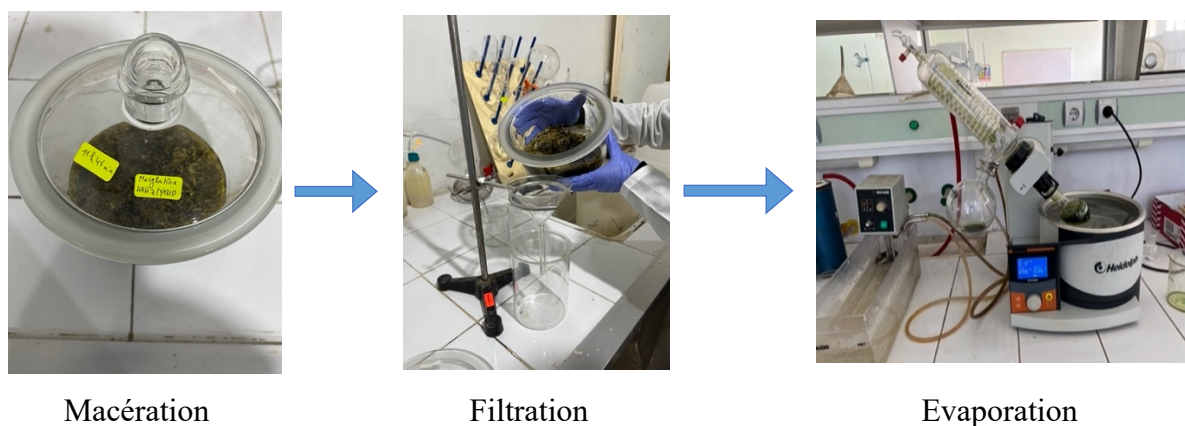


Figure II-1 : Les étapes d'extraction solide-liquide

On obtient ainsi les extraits bruts chloroformique, cyclohexanolique et éthanolique de la plante du genre *Asphodelus*.

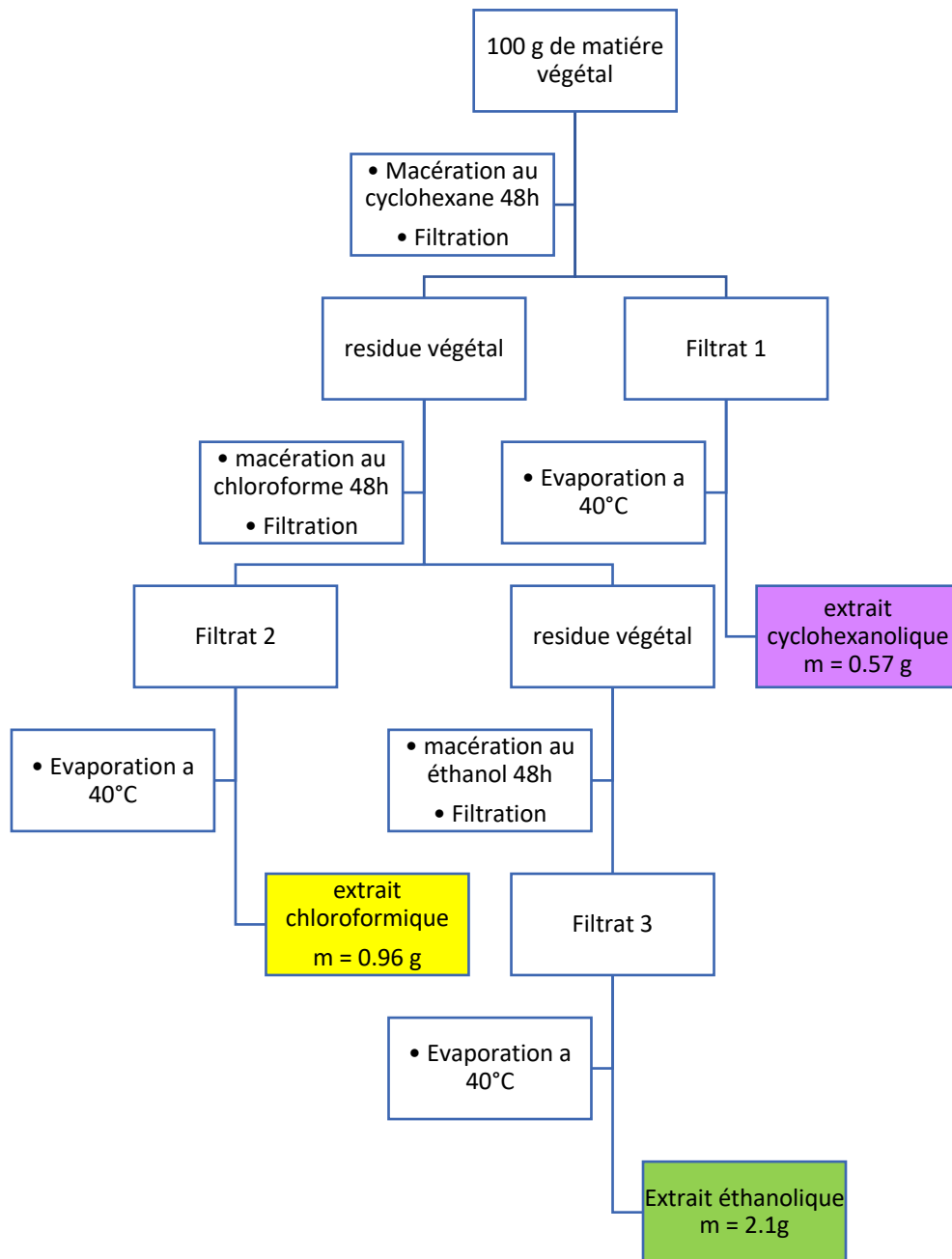


Figure II-2 : Schéma de protocole d'extraction solide-liquide

II.3 Analyse qualitative

II.3.1 Le screening phytochimique

Les métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les anthraquinones et les quinones sont des substances bioactives qui possèdent diverses propriétés et sont largement utilisées en phytothérapie. La détection de ces familles de composés est réalisée par le biais du screening ou criblage phytochimique.

Les différents extraits végétaux sont soumis à des tests pour détecter d'une façon qualitative la présence et/ou l'absence de différents constituants chimiques ou métabolites secondaires.

Les tests de caractérisation sont basés sur des réactions de coloration et/ou de précipitation avec formation de complexes colorés et insolubles. La coloration observée est provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié.

La mise en évidence des différents métabolites secondaires : tanins, flavonoïdes, quinone et anthraquinones est réalisée selon des méthodes standardisées. [47]

II.3.1.1 Préparation des extraits du screening

Pour faire le screening phytochimique : une extraction solide-liquide pour les parties aériennes de plante *Asphodelus* a été réalisée en utilisant des différents solvants polaires et apolaires, trois extraits sont obtenus : l'extrait hydro-alcoolique (HA), l'extrait chloroformique (C) et l'extrait éthérique (E). (Figure 3).



Extrait Extrait Extrait
Éthérique chloroformique Hydro-alcoolique

Figure II-3II: Extraits préparés pour le screening

II.3.1.2 Préparation de l'extrait hydro-alcoolique (HA)

Dans un erlenmeyer, nous avons ajouté 7g de matériel végétal et 100 ml d'un mélange éthanol/eau (70/30). Après une période de 24 heures, nous avons filtré le mélange pour obtenir une solution de l'extrait hydro-alcoolique (HA).

II.3.1.3 Préparation de l'extrait chloroformique (C)

On met dans un erlenmeyer, 4g du matériel végétal (Broyée) et 50 ml de chloroforme. Filtration de l'extrait chloroformique se fait après 24 h. On obtient une solution de l'extrait chloroformique (C)

II.3.1.4 Préparation de l'extrait éthérique (E)

Dans un erlenmeyer, nous avons ajouté 7g du matériel végétal (Broyée) et 30 ml éther de pétrole. Puis une filtration est faite après 24h, on obtient une solution de l'extrait éthérique (E)

II.3.2 Différentes classes recherchées

II.3.2.1 Flavonoïdes

La mise en évidence des flavonoïdes dans l'extrait hydro-alcoolique est réalisée par l'ajout de 0,5 ml d'HCl concentré et des copeaux de magnésium (Mg) à 2 ml de l'extrait testé. En laissant réagir, la présence d'une coloration rouge pourpre (flavanols), ou une coloration rouge violacée (flavanones et flavonols) indique la présence des flavonoïdes. [48]

De même, cette réaction est effectuée en absence des copeaux de magnésium, avec chauffage au bain-marie pendant 30 minutes, permet la détection des leuco-anthocyanes qui sont des dérivés des flavan-3,4-diols suite à l'apparition d'une coloration rouge. [48]

II.3.2.2 Tannins

Dans 2 tubes où chacun contenant 2 ml de l'extrait hydro-alcoolique, quelques gouttes de gélatine à 1% ont été ajoutées dans le premier tube, et quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl₃, 1%) dans le second. L'apparition d'une couleur bleu noir indique la présence des tannins galliques, et qui vire vers le brun verdâtre montre la présence des tannins catéchiques dans l'extrait, avec observation d'un précipité pour le test de gélatine. [49]

II.3.2.3 Quinones

Quelques gouttes d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH, 10%) sont ajoutées à 2 ml de l'extrait éthérique. Après agitation, un changement de couleur de la phase aqueuse vers le jaune, rouge ou violette indique la présence des quinones. [50]

II.3.2.4 Anthraquinones

À 2 ml de l'extrait chloroformique, on ajoute quelques gouttes d'une solution d'hydroxyde de potassium (KOH, 10%)

L'apparition d'une couleur rouge dans la phase aqueuse indique un test positif. [51]

II.4 Quantification des composés phénoliques

Cette méthode permet de déterminer la quantité des tanins, des flavonoïdes et des polyphénols totaux présents dans un extrait préparé à partir de notre plante.

II.4.1 Dosage des flavonoïdes totaux :

Principe : La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) a été utilisée pour déterminer la teneur totale en flavonoïdes. Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre qui forme une liaison Covalente avec le trichlorure d'aluminium (figure 4) ce qui donne des complexes jaunâtres ceci se traduit par le fait que le métal (Al) a perdu deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneurs d'électrons.

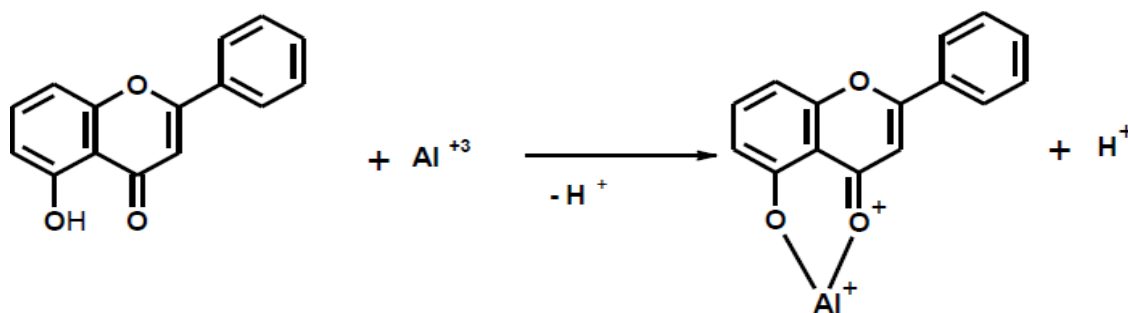


Figure II-4: Réaction du Chlorure d'aluminium et les Flavonoïdes

Le complexe jaune présente une absorbance maximale à 430 nm dont l'intensité est Proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présents dans l'échantillon [52].

Mode opératoire :

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée selon la méthode décrite par Marinova [53]. Avec modification des réactif (remplacé nitrite de sodium par acétate de sodium). Des volumes de 0,05 ml de solution d'acétate de sodium et de 0,05 ml de solution de chlorure d'aluminium ont été ajoutés à 1 ml de solution d'extrait ou de fraction Après 5 min d'incubation, le mélange a été mis en contact avec 1.4 ml l'eau distillée. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 420nm contre un blanc constitué de 0,05 ml de solution d'acétate de sodium de 0,05 ml de solution de chlorure d'aluminium et de 1.4ml de l'eau distillée. La quercétine a été utilisée comme standard de référence pour l'établissement de la courbe d'étalonnage et pour la quantification des teneurs en flavonoïdes totaux exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).Les résultats sont réunis dans le tableau suivant [53].

Tableau II.1: Absorbance en UV à 420 nm des deux extraits asphodelus de dosage flavonoïdes.

Extraits	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance moyenne

Extrait éthanol	0.335 nm	0.343 nm	0.339 nm
Extrait chloroforme	0.434 nm	0.471 nm	0.452 nm

II.4.1.1 Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine(C₁₅H₁₀O₇) :

La gamme d'étalon est préparée avec la quercétine à des concentrations variables de (0 à 30) µg/ml. 1000 µl de chaque dilution est a été mélangé avec 50 µl de trichlorure d'aluminium (10%) et 50µl d'acétate de sodium (1 M) et 2500 µl de l'eau distillée. Après une heure (1h) d'incubation à température ambiante L'absorbance a été mesurée à 420 nm par un spectrophotomètre UV-Visible [53].

La figure II.5 résume le protocole de dosage des flavonoïdes totaux

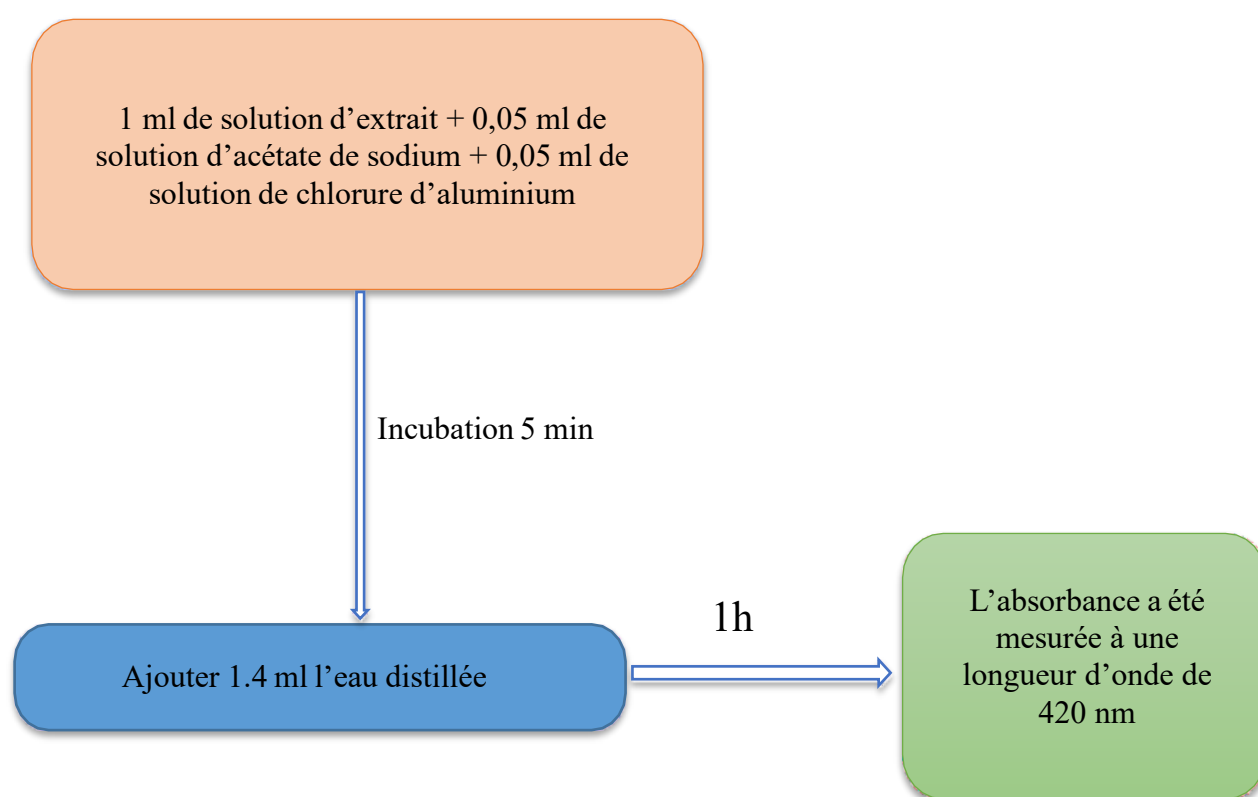


Figure II-5 : Protocole de dosage des flavonoïdes totaux

II.4.2 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits de la plante est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Talbi [54] avec quelques modifications. Un volume de 200 µl des solutions de différents extraits diluées dans l'éthanol (1 mg/ml chloroformique et éthanolique) est mélangé avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué dans l'eau distillée (1 : 10). Après 4 min, 800 µl d'une solution aqueuse de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés. Les tubes sont conservés à l'obscurité, à température ambiante pendant 2 heures et l'absorbance est

mesurée à 765 nm contre un blanc qui contient de l'éthanol au lieu d'échantillon. Les résultats sont réunis dans le tableau suivant.

Tableau II.2: Absorbance en UV à 765 nm des deux extraits de *Asphodèlus* de dosage polyphénols totaux.

Extraits	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance moyenne
Extrait éthanol	0.569 nm	0.592 nm	0.580 nm
Extrait chloroforme	0.971 nm	0.927 nm	0.949 nm

L'acide gallique (0 - 75 µg/ml) est utilisé comme standard pour établir la courbe d'étalonnage (Figure II.7), à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux dans les différents extraits est calculée par l'équation suivante : [55].

$$Teneur\ en\ polyphénols = \frac{C \times V}{M}$$

Où C : concentration d'acide gallique (µg/ml)

V : volume de solution d'extrait (ml)

M : masse d'extrait (mg)

II.4.3 Dosage des tanins

Un volume de 1ml de l'extrait a été additionné à 5ml d'une solution qui se compose de deux volumes de vanilline à 4% (préparé dans le méthanol) avec un volume de HCl à 37 %. L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 550 nm après 20 min d'incubation à l'obscurité (Iqbal, 2011). La teneur en tanins a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la catéchine. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g de MS). Les résultats sont réunis dans le tableau suivant.

Tableau II.3: Absorbance en UV à 550 nm des deux extraits *asphodèlus* de dosage tanins.

Extraits	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance moyenne
Extrait éthanol	0.036 nm	0.041 nm	0.038 nm
Extrait chloroforme	0.061 nm	0.069 nm	0.065 nm

La figure suivante résume le protocole de dosage des tanins totaux

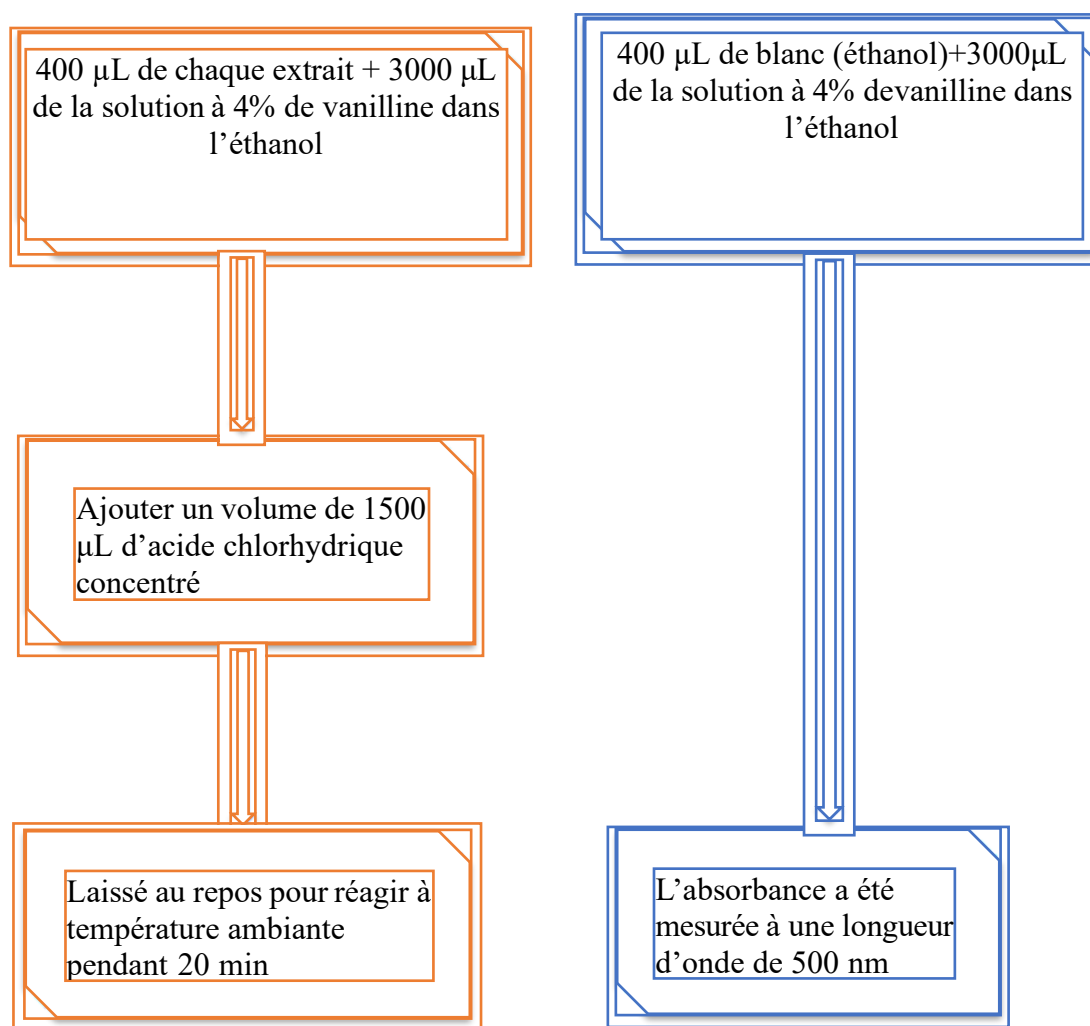


Figure II-6: Résume le protocole de dosage des tanins totaux

II.5 Évaluation des activités biologiques

II.5.1 Évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydant des extraits a été évaluée in vitro par deux méthodes différentes :

La méthode de piégeage du radical libre 2, 2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

La méthode de blanchissement de la β -carotène.

II.5.1.1 La méthode de piégeage du radical libre DPPH

Principe :

La réduction de ce radical stable par un agent antioxydant en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine) induit une perte de sa couleur violet foncé qui va se transformer en jaune pâle. Cette réaction qui s'effectue à température ambiante pour éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles peut être suivie par spectrophotométrie en mesurant la diminution de son absorbance caractéristique entre 515-518 nm provoquée par les antioxydants. Ce test est très utilisé, car il est rapide, facile et non coûteux [56]. Dans ce test, le substrat est un radical stable, qui peut en fait être neutralisés soit par réduction directe via des transferts d'électrons ou par des transferts d'atome d'hydrogène [56]. En formant le DPPH-H (2,2- diphényl-1-picrylhydrazine) avec perte de son ultime absorbance. Une faible absorbance indique une meilleure activité antioxydant [57].

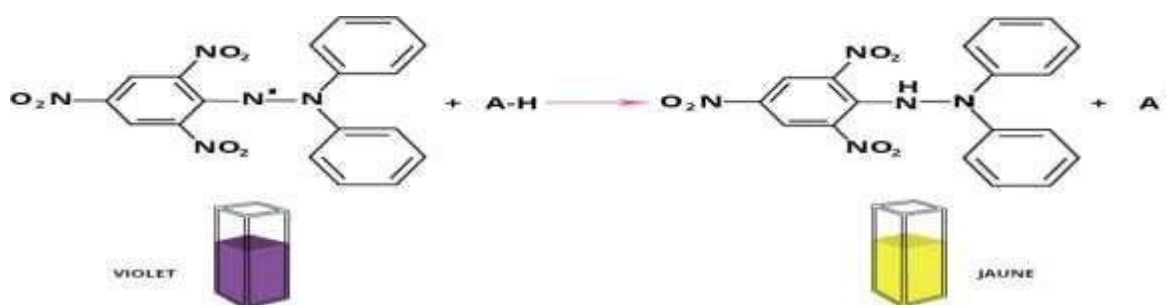


Figure II-7 : Réaction de radical DPPH• avec un antioxydant AH.

II.5.1.2 Préparation du DPPH :

Une quantité de 3mg de DPPH est dissout dans 100ml d'éthanol avec agitation pendant 30min, à l'abri de la lumière. L'absorbance est de (0.5-0.8) mesurée avec un spectrophotomètre à 517nm.

Mode opératoire :

400 µl des solutions d'extraits ont été ajoutés à 1600µl DPPH (3% préparée dans méthanol). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 400µl de méthanol avec 1600µl de la solution éthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration, le test est répété 2fois. L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous [57]. L'activité antiradicalaire est estimée en pourcentage d'inhibition grâce à la formule suivante :

$$\% = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle} \times 100$$

I% : Pourcentage d'inhibition de DPPH°

Abs Contrôle : Absorbance du contrôle

AbsÉchantillon : Absorbance de l'échantillon

Les valeurs de l'IC₅₀ ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire.

Nous avons utilisé différentes concentrations (1 ; 0.5 ; 0.25 ; 0.125 ; 0.0625 mg/ml) des échantillons étudiés. Les résultats sont réunis dans les tableaux suivants :

Tableau II.4 : Absorbance en UV à 517 nm des trois extraits *Asphodèlus* et des antioxydants de référence lors du test de piégeage de radicale libre DPPH

Extrait éthanolique					
Concentration (mg/ml)	1	0.5	0.25	0.125	0.0625
Abs moyenne	0,180	0,253	0,492	0,520	0,632

Le protocole d'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits ainsi que celui des standards est illustré par la (Figure II. 8) :

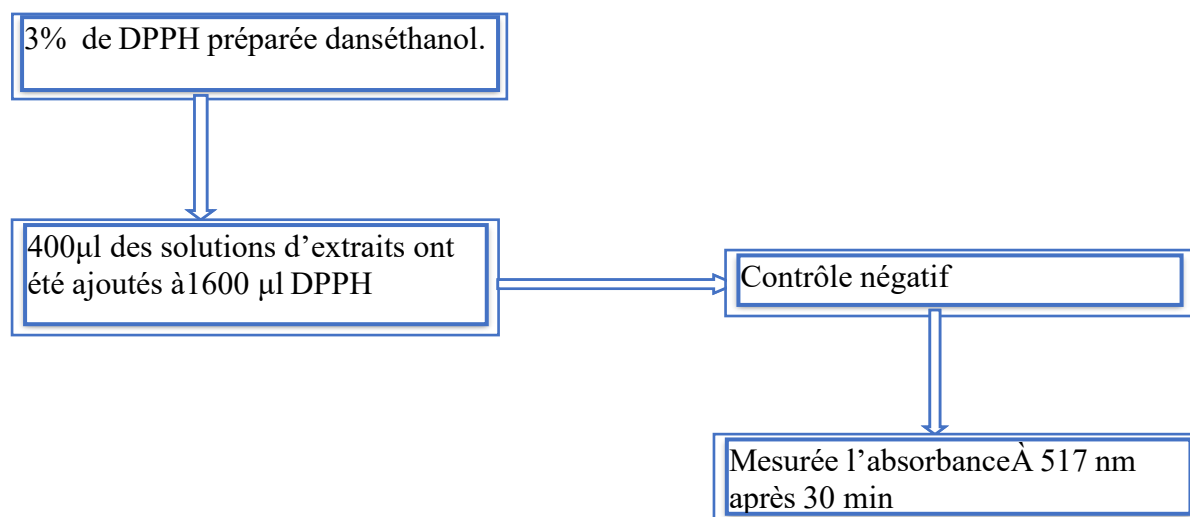


Figure II-8: Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des trois extraits de plante *Asphodèlus* par la méthode de DPPH

L'expérience a été répétée deux fois et les résultats ont été exprimés en valeurs des IC₅₀ (Concentration inhibitrice de 50% des radicaux DPPH°). Elle a été calculée à partir du graphique de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'échantillon qui présente

l'IC₅₀ la plus faible est celui qui présente l'activité anti-radicalaire la plus importante. Les résultats obtenus pour l'extrait testé ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour l'acide ascorbique pris comme antioxydant de référence.

Le protocole d'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits ainsi que celui des standards est illustré par la (Figure II.9) :

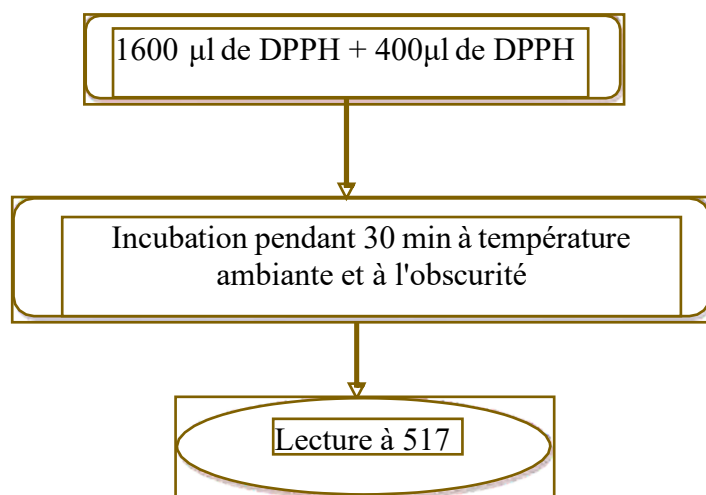


Figure II-9 : Protocole de l'évaluation de l'activité antiradicalaire par la méthode de DPPH

II.5.2 Méthode de blanchissement du β -carotène :

Principe :

La spectrophotométrie dans l'ultraviolet a été initialement développée par Marco [58], et ensuite légèrement modifiée par Miller [58]. Cette technique implique la mesure, à une longueur d'onde de 470 nm, de la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. Pour assurer la dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse, nous utilisons du Tween 40. L'oxydation de l'acide linoléique est non spécifiquement catalysée par la chaleur à 50°C. L'ajout d'antioxydants purs ou sous forme d'extrait végétal entraîne un retard dans la cinétique de décoloration du β -carotène. Cette méthode, qui repose sur une mesure spectrophotométrique dans le visible, est sensible, rapide et simple [60]. Pour évaluer la capacité antioxydante de nos échantillons, nous avons utilisé la méthode décrite par [61].

Mode opératoire :

Une quantité de 2 mg de β -carotène a été solubilisée dans 10 ml de chloroforme (CHCl_3), la solution a été transférée dans un ballon contenant préalablement 200 µl d'acide

linoléique et 200 mg de tween 40. Après évaporation totale du chloroforme, 100 ml d'eau distillée ont été additionnées au résidu et l'ensemble a été mélangé vigoureusement jusqu'à obtention d'une émulsion.

Un volume de 4800 µl de cette émulsion a été ajouté dans des tubes contenant chacun 200 µl de chaque extrait (à une concentration finale de 8 mg/ml préparé dans l'Éthanol). Après agitation, les tubes sont placés dans un bain marie à 50 C° pendant 2h, l'absorbance a été mesurée immédiatement contre un blanc (émulsion sans extrait) à 470 nm, correspondant au t=0. Les tubes ont été par la suite placés dans un bain marie à 50°C pendant 2h. Après incubation ces derniers ont été de nouveau mesurés à la même longueur d'onde (t=120 min).

La même procédure a été répétée avec le hydroxytoluène butyle (BHT) (1 mg/ml) comme un contrôle positif et avec l'éthanol comme des contrôles négatifs. Les absorbances ont été lues à 470 nm, après [0,30,60, 90, 120] min d'incubation à température ambiante [61].

L'activité antioxydante des extraits et du BHT a été calculée par rapport au contrôle négatif en utilisant l'équation suivante [62].

$$AA\% = \left[1 - \frac{Abs_{\text{échantillon } t=0} - Abs_{\text{échantillon } t=120}}{Abs_{\text{contrôle } t=0} - Abs_{\text{contrôle } t=120}} \right] \times 100$$

Abs échantillon t=0 : Représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 0 min.

Abs échantillon t=120 : Représente l'absorbance de l'extrait à 120 min.

Abs contrôle t=0 : Représente l'absorbance du contrôle à 0 min.

Abs contrôle t=120 : Représente l'absorbance du contrôle à 120 min.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau II.5: Absorbance en UV à 490 nm des deux extraits de asphodélus

Extrait éthanoliques					
Temps (min)	0	30	60	90	120
Abs	1,15	1,051	1,017	0,997	0,968

Le protocole d'évaluation du blanchiment du β-carotène est illustré par la (**Figure II.10**)

10ml d'une solution chloroformique de 2 mg β-carotène sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif

Mélanger le résidu obtenu avec 200 mg de Tween40 et 200mg d'acide linoléique +100 ml de l'eau

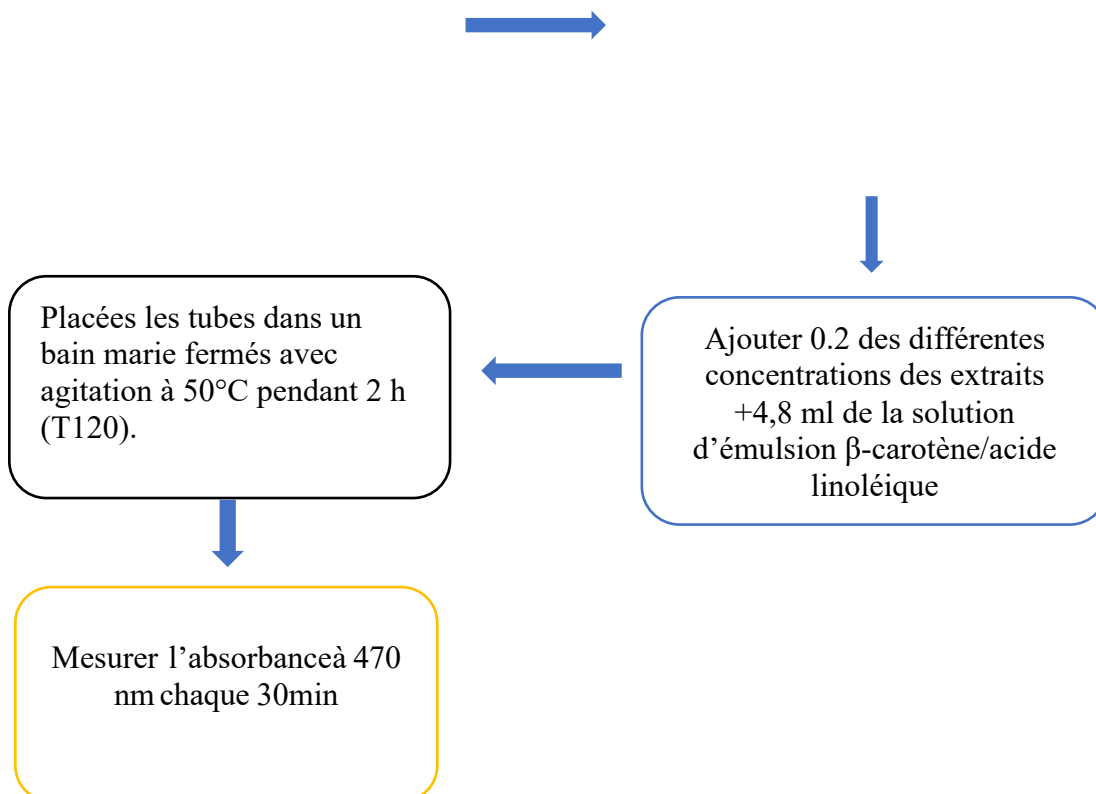


Figure II-10 : protocole d'évaluation du blanchiment du β -carotène

II.6 Activité antibactérienne *in vitro*

L'activité antibactérienne a été testée *in vitro* par la méthode de diffusion des disques dans laquelle deux extraits (chloroforme et éthanol) ont été utilisés pour imprégner des disques vierges stériles de 6 mm et laissés diffuser dans un milieu gélosé ensemencé [63].

Le support bactérien est constitué de cinq souches bactériennes de référence sous forme de lots "American Type Culture Collection" : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Salmonella aboney* NCTC 6017.

Dans le processus de sélection des souches bactériennes, celles-ci ont été choisies en se basant sur leur fréquence élevée de contamination ainsi que sur leur pathogénicité prédominante. (Tableau 6).

Les tests ont été effectués au niveau du Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Blida.

Tableau II.6: Souches bactériennes testées et leurs provenances

Souches	Forme	Gram	Code	Provenance
---------	-------	------	------	------------

<i>Escherichia coli</i>	Bacille	-	ATCC 25922	Laboratoire de Contrôle Microbiologique du groupe SAIDAL-MEDEA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille	-	ATCC 9027	Laboratoire de Contrôle Microbiologique du groupe SAIDAL-MEDEA
<i>Bacillus cereus</i>	Bacille	+	ATCC 10876	Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Blida
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci	+	ATCC 6538	Laboratoire de Contrôle Microbiologique du groupe SAIDAL-MEDEA
<i>Salmonella aboney</i>	Bacille	-	NCTC 6017	Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Blida

II.7 Activité antifongique *in vitro*

L'activité antifongique a été testée avec la même méthode que celle de l'activité antibactérienne.

Le support de champignon est constitué de deux souches de référence : *Aspargillus brasiliensi* ATCC 16404 et *Candida albicans* ATCC 10231.

Tableau II.7: Souches de champignons testées et leurs provenances

Souches	Forme	Gram	Code	Provenance
<i>Aspargillus brasiliensi</i>	Bacille	-	ATCC 16404	Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Blida
<i>Candida albicans</i>	Bacille	+	ATCC 10231	Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Blida

II.7.1 Préparation des extraits

La masse choisie de chacun des quatre extraits de la plante a été dissoute dans 1 ml de diméthyle sulfoxyde (DMSO).

Extrait éthanol : 50 mg.

Extrait chloroformique : 50 mg.



Extrait Extrait
Chloroformique éthanolique

Figure II-11: Extraits dissous dans le DMSO

II.7.2 Préparation de milieu de culture

Le milieu de culture Muller-Hinton a été rendu liquide par autoclavage à une température de 120 °C pendant une durée de 20 minutes afin d'assurer la stérilisation. Par la suite, le milieu a été versé dans des boîtes de Pétri.(figure II-12)



Milieu solide



Milieu liquide

Figure II-12: Préparation du milieu de culture

II.7.3 Préparation de la suspension bactérienne

Utilisé un écouvillon stérile pour isoler un petit nombre de colonies de chaque souche de bactéries à tester. Homogénéiser la suspension bactérienne en vidant l'écouvillon dans 5ml de l'eau physiologique.

II.7.4 Ensemencement

L'ensemencement de chaque bactérie dans le cadre de ce test est réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile qui est préalablement trempé dans une suspension bactérienne préparée. L'écouvillon est ensuite frotté sur toute la surface gélosée de la boîte de Pétri, en effectuant deux rotations de 60 degrés à chaque fois. Cette procédure est répétée afin d'assurer un ensemencement complet de la boîte. Enfin, pour garantir une répartition homogène, l'écouvillon est passé une dernière fois sur toute la surface gélosée. Lors de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche, l'écouvillon est immergé à nouveau dans la suspension bactérienne. (Figure II-13).



Suspension bactérienne

Prélèvement

Ensemencement

Figure II-13: Ensemencement des bactéries

II.7.5 Applications des disques d'extrait

Les disques vierges stériles de 6 mm de diamètre ont été individuellement imprégnés de 40 µl d'extraits à tester à l'aide d'une pince stérile. Ces disques ont ensuite été délicatement déposés sur la surface du milieu gélosé Mueller Hinton déjà ensemencé avec les bactéries à étudier. Après une incubation de 24 heures à 37°C, nous avons mesuré le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque contenant les extraits.

Pour évaluer et comparer les effets des extraits sur les souches bactériennes étudiées, nous avons inclus des disques témoins imprégnés de DMSO (contrôle négatif) ainsi que d'antibiotique, en l'occurrence la gentamicine (contrôle positif), dans nos essais. Ces disques témoins nous ont permis de vérifier et de comparer les réactions des bactéries aux différentes substances testées. (figure II-14)

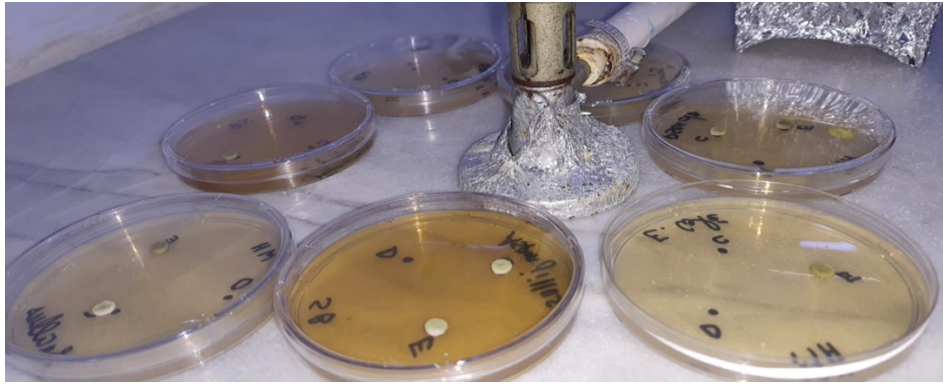


Figure II-14: Dépôt des disques imprégnés par les extraits

II.7.6 Lecture des résultats

La lecture des résultats s'effectue en mesurant les zones d'inhibition après une incubation de 24 heures, qui se présentent sous la forme de cercles clairs formés autour de chaque disque (Figure 15). La zone d'inhibition a été évaluée en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le centre du disque, y compris le diamètre des disques, à l'aide d'une règle.

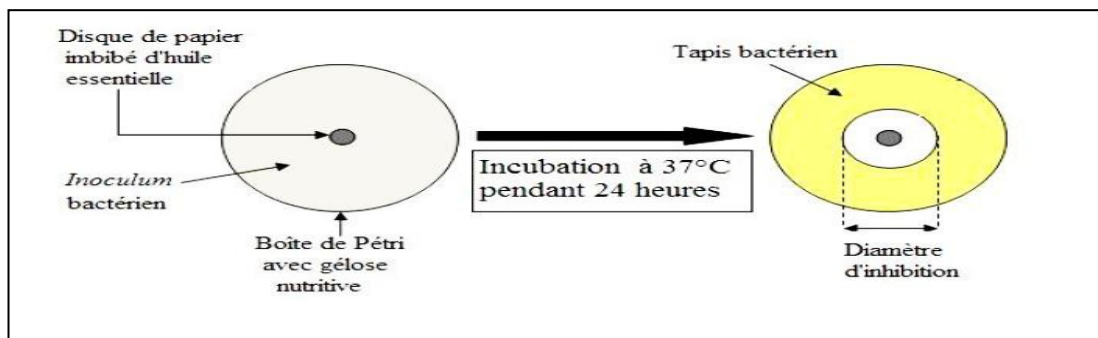


Figure II-15: Schéma de zone d'inhibition dans un test antibactérien

Chapitre III : RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

III. RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

III.1 Screening phytochimique

Des cribles phytochimiques permettent de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires dans les parties aériennes des plantes que nous étudions. La détection de ces composés est basée sur des réactions de coloration et de précipitation.

Les résultats du screening phytochimique de notre plante du genre *Asphodelus* sont résumés dans le tableau III.1


+++ : présence forte.




++ : présence moyenne.


+ : présence faible.

- : présence nulle.

Tableau III.1: Résultats de screening phytochimique de plante *Asphodelus*

Extrait	Test	Coloration	Résultats
Hydro-alcoolique	Flavan-3,4-diols	Rouge	+++ 

	Flavonols et Flavanones	Rouge pourpre	+++	
	Tannins (gélatine)	Précipitation	+	
Éthérique	Quinones	Incolore	-	

Chloroformique	Anthraquinones	Incolore	-	
----------------	----------------	----------	---	---

Les résultats des tests montrent la présence forte des flavonoïdes (Flavan-3,4-diols et Flavanols, Flavanones) et une faible présence des tannins dans l'extrait hydro-alcoolique. Absence des anthraquinones dans l'extrait chloroformique et des quinones dans l'extrait étherique.

À notre avis, cela peut être expliqué par la partie de la plante étudiée ou parce que cette plante est dépourvue de ces métabolites et se limite seulement à la biosynthèse du reste pour ses besoins spécifiques et écologiques.

Les résultats obtenus lors de ces tests préliminaires suggèrent que cette plante pourrait être une source de composés bioactifs ayant des effets antioxydants et antimicrobiens potentiel.

III.2 Rendement de l'extraction

Le rendement en extrait sec et le solvant de solubilité des différentes modes d'extraction ont été présentés dans le tableau suivant :

Tableau III.2: Aspect couleur et rendement de différents extraits *Asphodèlus*

Extrait	Masse(g)	Rendement (%)
Cyclohexanolique	0,57g	0,57%
Chloroformique	0,96g	0,96%
Éthanolique	2,1g	2,1%

Résultats des rendements obtenus pour les 100 g de feuilles séchées en utilisant la technique de l'extraction solide-liquide avec des solvants de polarité croissante.

D'après les résultats du tableau, on constate que l'extrait éthanolique donne le rendement le plus élevé parmi les trois avec un pourcentage de 2,1% suivi par l'extrait chloroformique qui a un pourcentage de 0,96% et l'extrait hexanolique qui présente le plus faible rendement avec 0,57%.

Remarque : après avoir obtenue les extraits secs à partir de solvants cités, on a travaillé le reste de testes avec les deux extraits éthanolique et chloroformique suite à l'insuffisance de la quantité de l'extrait cyclohexanolique.

On peut aussi noter que l'éthanol a été utilisé comme solvant de dilution pour la suite des étude et évaluation.

III.3 Résultats de l'étude quantitative

III.3.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, l'absorbance des extrais et d'acide gallique a été mesurée à 765 nm et la courbe d'étalonnage a été tracée.

La teneur en polyphénols est déterminée à l'aide de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage d'acide gallique utilisé comme étalon, d'étalonnage, ayant l'équation :

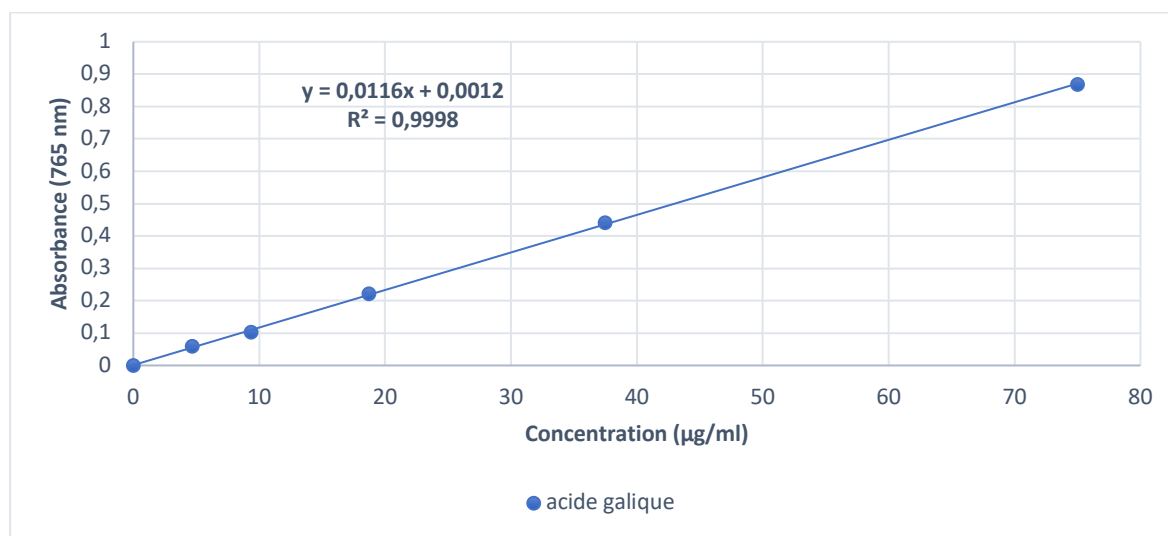


Figure III-1: Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Les résultats de dosage des polyphénols totaux dans les échantillons des trois extraits de plante du genre *Asphodelus* sont rapportés dans le Tableau III.3.

Tableau III.3: Résultats du dosage en polyphénols totaux dans les deux extraits du genre *Asphodelus*

Extrait	Extrait EtOH	Extrait CH ₃ Cl
Absorbance	0.580	0.949
mg EAG/g d'extrait	50.32±0.055	81.82±0.035

Les résultats sont exprimés dans la figure 2 en µg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec (µg EAG/mg d'extrait sec).

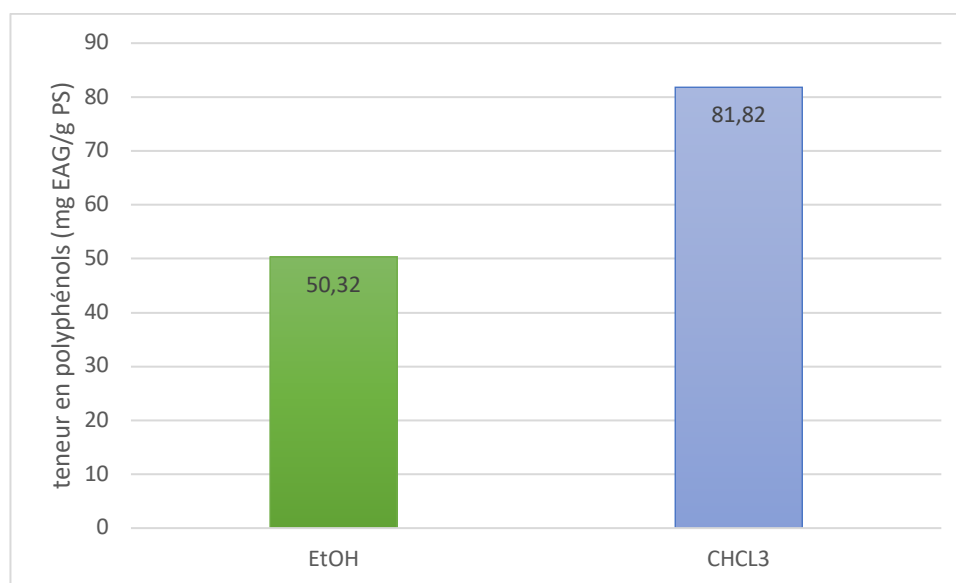


Figure III-2: Diagramme à barre représentatif des teneurs en polyphénols des extraits

Selon les résultats obtenus l'extraits chloroformique est beaucoup plus riche en polyphénols que l'extrait éthanolique de la plante avec l'extrait chloroformique qui a présenté la teneur la plus élevée à 81.82±0.035 µg EAG/mg, que de l'extrait éthanolique avec 50.32±0.055 µg EAG/mg.

III.3.2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), La quercétine a été utilisé comme étalon. d'étalonnage, ayant l'équation :

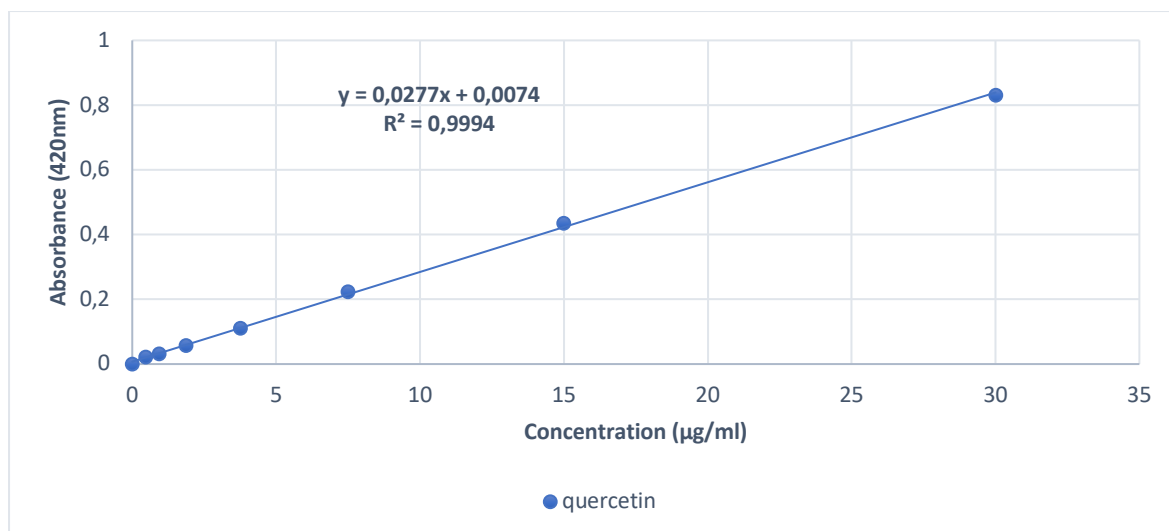


Figure III-3 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les résultats de dosage des flavonoïdes dans les échantillons des trois extraits de plante du genre *Asphodelus* sont rapportés dans le Tableau III.4

Tableau III.4 : Résultats du dosage en flavonoïdes totaux dans les deux extraits *Asphodelus*

Extrait	Extrait EtOH	Extrait CH ₃ Cl
Absorbance	0.335	0.434
mg EQ/g d'extrait	11.82±1.81	7.7±0.345

Les valeurs représentent la moyenne de deux répétitions ± SD.

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en mg d'équivalents quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

Comme cité précédemment, les flavonoïdes suivent aussi la même tendance. Nous remarquons, d'après ces résultats, que la quantité de flavonoïdes est comprise entre 11.82 et 7.7 mg EQ/ g d'extrait. par contre la taux enregistrée pour l'extrait chloroformique (7.7 mg EQ/g d'extrait) reste la plus faible par rapport à l'extrait éthanolique (11.82 mg EQ/g d'extrait), ce derniers est plus riche que l'extrait chloroformique.

Ceci pourrait être expliqué par une augmentation du métabolisme phénolique de la plante ; en plus, l'existence d'une liaison avec les conditions climatiques défavorables et les conditions de collections telles que les températures élevées, la durée d'exposition solaire, la nature du sol et la saison de croissance [63].

Les résultats du dosage des flavonoïdes sont représentés sous forme d'histogramme comme le montre la figure ont résumés dans la figure suivante :

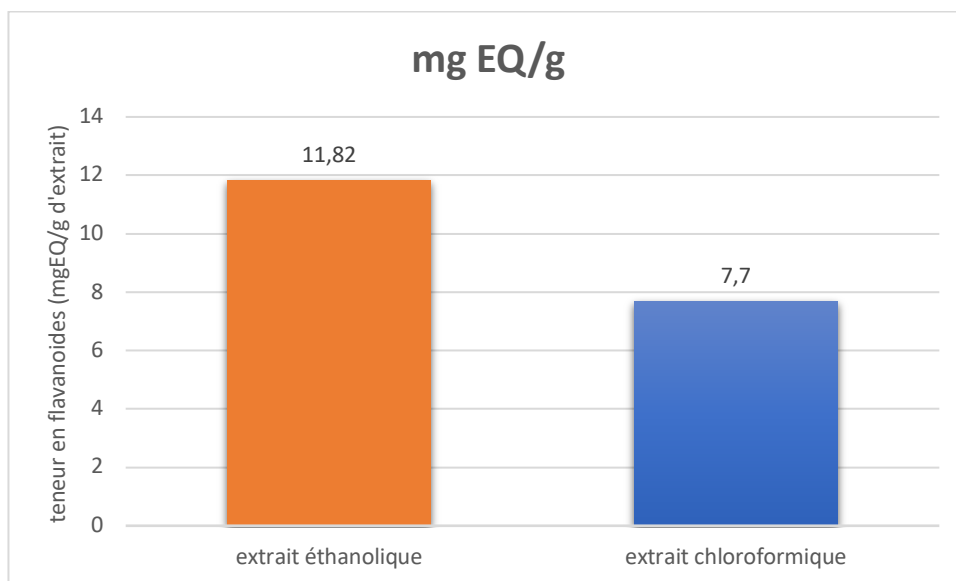


Figure III-4 : Évaluation des flavonoïdes totaux des deux extraits

III.3.3 Dosage des tanins

Le dosage de tanins a été déterminé selon la méthode Julkunen-Titto. La catéchine a été utilisée comme standard. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 550 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation :

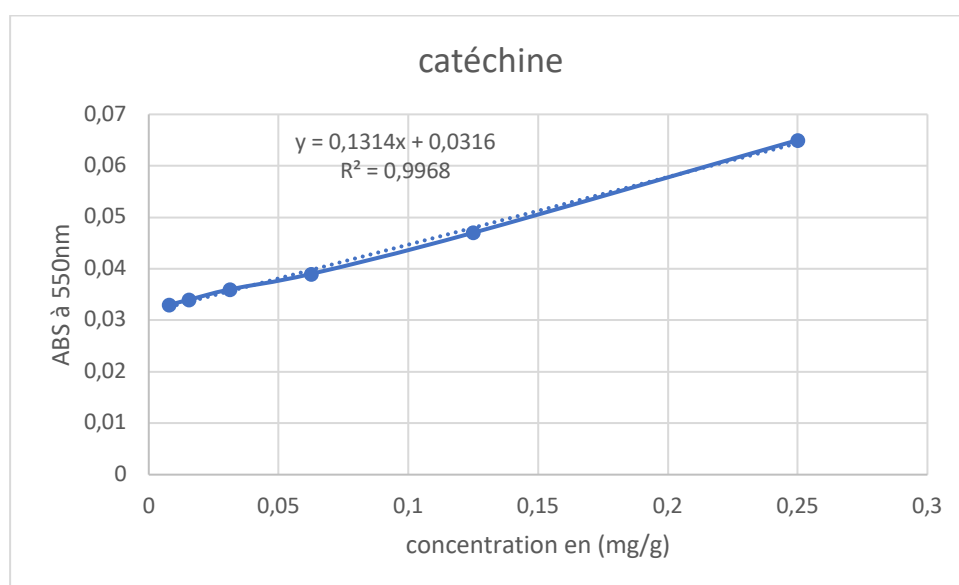


Figure III-5 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Les résultats de dosage des tanins dans les échantillons des trois extraits sont rapportés dans le tableau III.5.

Tableau III.5: Résultats du dosage en tanins totaux dans les deux extraits

Extrait	Extrait EtOH	Extrait CH ₃ Cl
Absorbance	0.038	0.065
mg EC/g d'extrait	6.54±0.055	12.84±0.035

Les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions ± SD

Teneur en tanins condensés de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage exprimée en mg d'équivalents catéchine par g d'extrait (mg EC/g Ext).

D'après les résultats présentés par l'histogramme, nous avons enregistré une Variabilité significative. Nous notons que la quantité des tanins condensés varie entre 6.54 et 12.84 mg EC/g d'extrait. L'extrait chloroformique montre une teneur en tanins plus élevée (12.84 mg EC/g d'extrait) par rapport à celle de l'extrait éthanolique (6.54 mg EC/g d'extrait) qui présente une plus faible teneur. Donc la teneur en tanins des extraits est plus élevée dans les solvants polaires et moyennement polaire. Donc on peut dire que la teneur en tanins de l'extrait apolaire est plus élevée que celle qui est moyennement polaire.

La présence des tanins suggère la capacité de notre plante à jouer un rôle majeur en tant qu'agent antimicrobienne et antioxydant [65].

Les résultats du dosage des tanins sont représentés sous forme d'histogramme comme le montre la figure suivante :

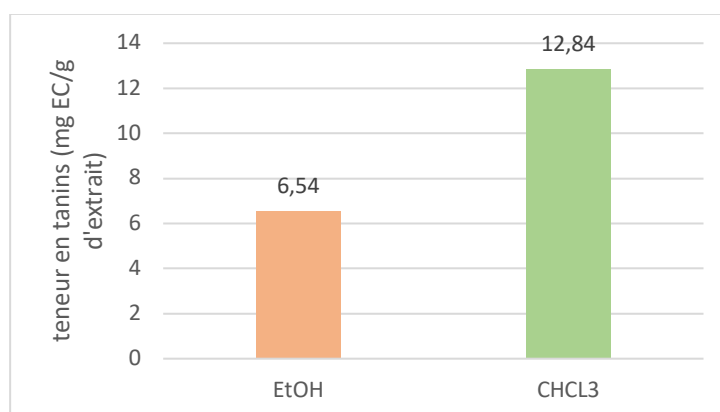


Figure III-6 : Évaluation des tanins des deux extraits de plante du genre *Asphodelus*

III.4 Résultats des tests biologiques

III.4.1 Activité antioxydante

L'activité antioxydants des extraits a été évaluée in vitro par deux méthodes différentes : blanchissement β -carotène et la méthode de réduction de radical libre DPPH.

III.4.2 Méthode de réduction du radical libre DPPH

Les activités antiradicalaires des extraits de *l'Asphodelus* et du témoin positif l'acide ascorbique ont été déterminées par la méthode au DPPH. On remarque un changement de couleur du violet au jaune pour les trois extraits en augmentant leur concentration, cela veut dire que le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est réduit en présence d'une substance réductrice qui existe dans les extraits.

Les résultats obtenus, à une longueur d'onde de 517 nm par spectrophotomètre, ont permis de tracer les graphes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration pour les différents extraits de l'espèce *Asphodelus* (Figure III.6) Ces courbes montrent que tous les extraits ainsi que le standard (acide ascorbique) (Figure III.7) réduisent de manière dose dépendante le radical DPPH, C'est-à-dire, le pourcentage de réduction augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits jusqu'à un seuil ou le pourcentage d'inhibition se stabilise avec l'élévation de la concentration.

Ces résultats ont permis également de déterminer la valeur de l'IC50 (la valeur qui correspond à 50% d'inhibition) afin de pouvoir évaluer l'activité des extraits vis-à-vis du standard :

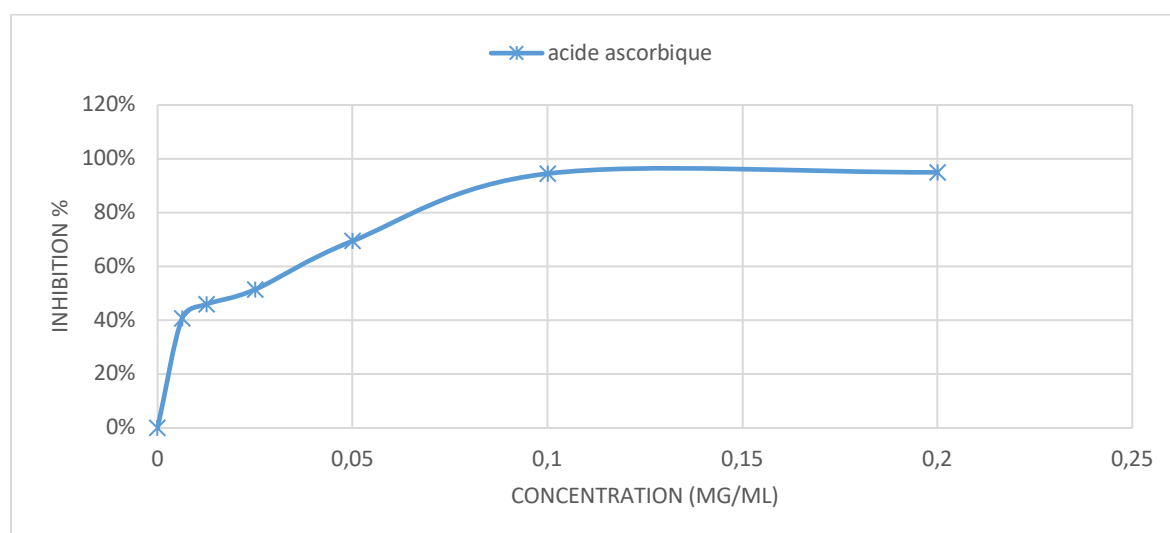


Figure III-7 : Courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH par standard testé d'acide ascorbique en fonction de la concentration.

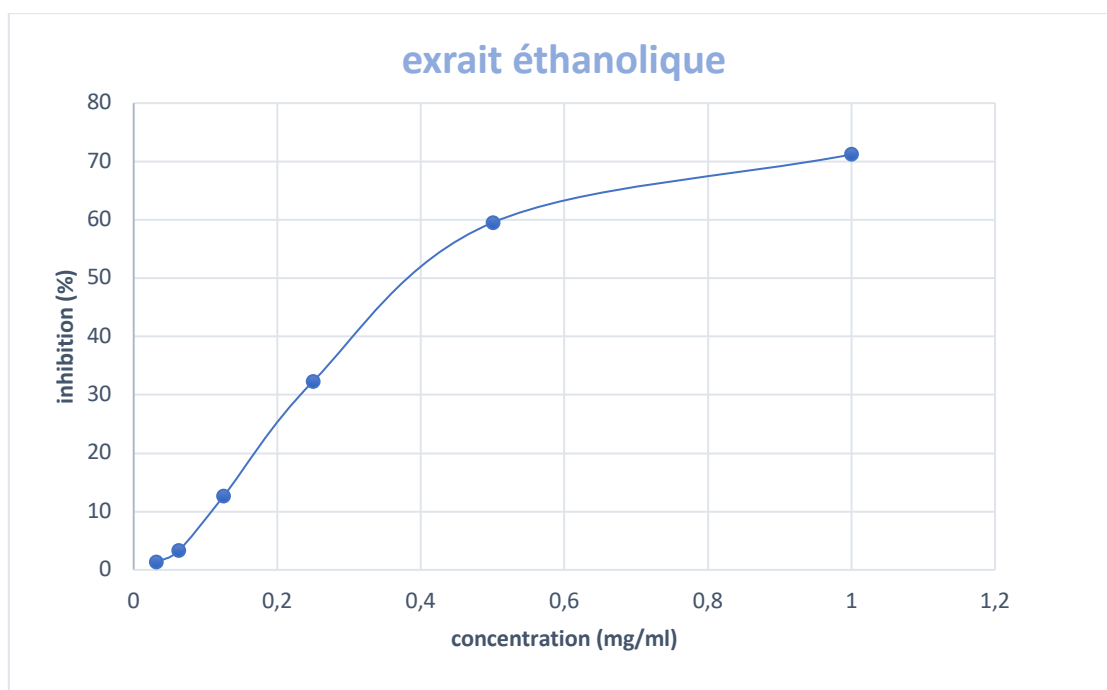


Figure III-8 : Courbe d'inhibition % du DPPH en fonction de concentration de l'extrait

La valeur concentration inhibitrice à 50% d'un extrait obtenu par interprétation dans le courbe de pourcentage d'inhibition de DPPH dans le domaine linéaire de valeur d'inhibition %=50, la capacité d'inhibition augmente avec diminution de la valeur. Le résultat de l'extrait éthanologique est de 0.715 ± 0.03 mg/ml comparé à celle de l'acide ascorbique qui est de 0.020 ± 0.01 mg/ml. En comparant notre résultat à celui de Peksel [66] qui on eut une valeur estimée à $IC_{50} = 0,16$ mg/ml d'extrait méthanol, leur résultat à une activité plus grande que la nôtre.

D'autre part, notre extrait présente une activité plus grande que celle de al-kayali [67] qui a une valeur comprise entre 1,25–2,5 mg/ml d'extrait méthanol.

Cette différence trouve son explication dans la différence de standard utilisé pour l'évaluation de l'activité antiradicalaire par le DPPH. elle est aussi due à l'utilisation du solvant ou à certaines facteurs écologiques à la partie de la plante utilisé.

III.4.3 Méthode de blanchissement du β -carotène (BCB)

L'activité antioxydante a été évaluée en suivant la réaction d'oxydation du β -carotène en présence des extraits, du contrôle négatif et de BHT comme contrôle positive, l'absorbance a été mesurée à 470 nm chaque 30 minutes jusqu'à 2 heures et est présentée dans la Figure ci-dessous.

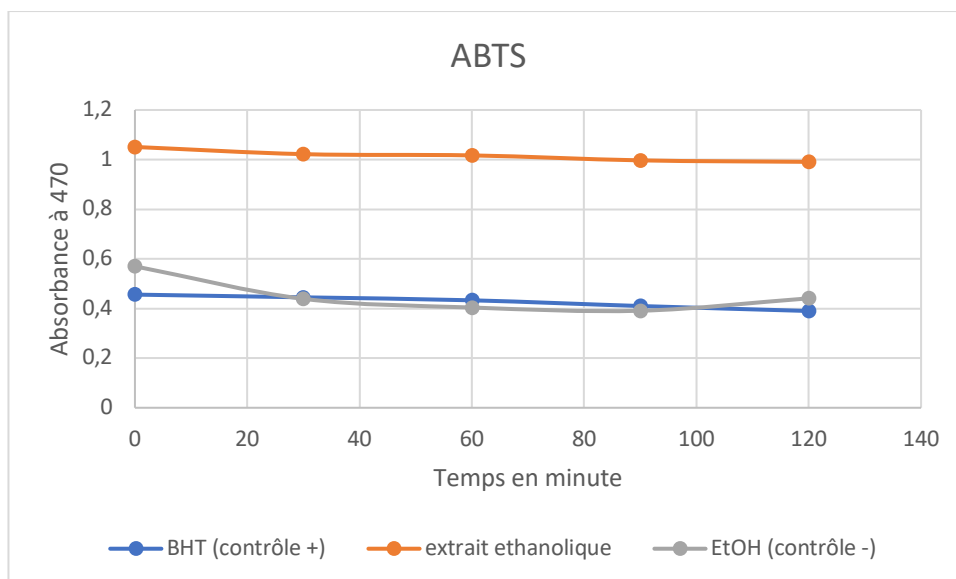


Figure III-9 : Courbe d'absorbance de bêta-carotène en fonction du temps en présence des extraits et de référence

L'activité antioxydante de l'extrait et du BHT a été calculée par rapport au contrôle négatif en utilisant l'équation suivante :

$$AA\% = \left[1 - \frac{Abs_{\text{échantillon } t=0} - Abs_{\text{échantillon } t=120}}{Abs_{\text{contrôle } t=0} - Abs_{\text{contrôle } t=120}} \right] \times 100$$

Les résultats sont présentés dans la Figure 10 ci-dessous.

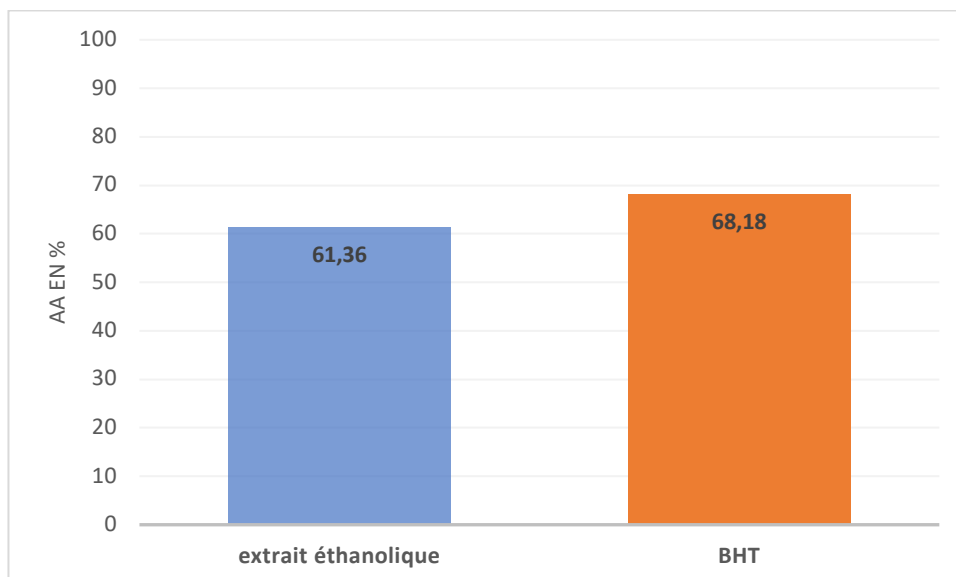


Figure III-10 : Diagramme à barre représentatif d'activité antioxydante % de extraits et de référence du test bêta-carotène

selon les résultats obtenue on constate que le BHT utilisé comme référence a montré une activité antioxydante plus grand 68,18 % ce qui prouve son pouvoir activité antioxydante élevé.

l'extrait éthanolique de notre plante a montré quant à lui aussi une activité antioxydante significative proche de celle du BHT qui est de 61,36 %.

Les résultats obtenus dans ce test de β -carotène peuvent être dû aux différences de solubilité des molécules présents dans les extraits et leur répartition entre les deux phases aqueuse et lipidique, car le système utilisé pour mesurer cette activité s'agit d'une émulsion de lipides dans l'eau [Erreur ! Source du renvoi introuvable.].

III.5. Résultat de l'évaluation de l'activité antibactérienne et fongique

L'activité antibactérienne et antifongique des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion par disque sur milieu gélosé, ou chaque disque a été imprégné par les solutions des extraits à une certaine concentration en utilisant le DMSO comme solvant.

Après 24h d'incubation à 37°C pour souches bactériennes et 24°C pour les souches à champignons, on a récupéré les boîtes de pétri puis nous avons mesuré les diamètres des zones d'inhibition des extraits éthanolique et chloroformique sur les différentes souches testées. les résultats obtenus sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.6 : Zones d'inhibitions des extraits et de références dans différentes souches

Souches	Zones d'inhibition en mm			
	Extrait éthanolique	Extrait chloroformique	Genta 80 (témoin +)	DMSO (témoin -)
<i>Escherichia coli</i>	-	-	30	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	27	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	29	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	10,3	26	-
<i>Salmonella aboney</i>	-	-	28	-
<i>Aspargillus brasiliensi</i>	-	9,7	33	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	22	-

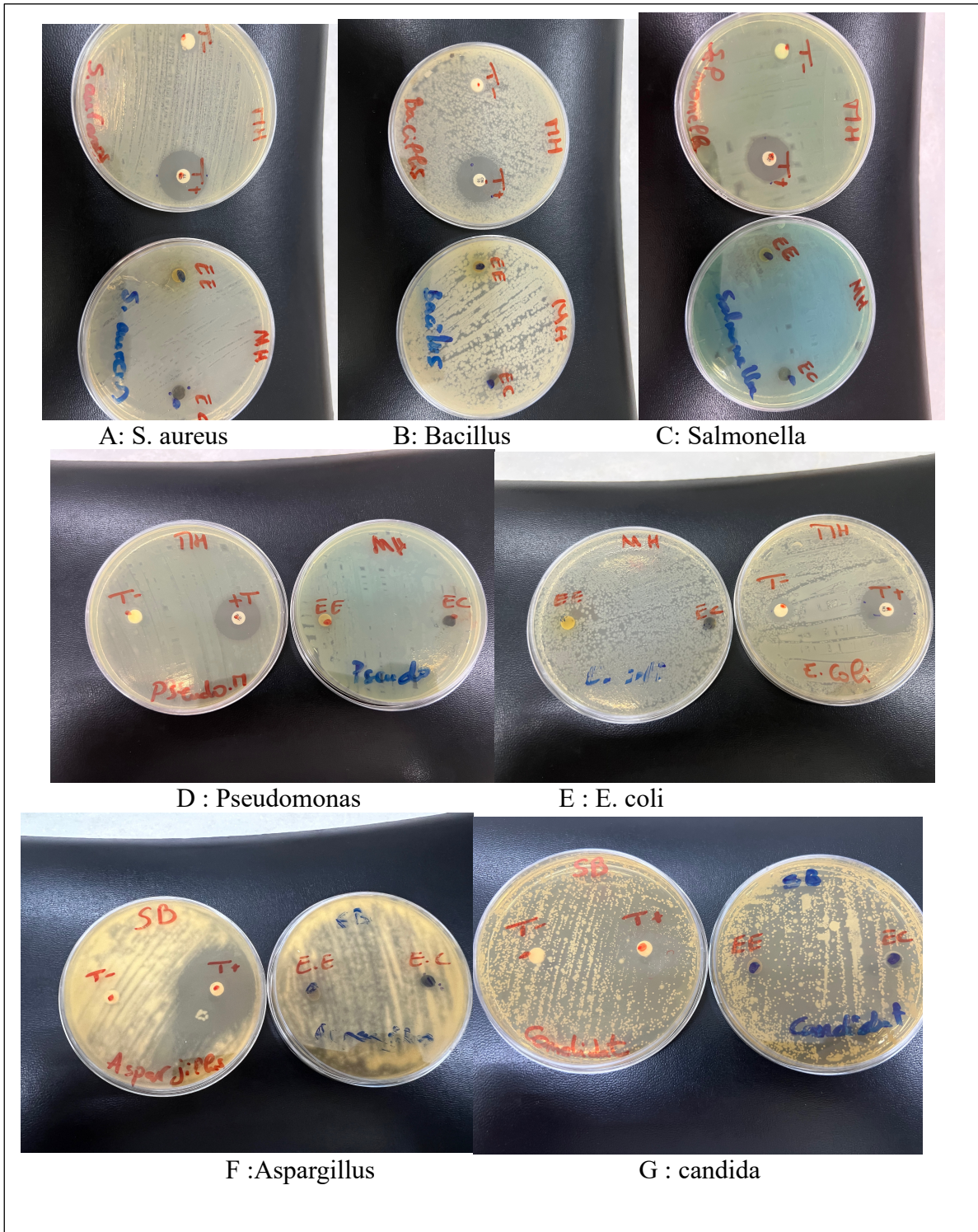


Figure III-11 : Résultats des test activité antimicrobienne

Parmi les deux extraits testés, l'extrait chloroformique est celle qui a montré une inhibition de la croissance bactérienne contre la souche *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de diamètre 10,3mm. Par contre l'extrait éthanolique n'a montré aucune activité antibactérienne contre les souches *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. aboney*, *B. subtilis* et *E. coli*.

À titre de comparaison, celle de Abuhamdah [68], présente aucune activité antibactérienne pour les souches *S. aureus*, *B. subtilis* et *E. coli*.

Pour l'activité antifongique, l'extrait éthanolique n'a montré aucune activité contre les souches *Aspargillus* et *candida albicans* par conséquent l'extrait chloroformique quant à elle a montré une considérable croissance contre la souche *Aspargillus* avec une zone d'inhibition de diamètre 9,7mm.

En comparant avec celui de Faidi [69] tous les extraits ont montré une activité antifongique contre *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'exploitation du potentiel biologique des espèces végétales revêt un intérêt important, ainsi les nouvelles démarches consistent à rechercher les principes actifs des plantes.

Le présent travail est porté sur l'étude qualitative, quantitative et l'évaluation des activités biologiques de la partie aérienne de la plante du genre *Asphodelus*, choisie sur la base de son usage traditionnel.

Le criblage phytochimique des extraits bruts obtenus à partir de l'espèce d'intérêt, révèle la présence de diverses classes de métabolites secondaires à savoir : les flavonoïdes, tannins connus pour leurs activités biologiques.

les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et des tanins dans les extraits de la plante

L'extrait éthanolique présente une activité antioxydante intéressante dans les deux méthodes utilisées à savoir : piégeage des radicaux libres DPPH et le test de blanchiment de β -carotène.

Enfin, les activités antimicrobiennes modérées dans la méthode de diffusion de disque gélosé.

Enfin, pour ouvrir un champ de perspective nous proposons une suite expérimentale axées sur :

- Des études *in vivo* visant des systèmes biologiques, sans exposer l'homme ou l'animal aux éventuels effets secondaires ou à la toxicité d'un nouveau médicament.

- Détermination des concentrations minimales inhibitrices

- Réduire la concentration des extraits pour les tests antimicrobiens

- Proposition d'éventuelles préparations galéniques à usage externe (pommades, gels)

Références bibliographiques

- [1] K. Barnham., C. Masters et A. Bush., «Neurodegenerative diseases and oxidative stress.,» *Nature Reviews Drug Discovery*3(3), pp. 205-214., 2004.
- [2] J. Bruneton, «Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.,» *Lavoisier*, 1993.
- [3] S. Krief, «Plantes médicinales et phytothérapie chez les Hadza de Tanzanie: un exemple de recours au savoir botanique traditionnel en milieu chasseur-cueilleur.,» *Anthropologie et Sociétés*, 27(1), pp. 131-151, 2003.
- [4] F. Jeun, J. Willems et A. Reynaerts, «From plant to medicine: a review on the pharmaceutical potentials of *Vitis vinifera*.,» *Phytotherapy Research*, vol. 19(12), pp. 994-1000, 2005.
- [5] P. Authier, «Flore des monts timfi. Liliaceae.,» 2019. [En ligne]. Available: http://www.ville-ge.ch/cjb/publications/cando562/C562_209-244.pdf. [Accès le 3 2023].
- [6] J. Guignard et F. Dupont, «Botanique systématique moléculaire.,» p. 100, 2005.
- [7] A. Bashir, *African Journal of Biotechnology*, vol. 9, pp. 5762-5766, 2010.
- [8] F. Benaoun, chez *These doctorat*, 2017.
- [9] aquaportail, «Liste taxonomique des genres de la famille Liliaceae.,» 2006. [En ligne]. Available: <https://www.aquaportail.com/taxonomie-famille-127-liliaceae.html>.. [Accès le 5 2023].
- [10] Available: <http://hogwartsbobba.forumactif.com/t204-theme-3-les-familles-des-plantes-chapitre-3-liliacees>. [Accès le 6 2023].
- [11] J. Wu, C. Morizane, A. Iida, S. Ueda, Z. Zhou, M. Xu, M. Zhang, R. Li et T. Fujita, «Chemical and pharmaceutical bulletin.,» vol. 43, pp. 1448-1453, 1995.
- [12] E. Fattorusso, M. Iorizzi, V. Lanzotti et O. Tagliatalata-Scafati, *J. agricultural and food chemistry*, vol. 50, pp. 5686-5690, 2002.
- [13] C. Zhou, J. Tanaka, C. Cheng, T. Higa et R. Tan, «Plantamedica.,» vol. 65, pp. 480-482., 1999.
- [14] H. Shimomura, Y. Sashida et Y. Mimaki, «Phytochemistry.,» vol. 25, pp. 2897-2899., 1986.
- [15] Y. Shoyama, K. Hatano, I. Nishioka et T. Yamagishi, «Phytochemistry.,» vol. 26, pp. 2965-2968., 1987.
- [16] J. Park, *J. agricultural and food chemistry*, vol. 57, pp. 8868-8872, 2009.
- [17] K. Tsukida et K. Ikeuchi, «Bitamin.,» vol. 32, pp. 222-226, 1965.
- [18] T. Itoh, T. Tamura, T. Mitsunashi et T. Matsumoto, «Phytochemistry.,» vol. 16, pp. 140-141, 1977.
- [19] H. Shimomura, Y. Sashida, Y. Mimaki et Y. Minegishi, «Phytochemistry.,» vol. 26, pp. 582-583, 1987.
- [20] V. Lanzotti, *J. chromatography A*, Vols. %1 sur %23-22, p. 1112, 2006.

- [21] A. Razik, F. Adly, F. Lahlou, F. Hmimid, S. Fahde et M. Moussaid, «Antioxydant AntiInflammatoire And Antibactérien Activités Of Asphodelus Microcarpus.,» *World Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 5 (9), pp. 666-73., 2016.
- [22] I. Lazarova, G. Zengin, K. Sinan, I. Aneva, S. Uysal et M. Picot-Allain, «Metabolomics profiling and biological properties of root extracts from two Asphodelus species: A. albus and A. aestivus, Food Research International.,» 2020.
- [23] J. Sánchez-Ken, «Asphodelaceae Juss. Flora Del Valle De Tehuacán-Cuicatlán.,» vol. 79, pp. 1-8, 2010.
- [24] M. Dioguardi, P. Campanella, A. Cocco, C. Arena, G. Malagnino, D. Sovereto et e. al., «Possible Uses of Plants of the Genus Asphodelus in Oral Medicine.,» *Biomedicines*, vol. 7(67), pp. 1-12, 2019.
- [25] M. Malmir, R. Serrano, M. Caniça, B. Silva-Lima et O. Silva, «MDPI,» 20 7 2018. [En ligne]. Available: <https://doi.org/10.3390/plants7010020>. [Accès le Mai 2023].
- [26] M. El-Sayed et J. E.G, «Pharmacognosy and Phytochemistry,» vol. 6, pp. 259-264., 2017.
- [27] G. Singh, «Liliaceae. In Singh.,» pp. 351-352., 2004.
- [28] G. Todorova, I. Lazarova, B. Mikhova et I. Kostova, «Chemistry of Natural Compounds,» vol. 46, pp. 322-323, 2010.
- [29] M. Ghoneim, M. Guoyi, A. Atef, A. Mohammad, S. Kottob, S. ElGhaly, S. Cutler et S. Ross, «Prod. Communications,» pp. 1117-1119, 8 2013.
- [30] C. Ihsan, S. S. Birincioglu, H. Kırmızıbekmez, B. Pfeiffer et J. Heilmann, «Naturforsch,» vol. 61b, pp. 1304-1310., 2006.
- [31] F. Khaled, H. Saoussen, B. S. Abdelkader, E. M. Ridha, G. Mariem, M. Maha, G. Mohamed, T. A. Melika, T. S. Orazio et M. Zine, «Med. Plant Res,» vol. 8, pp. 550-557, 2014.
- [32] M. Safder, M. Imran, R. Mehmood, A. Malik, N. Afza, L. Iqbal et M. Latif, «Asian Natural Products Research,» vol. 11, pp. 945-950., 2009.
- [33] L. S. Eddine, L. Segni et O. M. Ridha, *J. Pharm. Clin. Res.*, vol. 7, pp. 119- 125., 2015.
- [34] Z. Díaz Linfante, S. Talavera, C. Andrés, M. Arista, M. R. E. Piedra, M. Q. A. Crespo, A. Herrero et C. Aedo, «Asphodelus L. Flora Iberica,» *Real Jardin Botánico*, Vols. %1 sur %2Tome 20., pp. 276-308-152., 2013.
- [35] F. Hammouda, A. Rizk, H. Ghaleb et M. Abdel-Gawad, «Études chimiques et pharmacologiques d' Asphodelus microcarpus.,» *Planta Medica*, vol. 22, p. 188–195., 1972.
- [36] L. Boulos, «Plantes médicinales d'Afrique du Nord ;,» 1983.
- [37] T. Hennebelle, «Polyphénols végétaux,sources,utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie,» vol. 2(1), pp. 3-6, 2004.
- [38] Pandey., KB. et S. & Rizvi, «Compréhension actuelle des polyphénols alimentaires et de leur rôle dans la santé et la maladie. Nutrition actuelle et science alimentaire,» vol. 5 (4) , pp. 249-263, 2009.

- [39] H. Djenidi, S. Khennouf et A. & Bouaziz, «Antioxydant activity and phenolic content of commonly consumed fruits and vegetables in Algeria.,» *Prog. Nutr*, vol. 22(1), pp. 224-235, 2020.
- [40] A. Berthod, B. Billardello et S. Geoffroy, «Polyphénols en chromatographie à contre-courant. Un exemple de séparation à grande échelle. Analyse,» Vols. %1 sur %227 (9), pp. 750-757, 1999.
- [41] B. Bozin, N. Mimica-Dukic, I. Samojlik, A. Goran et R. & Igc, «Composés phénoliques comme antioxydants dans l'ail (*Allium sativum* L., Alliaceae). Chimie alimentaire,» vol. 111 (4), pp. 925-929, 2008.
- [42] M. Cowan, « Plant Products as Antimicrobial Agents,» *Clinical Microbiology Reviews*, vol. V. 12, p. 564–582., 1999.
- [43] S. Burnett-Boothroyd et B. and McCarthy, «Antimicrobial Treatments of Textiles for Hygiene and Infection Control Applications: An Industrial Perspective,» *In Textiles for Hygiene and Infection Control*, p. 196–209., 2011.
- [44] V. R. C. De Billerbeck, P. Vanière et P. & Marquier, «Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles,» *Hygiènes (Lyon)*, vol. 10 (3), pp. 248-251, 2002.
- [45] A. Mezrag, M. Bouheroum, N. Malafrente, M. D'Ambola, M. Aissaoui et L. Severino, «phytochemical investigation and citotoxicactivity of lotus corniculatus, pharmacologie on line vol.3,» pp. 222-225., 2014.
- [46] N. Farnsworth, «Biological and phytochemical screening of plants,» *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. V. 55, pp. 225-276., 1966.
- [47] J. Bruneton, «Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales,» *Lavoisier*, 1993.
- [48] N. Dohou et L. Yamnik. Gmiran. Idrissi Hassani, «Etude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro Marocaine, *Thymelaea lychroides*.,» *Acta Botanica Malacitana*, 2003.
- [49] P. Ribéreau-Gayon, «Les composés phénoliques des végétaux,» *Paris, France:Dunod*, 1968.
- [50] M. Rizk, «Constituents of plants growing in Qatar,» *Fitoterapia*, 1986.
- [51] G. Topçu, A. Ay, A. Billici, C. Sarihurkucu, M. Ozturk et A. and Ulubelen, *Food Chemistry*, 2007, pp. 816-822.
- [52] D. Marinova, F. Ribarova et M. Atanassova, «Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables.,» *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40(3), pp. 255-260, 2005.
- [53] P. Kris-Etherton, K. Hecker, A. Bonanome, S. Coval, A. Binkoski, K. Hilpert, A. Griel et T. Etherton, «Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am. J. Med.*,» vol. 113, p. 71–88, 2002.
- [54] R. Sheel, K. Nisha et J. Kumar, «Preliminary phytochemical screening of methanolic extract of *Clerodendron infortunatum*.,» *IOSR Journal of Applied Chemistry*,., vol. 7(1), pp. 10-3, 2014.

- [55] A. Boligon, M. Machado et M. Athayde, «Technical evaluation of antioxidant activity,» *Medicinal chemistry*, pp. 4, 7, 517-522., 2014.
- [56] Molyneux.P, « The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity,» *Son KlamaKarin J.Sci, Technol*, 26 (2), pp. 211-219, 2004.
- [57] G. Marco, Rapid Method For Evaluation Of Antioxidants, vol. V. 45, J Am Oil Chem Soc, 1968, pp. 594-8.
- [58] H. Mille, «Simplified Method For The Evaluation Of Antioxidants,» *J Am OilChem Soc*, pp. 48 - 91, 1971.
- [59] M. Laguerre, L. López-Giraldo, J. Lecomte, M. Pina et P. Villeneuve, «" Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante",» *Fondamental, OCL, V.14*, pp. 278-292, 2007.
- [60] I. I. Koleva, T. A. van Beek, J. P. Linszen, A. D. Groot et L. N. & Evstatieva, Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical analysis*, vol. 1, 2002, pp. 8-17.
- [61] A. Ismail et T. S. Hong, «Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds,» *Mal J Nutr* 8(2), pp. 167-177, 2002.
- [62] E. Tendencia, Artist, *Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment..* [Art]. Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, 2004.
- [63] A. Djeridane, M. Yousfi, B. Nadjmi, D. Boutassouna, P. Stocker et N. & Vidal, «antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds.,» *Food Chemistry.*, 2006.
- [64] F. Deba, T. Dang Xuan, M. Yasuda et S. Tawata, «"Chemical composition and antioxidant,antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*" .,» *Food Control.*, vol. 19, p. 346, 2008.
- [65] A. Peksel, S. Imamoglu, N. Altas Kiyamaz et N. Orhan, «Activités antioxydantes et de piégeage des radicaux d' *Asphodelus aestivus* Brot. extraits. Int.,» *J. Food Prop.*, vol. 16, p. 1339–1350, 2013.
- [66] R. Al-kayali, A. Kitaz et M. Haroun, «Activité antibactérienne d' *Asphodelin lutea* et d'*Asphodelus microcarpus* contre les isolats de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline . Int.,» *J. Pharmacogne. Phytochem. Rés.*, vol. 8, p. 1964–1968., 2016.
- [67] S. Abuhamdah, R. Abuhamdah, S. Al-Olimat et C. Paul, «Enquêtes phytochimiques et activité antibactérienne de certaines plantes médicinales de Jordanie.,» *J. Med. Plantes EUR.*, vol. 3, p. 394–404, 2013.
- [68] K. Faidi, S. Hammami, A. Salem, R. El Mokni, M. Mastouri, M. Gorcii et M. Ayedi, «Dérivés de polyphénols de la phase butanol bioactive de l'asphodèle tunisien à feuilles étroites (*Asphodelus tenuifolius* Cav., *Asphodelaceae*).,» *J. Med. Plant Res.* , p. 550–557, 2014.
- [69] A. Remmal, T. Bouchikhi, K. Rhayour, M. Ettayebi et A. (. & Tantaoui-Elaraki, «Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium,» *Journal of Essential Oil Research*, vol. 5(2), p. 179-184.

- [70] scope, «nature scope,» 2009. [En ligne]. Available: <https://www.naturoscope.net/catalogue/liliaceae..> [Accès le 5 2023].
- [71] M. H. Hussin et M. J. Kassim, «Materials Chemistry and Physics,» vol. 125, p. 461–468., 2011.
- [72] O. K. Abiola et A. James, «Corrosion Science,» vol. 52, p. 661–664, 2010.
- [73] A. Ostovari, S. Hoseinie, M. Peikari, S. Shadizadeh et S. Hashemi, «Corrosion Science,» vol. 51, p. 1935–1949, 2009.
- [74] O. K. Abiola et Y. Tobun, «Chinese Chemical Letters,» vol. 21, p. 1449–1452, 2010.
- [75] B. Cai, Y. Liu, X. Tian, F. Wang, H. Li et R. Ji, «Corros. Sci.,» vol. 52, p. 3235, 2010.
- [76] D. Landolt, «« Corrosion et Chimie de Surface des Métaux »,» *Presses polytechniques et universitaires Romandes*, 1993.
- [77] P. C. Okafor, E. E. Ebenso, A. Y. El-Etre et M. A. and Quraishi, *International Journal of Corrosion*, p. doi :10.1155/2012/908290., 2012.
- [78] S. Abuhamdah, R. Abuhamdah, S. Al-Olimat et C. Paul, «Enquêtes phytochimiques et activité antibactérienne de certaines plantes médicinales de Jordanie.,» *J. Med. Plantes EUR.*, vol. 3, p. 394–404, 2013.
- [79] F. Deba, T. Dang Xuan, M. Yasuda et S. & Tawata, «"Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*" .,» *Food Control.*, vol. 19, p. 346, 2008.
- [80] A. Djeridane, M. Yousfi, B. Nadjmi, D. Boutassouna, P. Stocker et N. & Vidal, «antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds.,» *Food Chemistry.*, 2006.
- [81] R. Al-kayali, A. Kitaz et M. Haroun, «Activité antibactérienne d' *Asphodelin lutea* et d'*Asphodelus microcarpus* contre les isolats de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline . Int.,» *J. Pharmacog. Phytochem. Rés.*, vol. 8, p. 1964–1968., 2016.
- [82] A. Peksel, S. Imamoglu, N. Altas Kiyamaz et N. et Orhan, «Activités antioxydantes et de piégeage des radicaux d' *Asphodelus aestivus* Brot. extraits. Int.,» *J. Food Prop.*, vol. 16, p. 1339–1350, 2013.
- [83] M. Hussin, M. Kassim, N. Razali, N. Dahon et D. Nasshorudin, *Arabian Journal of Chemistry*, n° %1Doi: 10.1016/j.arabjc.2011.07.002., 2011.