



UNIVERSITE BLIDA-1-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des populations et organismes

Mémoire de Fin d'Études en vue de l'obtention du Diplôme de
Master en Biologie
Option : Phytothérapie et Santé

**Evaluation de quelques
propriétés biologiques du
Cresson alénois
Lepidium sativum L.**


Présenté par :

- Mlle KHEDIM Nesrine
- Mlle SIBACHIR Widad

Membres de Jury :

- Mme Bradea. M S MCA/BPO Présidente
- Mme Benassel. N MAA/BPO Examinatrice
- Mme Touaïbia. M MAA/BPO Promotrice

Année Universitaire : 2016-2017




*« La vie a une fin comme une lumière
de bougie s'éteint, mais dans le cœur
les souvenirs sont à jamais ancrés »*

*A la mémoire de **ma chère mère** que la
douleur de son absence est toujours
présente.*

Qu'Allah repose son âme en paix

*Il y a tant de chose que j'aurai
aimé te dire ...*

*Voilà je suis enfin arrivée... C'est le jour de
ma soutenance... Sans ta présence, mon
âme est triste et mon cœur est lourd...*



Dédicace

Avec mes sentiments de gratitudes les plus profonds, Je dédie ce modeste travail:

*A **mon papa** adoré : Merci d'être présent quand j'avais besoin de toi. Merci pour toutes tes sacrifices, pour ton soutien, ta compréhension et ton amour. Te rendre fier est ma plus belle des récompenses. Je t'aime très fort que Dieu te préserve et te procure santé et longue vie.*

*A mes chères sœurs **Nabila** et **Sara**, de leurs moments de rire et de joie qui m'ont oublié les fatigues. Je vous aime énormément.*

*A mon frère unique **sidali**, de son soutien, aide, encouragement et de ses conseils. J'espère que la vie lui réserve le meilleur.*

*A mes anges adorés : **Mouayed, Raïd, Wael** et **Iyed**.*

*A ma binôme **widad** et sa famille.*

A tous ceux qui ont pris place dans mon cœur et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Nesrine



Dédicace

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

*A mes très chères parents : **Mohammed** et **Fatma** qui
mon apporté de l'aide et m'ont toujours poussée vers
l'avant. Sans eux je n'ai pas pu être ce que je suis, en
reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs
encouragements durant toutes mes études. Aucune dédicace ne
saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours
pour vous. Ce travail et le fruit de vos sacrifices que vous avez
consentis pour mon éducation*

*A mes chères frères : **Hamza**, **Khaled** et **Noufel** pour leur
présence, leur soutien et leurs encouragements.*

A mes oncles et leurs femmes.

A toute ma famille.

A ma binôme Nesrine et sa famille.

A ma très chère copine : Manel et sa famille.

*A toute la promotion de **Phytothérapie et Santé** 2016-2017.*

A tous qui ont donné sens et importance à ma vie, je vous aime...

Widad

Remerciements

*Tout d'abord, nous tenons à remercier **ALLAH** le tout puissant qui nous a donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier tout particulièrement notre promotrice, Madame **Touaïbia. M**, pour avoir accepté la charge d'être rapporteur de ce mémoire, nous la remercions pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'elle a consenti durant la réalisation de ce mémoire. Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles.*

On a eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche sous la direction de vous. Nos profonds respects et gratitude.

*Nous adressons nos sincères remerciements à Madame **Bradea. M S**, d'avoir accepté de juger ce travail et de nous faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Nous souhaitons que ce travail soit le témoignage de notre reconnaissance, nos profonds respects.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements et nos profondes reconnaissances à Madame **Benassel. N**, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail. Soyez assurée de nos profondes gratitude.*

Nous remercions vivement l'équipe du groupe pharmaceutique Biotique de SAIDAL pour leur orientation et leur disponibilité.

*Nos sincères remerciements s'adressent plus spécialement à Madame **Chader**, chef de département de service de microbiologie pour, son aide précieuse, sa compétence scientifique et ces conseils techniques.*

*Nos remerciements vont aussi à Madame **Mimi** qui nous a accueillies au sein de son laboratoire de toxicologie, ainsi que toute son équipe et plus spécialement Mr. **Sali** pour sa gentillesse et sa patience.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement Mr. **Salim**, chef de département de laboratoire de physico-chimie pour son soutien, sa disponibilité et sa gentillesse.*

À tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la finalisation de ce travail et tous ceux qui ont souhaité nous voir arriver à ce stade.

Glossaire

(Bruneton, 1993).

Carragénine : mélange de polysaccharides sulfatés extraits d'algues rouge, gélifiant et émulsifiant alimentaire. Utilisée notamment pour induire des foyers inflammatoires (œdème à la carragénine) en expérimentation animale.

Cataplasme : est une pâte, plus ou moins épaisse, réalisée à base de plantes broyées et d'eau, destinée à soulager des douleurs ou des affections.

Dépuratif : se disait de tisanes et de médications auxquelles on attribuait la propriété de débarrasser l'organisme de ses toxines et de ses déchets.

Endosperme : tissu nutritif qui entoure l'embryon à l'intérieur des graines des plantes à fleurs.

Glabre : un organe végétal dépourvu de poils.

Lacérer : limbe décussé ou réduit autour des nervures.

Œdème : désigne le gonflement d'un tissu causé par l'accumulation d'un liquide séreux qui envahit divers tissus.

Onguent : médicament à base de résine, de corps gras et de divers principes actifs destiné à être appliqué sur la peau.

Silice : est un oligo-élément dont la forme naturelle est le dioxyde de silicium, lequel est présent dans de nombreux minéraux (silicium).

Sudorifique : qui provoque la sudation.

Tonifiant : qui donne de l'énergie (du tonus).

Rachitisme : est une maladie du squelette se manifestant au niveau des zones osseuses à croissance rapide. Il est dans la très grande majorité des cas dû à la carence en vitamine D.

Résumé

Lepidium sativum est une plante qui appartient à la famille Brassicaceae, qui recèle de multiples propriétés médicinales. Elle est connue sous le nom de "cresson alénois" ou "حب الرشاد".

Les graines de la plante ont été soumises à une extraction éthanolique par deux méthodes d'extraction différentes: la macération (à froid) et la décoction (à chaud). L'étude comparative a montré que le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction par décoction.

Le criblage phytochimique a révélé la présence de quelques groupes chimiques (anthocyanes, tanins galliques, flavonoïdes, mucilages, glycosides et coumarines) susceptibles d'exprimer les activités recherchées.

Cependant, l'examen physico-chimique de la poudre végétale a démontré que la plante se caractérise par un taux d'humidité conforme aux normes décrites par la pharmacopée européenne (<15%). La teneur des cendres a avoisiné 8.87 % alors que les taux des substances extractibles dans l'eau et dans l'éthanol étaient estimés à 8.25% et 14.57% respectivement. Le pH s'est avéré légèrement acide (6,01).

L'étude de la toxicité aiguë des extraits aqueux préparés à partir des concrètes éthanoliques de *Lepidium sativum*, administrés par voie orale à des souris de race N.M.R.I, a montré que la plante n'a aucun effet toxique à la dose de 25g/kg

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. D'après les résultats, les deux extraits sont dotés d'un potentiel anti-radicalaire modéré par rapport à celui de la Vitamine C.

L'activité antimicrobienne a été testée sur cinq souches par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé. Les résultats ont montré que les deux extraits possèdent un effet inhibiteur envers la plupart des souches testées. L'extrait 2 a présenté une activité antibactérienne intéressante vis-à-vis de la souche *Bacillus subtilis* avec une zone d'inhibition de 23 mm, alors que pour les souches : *Aspergillus niger*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, les diamètres d'inhibition sont 18 ; 17 et 13 mm respectivement, et aucun effet inhibiteur envers la croissance de la souche *Candida albicans*.

D'autre part, La souche *Aspergillus niger* s'avère très sensible à l'extrait 1 avec un diamètre de zone d'inhibition de 16mm, alors que pour les quatres souches restantes, les résultats sont identiques (11mm).

Ces deux extraits ont donné la plus faible concentration minimale inhibitrice (CMI) vis-à-vis des souches *A. niger* et *E. coli* qui est de l'ordre de 62.5 mg/ml.

Pour l'évaluation de l'effet anti-inflammatoire, nous avons utilisé le test d'induction de l'œdème à la carragénine. L'extrait obtenu par macération s'est révélé plus actif que le Diclofénac® qui est utilisé comme anti-inflammatoire de référence, alors que l'extrait obtenu par décoction a présenté la plus faible activité anti-inflammatoire.

Mots clés : *Lepidium sativum*, macération, décoction, toxicité aiguë, activité anti-oxydante, activité antimicrobienne, activité anti-inflammatoire.

Abstract

Lepidium sativum is a plant that belongs to the Brassicaceae family, which has many medicinal properties. It is known as "Garden cress" or "حب الرشاد".

The seeds of the plant were subjected to an ethanol extraction by two different extraction methods: maceration (cold method) and decoction (hot method). The comparative study showed that the highest yield was obtained by the decoction method.

The phytochemical screening revealed the presence of some chemical groups (anthocyanins, gallic tannins, flavonoids, mucilages, glycosides and coumarins) able to express the desired activities.

However, physico-chemical examination of the plant powder showed that the plant is characterized by a humidity level in accordance with the standard described by the European Pharmacopoeia (<15%). The ash content was around 8.87%, while the rates of extractable substances in water and ethanol were about 8.25% and 14.57%, respectively. The pH was slightly acidic (6.01).

The study of the acute toxicity of aqueous extracts prepared from the ethanolic dry extracts of *Lepidium sativum*, administered orally to mice of race N.M.R.I, showed that the plant had no toxic effect at the dose of 25g/kg.

The antioxidant activity was evaluated by the DPPH free radical scavenging method. According to the results, the two extracts have a moderate anti-radical potential compared to the Vitamin C.

The anti-microbial activity was determined for five strains by the disk diffusion method on agar medium. The results showed that both extracts had an inhibitory effect on most strains tested. Extract 2 showed interesting antibacterial activity with respect to the *Bacillus subtilis* strain with a zone of inhibition of 23 mm, whereas for the strains: *Aspergillus niger*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, the inhibition diameters are 18, 17 and 13 mm respectively, and no inhibitory effect against the growth of the *Candida albicans* strain. On the other hand, the *Aspergillus niger* strain is very sensitive to the extract 1 with an inhibition zone diameter of 16 mm, whereas for the remaining four strains the results are identical (11 mm).

These two extracts gave the lowest minimal inhibitory concentration (MIC) against *A. niger* and *E. coli* strains which is of the order of 62.5 mg / ml.

For the evaluation of the anti-inflammatory effect, we used the carrageenan edema induction method. The extract obtained by maceration was found to be more active than Diclofenac[®] which is used as an anti-inflammatory reference, while the extract obtained by decoction exhibited the lowest anti-inflammatory activity.

Keywords: *Lepidium sativum*, maceration, decoction, acute toxicity, antioxydante activity, antimicrobial activity, anti-inflammatory activity.

المُلخَص

حب الرشاد هو النبتة التي تنتمي إلى عائلة الصليبيات، التي لديها خصائص طبية متعددة. إنها معروفة باسم "حرف" أو "حب الرشاد".

تعرضت بذور النبات لاستخلاص ايثانولي بطريقتين مختلفتين: النقع و الغلي. وأظهرت الدراسة المقارنة أن أعلى عائد استخلاص تم الحصول عليه بطريقة الاستخلاص مغليا.

وكشف الفحص الكيميائي النباتي على وجود بعض المجموعات الكيميائية (الانثوسيانين، العفص الغالي، الفلافونيدات، الصمغ، جليكوسيدات والكومارين) و هذه المجموعات قادرة على التعبير عن الأنشطة المطلوبة.

بينما، أظهر الفحص الفيزيوكيميائي للمسحوق النباتي أن النبتة تتميز بمستوى رطوبة وفقا للمعايير التي وصفها دستور الأدوية الأوروبي (>15). وكان محتوى الرمد حوالي 8.87٪، في حين أن مستويات المواد القابلة للاستخراج في الماء والإيثانول قدرت بنسبة 8.25٪ و 14.57٪ على التوالي. وكانت درجة الحموضة منخفضة قليلا (6.01).

أظهرت دراسة السمية الحادة عن طريق البلع للمستخلص المائي الذي تم تحضيره باستخدام المستخلصات الإيثانولية لنبتة *Lepidium sativum*، لفئران من سلالة N.M.R.I عن طريق الفم أن النبتة ليس لها تأثير سام عند الجرعة 25 غ/مل. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة محاصرة الجذور الحرة DPPH. وفقا للنتائج، كلا المستخلصين لديهما إمكانات مضادة للأكسدة معتدلة مقارنة بالفيتامين ج.

تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات لخمسة سلالات ميكروبية بواسطة طريقة نشر القرص على وسط هلامي. وأظهرت النتائج أن كلا المستخلصين كان له تأثير مثبط على معظم السلالات المختبرة

أظهر المستخلص 2 نشاط مضاد للجراثيم مثير للاهتمام فيما يتعلق بسلالة عضية سوبتيليس مع منطقة تثبيط من 23 ملم، في حين لسلالات: الرشاشيات النيجر، الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية، أقطار التثبيط هي 18 و 17 و 13 ملم على التوالي، وليس لها تأثير مثبط ضد نمو سلالة المبيضات أليكانز.

من ناحية أخرى، سلالة أسبرجيلوس نيجر حساسة جدا للمستخلص 1 مع قطر منطقة تثبيط من 16 ملم، في حين أن با لنسبة للسلالات الأربع المتبقية النتائج متطابقة (11 ملم). أعطى هذين المستخلصين أدنى تركيز مثبط (أ-ت-م) ضد سلالات الرشاشيات النيجر والإشريكية القولونية التي هي 62.5 mg / مل

لتقييم اختبار مضاد للالتهابات، استخدمنا اختبار لتثبيط الوذمة بواسطة الكاراجينان. كان المستخلص المحصل عليه بواسطة النقع أكثر نشاطا من Diclofenac® الذي يستخدم كمرجع مضاد للالتهابات، في حين قدم المستخلص المحصل عليه بواسطة الغلي أدنى نشاط مضاد للالتهابات.

الكلمات المفتاحية: حب الرشاد، النقع، الغلي، السمية الحادة، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للالتهابات.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Partie Bibliographique	
I.1 La phytothérapie et les plantes médicinales	3
I.1.1 Définition de la phytothérapie et les plantes médicinales.....	3
I.1.1.1 La phytothérapie.....	3
I.1.1.2 Les plantes médicinales.....	3
I.1.1.3 Récolte des plantes médicinales.....	4
I.1.1.4 Conservation des plantes médicinales.....	4
I.1.1.5 Domaine d'application des plantes médicinales.....	4
I.1.2 Présentation de la plante étudiée : <i>Lepidium sativum</i>	5
I.1.2.1 Historique	5
I.1.2.2 Systématique de l'espèce <i>Lepidium sativum</i>	5
I.1.2.3 Nomenclature	6
I.1.2.4 Description botanique de la plante	6
I.1.2.5 Ecologie.....	8
I.1.2.6 Répartition géographique.....	8
I.1.2.7 Composition chimique.....	9
I.1.2.8 Usages de la plante	9
I.1.2.9 Toxicité	10
Chapitre II : Matériel et méthodes	
II.1 Matériel.....	11
II.1.1 Matériel biologique	11
II.1.1.1 Matériel végétal	11
II.1.1.2 Matériel animal	13
II.1.2 Matériel non biologique	14
II.2 Méthodes expérimentales	14
II.2.1 Étude phytochimique de l'espèce <i>Lepidium sativum</i>	14
II.2.2 Caractérisation physico-chimique de la plante.....	14
II.2.2.1 Détermination du taux d'humidité dans la poudre végétale.....	16
II.2.2.2 Détermination de la teneur des substances extractibles.....	17

II.2.2.3	Détermination des cendres totales	18
II.2.2.4	Détermination du potentiel hydrogène (pH)	19
II.2.3	Extraction par solvant (Solide-liquide)	19
II.2.4	Préparation de solutions aqueuses à partir des extraits secs obtenus	21
II.3	Évaluation des activités biologique des extraits obtenue	21
II.3.1	L'étude de la toxicité aigüe par voie orale	21
II.3.2	Evaluation de l'activité anti-oxydante in vitro	23
II.3.3	Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	25
II.3.3.1	Activité antimicrobienne des extraits par la méthode de diffusion sur milieu gélosé	25
II.3.3.2	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	27
II.3.4	Évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	27

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1	Résultats de l'étude phytochimique.....	30
III.2	Résultats de la caractérisation physico-chimique	31
III.3	Etude comparative des techniques d'extraction par solvant (Solide-liquide)	32
III.3.1	Caractères organoleptiques.....	33
III.3.2	Détermination du rendement.....	34
III.4	Résultats de l'étude de la toxicité aigüe par voie orale	35
III.5	Résultats de l'effet antioxydant	36
III.6	Résultats de l'activité antimicrobienne.....	39
III.6.1	Activité antimicrobienne des extraits par la méthode de diffusion sur milieu gélosé	39
III.6.2	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	44
III.7	Résultat de l'activité anti-inflammatoire	45

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

APG: Angiosperms Phylogeny Group.

ATCC: American Type Culture Collection.

°C : degré Celsius.

C%: Pourcentage des cendres.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

DL : Dose Létale.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DO : Densité optique.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

EC : efficient concentration.

FeCl₃ : Trichlorure de fer

I % : Pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH

MH: Mueller-Hinton.

N.M.R.I: Naval Medical Research Institute.

O.N.A.B : Office Nationale des Aliments Bétail.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PAR : Puissance anti radicalaire.

pH : potentiel Hydrogène.

PPD : Patte Postérieure Droite.

PPG : Patte Postérieure Gauche.

SAB : Sabouraud.

R% : Rendement.

R² : Coefficient de corrélation.

Liste des figures

Figure.1. Partie aérienne du <i>Lepidium sativum</i>	7
Figure.2. Feuilles du cresson alénois : à gauche, variété culturale à larges feuilles (basales et entières) ; à droite, variété culturale commune à feuilles finement divisées.....	7
Figure.3. Morphologie d'une fleur de l'inflorescence de <i>Lepidium sativum</i>	8
Figure.4. Les graines de <i>Lepidium sativum</i>	8
Figure.5. Représentation schématique d'une graine de <i>Lepidium sativum</i>	8
Figure.6. Les graines du <i>Lepidium sativum</i>	12
Figure.7. Broyage des graines avec le moulin électrique	12
Figure.8. La poudre des graines obtenue après broyage	12
Figure.9. Conservation de la poudre des graines du cresson alénois	12
Figure.10. Les souris utilisées au cours de l'étude pharmacologiques.....	13
Figure.11. Incinération de la poudre des graines.....	18
Figure.12. Détermination du pH de la solution avec un pH-mètre	19
Figure.13. Le mélange (solvant + poudre végétale) sous agitation magnétique	20
Figure.14. Schéma illustrant la forme réduite et oxydée du radical DPPH.....	24
Figure.15. Caractères organoleptiques de l'extrait 1	33
Figure.16. Caractères organoleptiques de l'extrait 2	33
Figure.17. Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait 1	37
Figure.18. Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait 2.....	37
Figure.19. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.....	38
Figure.20. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de la quercetine.....	38
Figure.21. Zone d'inhibition de la croissance de la souche <i>B. subtilis</i> par l'extrait1.....	41
Figure.22. Zone d'inhibition de la croissance de la souche <i>B. subtilis</i> par l'extrait2.....	41
Figure.23. Zone d'inhibition de la croissance de la souche <i>E. coli</i> par l'extrait1	41
Figure.24. Zone d'inhibition de la croissance de la souche <i>E. coli</i> par l'extrait 2	41
Figure.25. Zone d'inhibition de la croissance de la souche <i>S. aureus</i> par l'extrait1	42
Figure.26. Zone d'inhibition de la croissance de la souche <i>S. aureus</i> par l'extrait2.....	42
Figure.27. Zone d'inhibition de la croissance de la souche <i>A. niger</i> par l'extrait1.....	42
Figure.28. Zone d'inhibition de la croissance de la souche <i>A. niger</i> par l'extrait2.....	42
Figure.29. Zone d'inhibition de la croissance de la souche <i>C. albicans</i> par l'extrait1	42
Figure.30. Zone d'inhibition de la croissance de la souche <i>C. albicans</i> par l'extrait2	42
Figure.31. Variation du poids des pattes postérieures gauches et droites pour chaque lot.	45
Figure.32. Le pourcentage d'augmentation de l'œdème pour les quatre lots.	46
Figure.33. Le pourcentage de réduction de l'œdème pour les quatre lots.....	46

Liste des tableaux

Tableau.1 : Souches microbiennes utilisées.....	14
Tableau.2 : Classes de toxicité : échelle de Hodge et Sterner.....	23
Tableau.3 : Résultats du screening phytochimique réalisé.	30
Tableau.4 : Caractères physicochimiques de la poudre végétale.....	32
Tableau.5 : Caractères organoleptiques des deux extraits.	33
Tableau.6 : Rendement de l'extrait sec correspondant aux deux méthodes d'extraction effectuées.....	34
Tableau.7 : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire de l'extrait 1 et l'extrait 2.....	36
Tableau.8 : Valeurs de la EC ₅₀ des extraits et des contrôles positives utilisés.	38
Tableau.9 : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>Lepidium sativum</i>	40
Tableau.10 : Valeurs des concentration minimales inhibitrices pour les deux extraits.	44

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances, dites alors actives, qu'elles renferment. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique (Tyihák *et al.*, 2007).

Les plantes aromatiques ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Ces métabolites secondaires comportent diverses propriétés biologiques (Haddouchi *et al.*, 2009).

Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles elles sont utilisées, les plantes contiennent des structures chimiques complexes. Le métabolisme des plantes contient des milliers de différents constituants dont l'effet thérapeutique n'est évidemment pas lié à tous les composés, de même pour ce qui est de l'effet nocif ou toxique (Ahmed *et al.*, 2004).

Lepidium sativum (Brassicacées) est une plante annuelle à croissance rapide, qui est originaire de l'Egypte et de l'ouest de l'Asie, mais elle est maintenant cultivée dans plusieurs pays. Ses jeunes feuilles sont consommées crues ou cuites, tandis que ses graines sont utilisées fraîches ou séchées (Baba Aissa, 2011). La pâte des graines est appliquée en cataplasme sur les articulations rhumatismales pour soulager la douleur et le gonflement. Les graines sont aussi utilisées pour traiter les maux de gorge, la toux, l'asthme, les maux de tête et les maux d'estomac (Datta *et al.*, 2011). Le choix de cette plante pour le présent travail, a été motivé non seulement par ses utilisations fréquentes dans nos traditions locales culinaires et médicinales, mais également en vue de revaloriser et redécouvrir notre patrimoine national, car la valorisation des plantes médicinales, en vue d'exploiter leurs extraits ou leurs principes actifs, représente un potentiel économique énorme.

Ce présent travail est réalisé dans le cadre de la valorisation du cresson alénois sur, en testant le plan pharmaco-toxicologique ses effets antioxydant, anti-inflammatoire, antimicrobien ainsi que sa toxicité par voie orale, en vue d'apporter des preuves scientifiques sur ses vertus inventoriés en médecine traditionnelle.

Introduction

Dans ce contexte l'objectif principal de cette étude consiste à démontrer la richesse de cette plante en composés actifs et à mettre en évidence quelques-unes de ses vertus, vu qu'il n'y a que très peu d'études qui se sont intéressé à dévoiler les propriétés de cette espèce.

Nous avons adopté un plan classique pour la présentation de ce travail :

Le premier chapitre est réservé à la synthèse bibliographique, qui consiste à rappeler quelques connaissances bibliographiques concernant l'espèce *Lepidium sativum* L.

Le deuxième chapitre est consacré à la partie expérimentale qui porte sur :

- L'étude phytochimique et physico-chimique de l'espèce *Lepidium sativum*.
- Préparation des extraits des graines de la plante *Lepidium sativum* par deux méthodes d'extraction : la macération (à froid), et la décoction (à chaud)
- L'étude de la toxicité aigüe des extraits par voie orale sur des souris de race N.M.R.I.
- L'évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits par le test de DPPH.
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé et la détermination de la CMI.
- L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire par le test d'induction d'œdème a la carragénine.

Le troisième chapitre est réservé à la présentation et la discussion de tous les résultats obtenus au cours de cette étude.

Ce travail est clôturé par une conclusion générale ainsi que quelques perspectives.

I Partie Bibliographique

I.1 La phytothérapie et les plantes médicinales

I.1.1 Définition de la phytothérapie et les plantes médicinales

I.1.1.1 La phytothérapie

Selon **Scimeca et Tétou (2005)**, la phytothérapie est le traitement par les plantes, du grec, « **phyton** » qui signifie plantes et « **thérapeia** » qui veut dire soin ou cure.

La phytothérapie est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparation à base de plantes (**Wichtl et Anton, 2003**).

Le traitement des maladies courantes par les plantes médicinales suscite un intérêt croissant, de la part du grand public comme des chercheurs du monde entier (**Fournier, 2010**).

I.1.1.2 Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux (**Schauenberg et Paris, 2005**).

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago et al., 2006**).

Elles peuvent être utilisées sous forme de poudre, d'extrait, de teinture, d'infusion ou de décoction (**Baba Aissa, 2011**). Cependant, de nombreuses plantes sont toxiques et ne doivent pas être utilisées que sous forme de principes actifs, comme matière première ou précurseurs pour obtenir un médicament (**Grunwald et Janicke, 2007**).

I.1.1.3 Récolte des plantes médicinales

Selon l'organisation mondiale de la santé (2003) :

- Les plantes médicinales doivent être récoltées à la saison ou à l'époque optimale pour assurer la production de matières végétales médicinales et de produits finis de la meilleure qualité possible.
- Le moment de la récolte dépend de la partie de la plante qui sera utilisée.
- Le meilleur moment pour la récolte (saison et moment de la journée où la plante est à son maximum de qualité) sera déterminé en fonction de la qualité et de la quantité des constituants biologiquement actifs plutôt que du volume total de la partie de la plante à récolter.
- Pendant la récolte, on veillera à assurer qu'aucune matière étrangère, mauvaise herbe ou plante toxique n'est mélangée avec les matières végétales médicinales récoltées.

I.1.1.4 Conservation des plantes médicinales

Avant de stocker les plantes, il convient de vérifier qu'elles sont parfaitement sèches. La moindre humidité déclencherait un processus de moisissure, qui rendrait le matériel végétal inutilisable. Les plantes sont suffisamment sèches lorsqu'elles se brisent et se cassent avec un bruit sec.

Les plantes ainsi préparées doivent être placées immédiatement dans des récipients bien secs, des boîtes en acier, ou dans des sacs en papier. Elles ne doivent pas être conservées dans des boîtes ou des sacs en plastique ordinaires, comme le polyéthylène qui entraîne des modifications sur les végétaux conservés, ou peut donner des odeurs.

La conservation se fait à l'abri de la lumière, de l'air et au sec (**Ali-Delille, 2013**).

I.1.1.5 Domaine d'application des plantes médicinales

✓ Domaine alimentaire

Différentes plantes médicinales sont utilisées comme épices pour aromatiser et augmenter la durée de vie des aliments. En effet, ces espèces contiennent des huiles essentielles dotées d'activités antimicrobiennes intéressantes et peuvent servir d'agents de conservation alimentaires, exemple : Vitamine C, Vitamine E et la Quercétine (**Mohammadi, 2006**).

✓ **Domaine cosmétologique**

Certaines plantes médicinales sont utilisées dans la formulation des produits de beauté. Par exemple, les huiles essentielles de la lavande (*Lavandula officinalis*) sont utilisées dans les préparations de bains calmants ou relaxants (Bruneton, 1993).

✓ **Domaine médicale**

Certaines plantes sont utilisées pour le traitement des troubles nerveux et des troubles liés au stress telles que : *Angélica archangélica* et *Valériana officinalis* (Iserin, 1997 ; Legrand, 1994 ; Messkgue, 1975).

D'autres, telles que l'Aunée officinale (*Inula helenium*), Origan (*Origanum vulgare*) et l'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) ont prouvé leur efficacité dans le traitement des problèmes respiratoires et des bronchites (Iserin, 1997 ; Legrand, 1994).

Les plantes aromatiques et médicinales ont une valeur thérapeutique importante et l'intérêt de ces dernières ne cesse de grandir (Iserin, 1997 ; Messkgue, 1975).

I.1.2 Présentation de la plante étudiée : *Lepidium sativum*

I.1.2.1 Historique

Le cresson alénois passait, à l'époque de nos brillants anciens (Hippocrate, Dioscoride, Galien) pour donner de l'esprit et du courage. Depuis quelques décennies cette plante est exploitée en Chine pour traiter les problèmes d'insuffisance cardiaque (Boullard, 2001).

Au Maroc, elle est inscrite à la pharmacopée populaire, ses graines sont recommandées contre les affections pulmonaires dont la tuberculose, l'asthme, mais aussi contre l'impuissance, le rachitisme, la stérilité, et la syphilis. Dans ce pays on préconise aussi l'utilisation de ses semences, en usage externe, sous forme de cataplasme révulsif en cas de bronchites, et sous forme d'onguents (assurant la maturation d'abcès et de furoncles) (Boullard, 2001).

I.1.2.2 Systématique de l'espèce *Lepidium sativum*

Selon la classification APG III (2009) ; la systématique de l'espèce *Lepidium sativum* est la suivante :

Règne	Plantae
Sous Règne	Trachéophytes
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Brassicales
Famille	Brassicaceae
Genre	<i>Lepidium</i>
Espèce	<i>Lepidium sativum</i> L.

I.1.2.3 Nomenclature

Plusieurs dénominations et synonymes ont été attribués au cresson alénois, nous citerons quelques exemples :

- Nom arabe : Habb errchad حب الرشاد, horf حرف (Baba Aissa, 2011).
- Nom français : cressonnette, passerage cultivée, cresson à la noix, nasitort, passerage des jardins (Eberhard et al., 2005).
- Nom anglais: Garden cress, peppergrass (Eberhard et al., 2005).
- Nom italien : Nasturzio ortense (Fournier, 2010).
- Nom allemand: Gartenkresse, Gresich, Tellerkress (Eberhard et al., 2005).

I.1.2.4 Description botanique de la plante

Le cresson alénois est une plante semi-aquatique, herbacée annuelle (Ali-Delille, 2013).

Eberhard et al (2005) ont rapporté une description détaillée des différents organes végétatifs de l'espèce *Lepidium sativum* :

Les tiges : sont glabres et peuvent atteindre jusqu'à 50 cm de haut ; elles sont le plus souvent ramifiées dans leur partie supérieure et de couleur verte.

Les feuilles : sont alternes et courtement pétiolées, les feuilles supérieures sont entières, linéaires, glabres quelquefois veinées de gris ; à noter l'existence de variétés cultivées qui divergent notamment par leurs formes foliaires :

- Feuilles lacérées (cresson alénois commun)
- Feuilles lisses et frisées (cresson alénois frisé)

- Feuilles basales larges et simples (cresson alénois à larges feuilles)

Les inflorescences : sont des grappes simples de 1 à 3 cm de long, formées de petites fleurs actinomorphes portées par des pédicelles dressés contre le pédoncule floral ; le calice comporte 4 sépales, la corolle possède 4 pétales blancs ou rosés, avec un onglet à peine visible ; les 6 étamines ont des anthères souvent violettes ; deux d'entre elles sont plus courtes que les autres ; l'ovaire est supère.

Le fruit : est une silicule ailée, de 5 à 6 mm de long sur 3 à 4 mm de large, arrondie à ovale mais aplatie sur sa face ventrale.

Les graines : sont brun-rouges, piriformes et quasiment lisses.



Figure.1. Partie aérienne du *Lepidium sativum* (Eberhard et al., 2005).



Figure.2. Feuilles du cresson alénois : à gauche, variété culturelle à larges feuilles (basales et entières) ; à droite, variété culturelle commune à feuilles finement divisées (Eberhard et al., 2005).



Figure.3. Morphologie d'une fleur de l'inflorescence de *Lepidium sativum* (Fournier, 2010).



Figure.4. Les graines de *Lepidium sativum* (Originale, 2017).

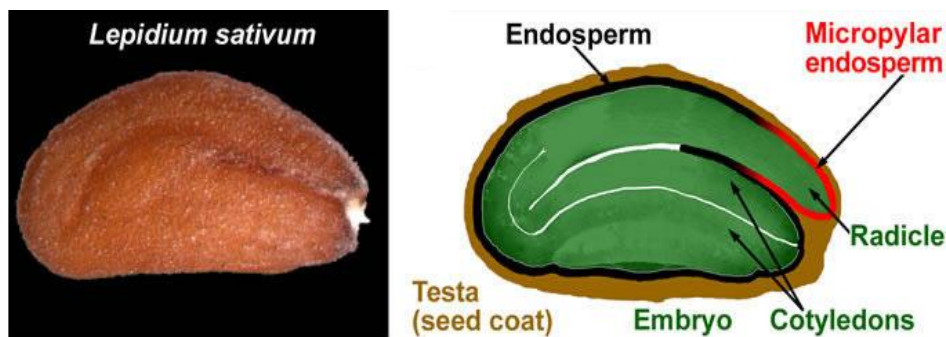


Figure.5. Représentation schématique d'une graine de *Lepidium sativum* (Müller et al, 2006).

I.1.2.5 Ecologie

Lepidium sativum se développe dans n'importe quel sol léger, à forte rétention d'eau, mais pousse mieux sur les limons humides. Cette plante peut être cultivée à n'importe quelle altitude et toute l'année, surtout dans les régions tropicales. Le cresson alénois résiste assez bien à la sécheresse. En Afrique tropicale, il est cultivé à 750–2900 m d'altitude (Burkill, 1985 ; Jansen, 1981-1982 ; Schippers, 2000).

I.1.2.6 Répartition géographique

Lepidium sativum est une plante qui est originaire de l’Égypte et de l’ouest de l’Asie. Sa domestication s’est probablement faite en Asie occidentale. Cette plante était déjà cultivée dans l’Antiquité en Grèce et en Italie. On le cultive aujourd’hui dans le monde entier, y compris la plupart des pays africains, surtout à petite échelle dans les jardins familiaux. Mais elle s’échappe souvent de ces derniers et se rencontre ainsi parfois au bord des chemins, sur les graviers des vallées, les sables, les décombres et les talus des voies ferrées. (**Burkill, 1985 ; Jansen, 1981-1982 ; Schippers, 2000**).

I.1.2.7 Composition chimique

Selon **Eberhard et al. (2005)**, le cresson alénois est riche en :

- Glucosinolates : qui représentent 0.1 à 0.2% dans les feuilles fraîches avec—comme principaux constituants la glucotropaeoline et en quantités moindres la gluconasturtine ainsi que d’autres glucosinolates.

Grace à la présence de myrosinase ainsi que d’autres enzymes capables de dégrader les composés soufrés biosynthétisés par la plante, la destruction des tissus foliaires entraîne la formation des produits d’hydrolyse de la glucotropaeoline et la formation de petites quantités de benzylisothiocyanate et de phenylacétonitrile.

D’autres produits de dégradation ont également été identifiés, comme le hex-5-énonitrile, le pent-4-énonitrile, le pent-4-énylisothiocyanate, le 3-phénylpropionitrile, le 2-phényléthylthiocyanates et le 2-phényléthanol, le benzaldéhyde et le benzylalcool. L’odeur et la saveur du cresson alénois sont principalement dues à la présence des isothiocyanates.

- Esters de l’acide hydroxycinnamique, notamment avec l’acide quinique.
- Le cresson alénois cru est une excellente source de vitamines A, K, C, B2(riboflavine), B6(pyridoxine), B9(folate), de minéraux(N, P, K, Ca, Mg, Na, Fe, B, Cu, Zn, Mn), certaines parties de la graine, dont l’endosperme et le son, contiennent des protéines et des acides gras essentiels, principalement sous forme d’Oméga-3 (acide linoléique) (**Sat et al., 2013**).

I.1.2.8 Usages de la plante

- **Emploi comme épice**

Les jeunes feuilles fraîches sont employées pour aromatiser et garnir les grillades. La plupart du temps, le cresson alénois est employé seul pour relever le goût des salades, des légumes, des céréales ou des viandes (Eberhard *et al.*, 2005).

- **Usages médicaux**

Le cresson alénois est un aliment alcalinisant, nutritif, reminéralisant et tonifiant qui a une action antianémique liée à sa richesse en fer. Il stimule la vitalité des bulbes pileux (cheveux et poils) (Moghe, 2016).

Il possède des propriétés expectorantes, diurétiques, sudorifique, dépurative générale, hypoglycémiant, anti diarrhéiques, antiscorbutiques, aphrodisiaques, apéritives, utile en cas d'asthénie, ainsi que pour traiter les dermatoses, les bronchites, les calculs biliaires, les affections hépatiques et urinaires (Ali-Delille, 2013).

Les antioxydants du cresson préviendraient l'apparition de certains cancers et auraient des effets bénéfiques sur la santé de l'œil. Le cresson serait aussi efficace contre les maladies cardio-vasculaires (Moghe, 2016).

- **D'autres emplois**

En Éthiopie, les graines sont employées pour la production d'une huile alimentaire (Eberhard *et al.*, 2005).

En Algérie, les semences mélangées au miel est le mode d'utilisation le plus indiqué, pour exciter l'appétit et pour redonner des forces aux convalescents (Baba Aissa, 2011).

I.1.2.9 Toxicité

Il est fortement déconseillé de manger du cresson sauvage, celui-ci pouvant abriter la douve, dangereux parasite à l'origine d'une grave maladie du foie : la distomatose. Par contre, le cresson cultivé dans les cressonnières que vous trouvez sur les marchés ou dans les rayons des magasins de légumes est sans aucun danger (Sat *et al.*, 2013).

II. Matériel et méthodes

La partie expérimentale de ce travail s'est déroulée pendant une période de trois mois (allant du mois de Mars au mois de Mai 2017), afin de traiter quelques paramètres phytochimiques et pharmacologiques de l'espèce *Lepidium sativum*.

Notre étude a été réalisée au niveau du site de production Biotic du groupe pharmaceutique SAIDAL, situé au Gué de Constantine (Alger), dans lequel nous avons eu accès à ses différents laboratoires, dont il convient de citer :

- Laboratoire de physicochimie pour réaliser le screening phytochimique et évaluer le pouvoir antioxydant.
- Laboratoire de toxicologie pour tester la toxicité aigüe par voie orale et évaluer l'activité anti-inflammatoire.
- Laboratoire de microbiologie pour mettre en évidence l'effet antimicrobien.

I.2 Matériel

I.2.1 Matériel biologique

I.2.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le cadre de ce travail, est constitué par les graines de l'espèce *Lepidium sativum* (**figure.6**), qui ont été achetées chez l'herboristerie de la région du Koléa, il s'agit de graines originaires de la wilaya de Djelfa.

Ces graines sont finement broyées à l'aide d'un moulin électrique (**figure.7**). La poudre obtenue (**figure.8**) est conservée dans une boîte en verre hermétiquement fermée, dans un endroit sec jusqu'à son utilisation (**figure.9**).



Figure.6. Les graines du *Lepidium sativum* (Originale, 2017).



Figure.7. Broyage des graines avec le moulin électrique (Originale, 2017).



Figure.8. La poudre des graines obtenue après broyage (Originale, 2017).



Figure.9. Conservation de la poudre des graines du cresson alénois (Originale, 2017).

I.2.1.2 Matériel animal

➤ Les souris

Au total, 27 souris de race Albinos (N.M.R.I), de sexe mâle et femelle, ayant un poids compris entre 18 et 20 g, sont utilisées (**Figure.10**) pour :

- l'étude de la toxicité aigüe : nous avons préparé 5 lots de 3 souris pour chacun.
- l'effet anti-inflammatoire : nous avons préparé 4 lots de 3 souris pour chacun.

Les souris utilisées ont été élevées au niveau de l'unité animalerie du laboratoire de pharmacotoxicologie du groupe Biotic de SAIDAL (Gué de Constantine).



Figure.10. Les souris utilisées au cours de l'étude pharmacologiques (**Originale, 2017**).

• Condition d'élevage

Les animaux sont maintenus dans l'animalerie de pharmacotoxicologie, dans des cages makrolon avec grilles en inox, sous les conditions de stabulation suivantes :

- Alimentation fournie sous forme de granulés d'origine O.N.A.B (maïs, tourteaux de soja, issu de meunerie, calcaire, phosphate, sel, acides aminés, oligo-éléments, poly-vitamines, antioxydant).
- Eau de robinet *Ad libitum*
- Température ambiante de 20 à 24°C.
- Taux d'humidité de 50 %.
- Eclairage : 10h.
- Hébergement dans des cages collectives à raison de 3 souris par lot.

- **Les souches microbiennes utilisées**

L'activité antimicrobienne des extraits aqueux du cresson alénois a été évaluée sur 3 souches bactériennes, une souche de levure et une souche fongique (**Tableau.1**), ces souches microbiennes ont été conservées et maintenues en vie, par des repiquages continus, sur des milieux de cultures adéquats.

Tableau.1 : Souches microbiennes utilisées.

Souches Microbiennes	Référence	Gram
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633	+
<i>Escherichia coli</i>	ATCC8739	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538	+
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC16404	Champignon
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	Levure

I.2.2 Matériel non biologique

Les différents Appareillages, verreries et réactifs utilisés dans cette étude sont présentés en **Annexe 1**.

I.3 Méthodes expérimentales

I.3.1 Étude phytochimique de l'espèce *Lepidium sativum*

❖ Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un ensemble de réactions chimiques simples, permettant d'orienter rapidement vers l'étude détaillée de quelques types de constituants chimiques (**Girre, 1980**). Le but est donc connaître les principales familles de métabolites présents dans l'espèce à étudier. Ces tests sont effectués sur l'infusé et parfois sur la poudre végétale.

- Solution à analyser : (préparation de l'infusé 5%)

Nous avons introduit 5g de la poudre végétale dans un erlenmeyer de 250ml contenant 100ml d'eau distillée bouillante. Nous avons arrêté l'ébullition et fermé avec un verre de montre,

après infusion pendant 15 minutes, nous avons filtré et rincé avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir un volume final de 100ml de filtrat.

a) Recherche des substances poly phénoliques

- **Les anthocyanes**

On prend 5ml d'infusé auquel on ajoute 5ml d'acide sulfurique puis 5 ml d'ammoniaque. Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut confirmer la présence d'anthocyanes (**Diallo, 2005**).

- **Les tanins**

On introduit 5ml d'infusé dans un tube à essai, puis on lui ajoute 1ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl₃ (5%). En présence des tanins, il se développe une coloration bleu noirâtre (**Diallo, 2005**).

- **Tanins catéchiques**

On ajoute à l'infusé (5 ml), de l'éthanol chlorhydrique (1 ml), ce mélange est porté à ébullition pendant 15 minutes. En présence des tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.

- **Tanins galliques**

On introduit 5ml d'infusé dans un tube à essai, puis on lui ajoute quelques fragments d'acétate de sodium pulvérisé. On y ajoute goutte à goutte 1 ml d'une solution de FeCl₃ 1%, en présence des tanins galliques, il se développe une couleur bleu noirâtre (**Diallo, 2005**).

- **Les flavonoïdes**

On ajoute 2 ml de l'infusé dans un tube à essai, et on lui ajoute quelques copeaux de magnésium et quelques gouttes d'HCl. Le virage de la couleur vers l'orange ou le rouge brique indique la présence des flavonoïdes (**Ciulei, 1982**).

b) Recherche des mucilages

On introduit 1ml de l'infusé dans un tube et on lui ajoute 5ml d'éthanol, après 10 minutes, l'obtention d'un précipité floconneux indique la présence des mucilages (**Diallo, 2005**).

c) Les Glycosides

A 2g de poudre végétale, on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique, la formation d'une coloration violette indique la présence des glycosides (**Pharmacopée URSS ,1991**).

d) Les Coumarines

La préparation de l'extrait se fait comme suit :

- Faire bouillir 1g de poudre dans 10ml d'éthanol pendant 7minutes puis filtrer.
- A 1ml du filtrat, rajouter 5 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% et quelques gouttes d'HCl à 10%.
- La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.

I.3.2 Caractérisation physico-chimique de la plante**I.3.2.1 Détermination du taux d'humidité dans la poudre végétale**

Le taux d'humidité dans la poudre végétale est l'un des indices importants qui caractérisent la bonne qualité de celle-ci. Les plantes médicinales ne doivent pas contenir une quantité d'humidité dépassant la norme décrite par la pharmacopée européenne (**Pharmacopée européenne, 2002**).

On met 1g de poudre végétale dans un creuset en porcelaine préalablement séché et pesé ; l'ensemble est placé dans une étuve réglée à une température entre 100 et 105°C durant deux heures.

On calcule le pourcentage d'eau contenue dans la poudre par la formule suivante (**Pharmacopée européenne, 2005**) :

$$X\% = \frac{M - M'}{M} \times 100$$

X% : Taux d'humidité de la poudre.

M : Masse de la prise d'essai en gramme.

M' : Masse de la prise d'essai après séchage en gramme.

I.3.2.2 Détermination de la teneur des substances extractibles

Les substances extractibles sont des substances organiques et inorganiques extraites à partir des matières végétales par un solvant.

- **Substances extractibles par l'eau**

On introduit dans un ballon un 1g de poudre végétale et 20 ml d'eau distillée, qu'on porte à ébullition pendant 15 minutes. On laisse refroidir pendant 20 minutes et on filtre. Le filtrat est mis dans un bécher préalablement pesé (masse m), après évaporation à sec, on pèse à nouveau le bécher avec le résidu (masse m').

La teneur des substances extractibles par l'eau, exprimée en pourcentage, est calculée par la formule suivante (**Diarra, 2003**) :

$$\text{Substances extractibles par l'eau} = \frac{m' - m}{P_e} \times 100$$

m : Masse du bécher vide.

Pe: Masse de la prise d'essai.

m' : Masse du bécher avec le résidu.

- **Substances extractibles par l'éthanol 80%**

On introduit dans un erlenmeyer 1g de poudre végétale et 20ml d'éthanol 80%, qu'on laisse macérer pendant 24 heures à la température du laboratoire, après l'avoir recouvert à l'aide d'un verre de montre. Ce mélange est ensuite filtré avec du papier filtre.

On pèse le bécher vide (m) avant d'y mettre le filtrat, on laisse évaporer à sec et on repèse le bécher avec le résidu (m'). La teneur des substances extractibles par l'éthanol, exprimée en pourcentage, est calculée par la formule suivante (**Togola, 2002**) :

$$\text{Substances extractibles par l'éthanol} = \frac{m' - m}{P_e} \times 100$$

Pe: Masse de la prise d'essai.

m : Masse du bécher vide.

m' : Masse du bécher avec résidu.

✓ Remarque : toutes ces manipulations sont répétées 3 fois pour calculer la moyenne.

I.3.2.3 Détermination des cendres totales

La détermination des cendres est une méthode utilisée pour mesurer la quantité des substances résiduelles inorganiques contenues dans une drogue lorsque la poudre est complètement calcinée. On pèse 1g de poudre végétale, qu'on distribue uniformément dans un creuset préalablement taré. La température est augmentée progressivement au cours de l'incinération au four à moufle durant les deux premières heures, puis elle est maintenue à 800°C pendant 4 heures.

L'échantillon est refroidie durant 1 nuit, une fois sortie du four, la capsule est placée dans un dessiccateur pendant 15 minutes puis pesée. Le calcul du pourcentage des cendres totales par gramme de poids sec se fait selon la formule suivante (**Pharmacopée européenne, 2002**) :

$$C\% = \frac{P - P_c}{P_e} \times 100$$

P : Poids du creuset avec les cendres après calcination.

P_c : Poids du creuset vide.

P_e : Masse de la prise d'essai.



Figure.11. Incinération de la poudre des graines (**Originale, 2017**).

I.3.2.4 Détermination du potentiel hydrogène (pH)

Dans une fiole de 200 ml, on disperse 4 g de poudre végétale dans de l'eau chaude. Après refroidissement, la fiole est complétée jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée (**Dawson et Aten, 1963**). On détermine le **pH** de cette solution en utilisant un pH-mètre (**Figure.12**).



Figure.12. Détermination du pH de la solution avec un pH-mètre (**Originale, 2017**).

I.3.3 Extraction par solvant (Solide-liquide)

Les extractions sont réalisées par épuisements de la poudre végétale à l'aide d'un solvant qui est l'Éthanol, en adoptant deux méthodes d'extraction différentes :

- A froid par macération.
- A chaud par décoction.

L'usage de la poudre végétale offre une plus grande surface de contact de cette drogue avec le solvant extracteur (Éthanol), permettant ainsi d'améliorer le rendement des extractions.

A. Extraction à froid par macération dans l'éthanol

Elle consiste à mettre en contact direct le solvant avec la poudre végétale, durant un temps déterminé à température ambiante, sous agitation continue (**Guignard, 2000**).

Mode opératoire

On verse 100 ml d'éthanol sur 10 g de poudre végétale contenue dans un erlenmeyer, ce mélange est maintenu sous agitation magnétique pendant 72 h (**Figure.13**), ensuite on le filtre

deux fois. Le filtrat obtenu est concentré à l'évaporateur rotatif (50°C) et le résidu sec obtenu est pesé pour déterminer son rendement puis conservé au réfrigérateur, dans un flacon sombre bien fermé. Le rendement (R%) exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$R\% = \left(\frac{\text{Masse d'extrait sec}}{\text{Masse de la prise d'essai}} \right) \times 100$$

- ✓ Le solvant utilisé est l'éthanol (à raison de 300 ml pour 30 g de poudre végétale).



Figure.13. Le mélange (solvant + poudre végétale) sous agitation magnétique (**Originale, 2017**).

B. Extraction à chaud par décoction

Elle consiste à faire bouillir la poudre végétale dans le solvant, durant un temps déterminé à température précisée (**Gzegorzyk et al., 2007**).

Mode opératoire

10 g de la poudre des graines sont extraits avec 100 ml d'éthanol, à chaud pendant deux heures à 65°C sous agitation continue, l'extrait obtenu est filtré deux fois. Le filtrat obtenu est concentré à l'évaporateur rotatif à 60° pour l'élimination du solvant.

La concrète obtenue est pesée pour évaluer le rendement, selon la même formule citée précédemment, elle est ensuite conservée au frais (+4°C), dans un flacon sombre bien fermé jusqu'à son usage.

I.3.4 Préparation de solutions aqueuses à partir des extraits secs obtenus

Afin d'évaluer quelques activités biologiques des extraits préparés (extrait sec préparé à chaud et extrait sec préparé à froid), nous avons procédé à la préparation de solutions aqueuses de ces extraits secs à une concentration de 100mg/ml.

La solution solubilisante utilisée est préparée en mélangeant 100ml d'eau distillée dans une fiole avec 1 ml d'une solution de Tween 80, ce mélange est placé à l'étuve pendant quelques minutes (pour faciliter la dissolution du Tween dans l'eau).

Après refroidissement, on prélève le volume désiré de cette solution solubilisante, pour faire solubiliser l'extrait sec (que nous avons récupéré après évaporation totale de l'éthanol et pesé avec une balance de précision), de telle sorte à obtenir une concentration finale de 100mg/ml.

Exemple : une masse de 150mg d'extrait sec est dissoute dans 1.5ml de solution solubilisant (eau distillée + Tween 80) pour avoir une solution ayant une concentration de 100mg/ml.

I.4 Évaluation des activités biologique des extraits obtenue

I.4.1 L'étude de la toxicité aigüe par voie orale

Comme tout produit actif, l'extrait peut donner lieu à des effets plus ou moins indésirables ou nocifs. Les modes d'administration traditionnels sont en général la voie orale et l'application cutanée.

IVAN, en **1928** a développé une méthode chiffrée de comparaison de la toxicité des substances chimiques, nommée la DL50 (Dose létale de 50 % des animaux testés).

Elle permet de connaître le degré de toxicité d'un produit, en fonction de la voie d'administration et de l'espèce animale. Le résultat obtenu ne permet pas de faire une extrapolation directe sur l'Homme mais donne une orientation sur la suite des essais à réaliser avant cette extrapolation.

Principe

Il consiste à déterminer statistiquement la dose moyenne qui provoque la mortalité de la moitié des animaux testés.

On administre des doses qui se suivent dans un ordre croissant à plusieurs groupes de souris. Au cours et après la période d'observation, les différents taux de mortalité pour chaque dose sont analysés pour donner une valeur statistique qui correspond à la DL50.

En plus de la mortalité, d'autres signes de toxicité, tel que les vomissements, la diarrhée et l'irritation. Sont à noter afin d'évaluer la DL 50 (Stelljes, 2008).

Mode opératoire

Nous avons utilisé la méthode de **Behrens et Karber (1949)** pour sa simplicité. Tous les essais ont été initiés le même jour avec le même matériel et dans les mêmes conditions (conditions normales d'une animalerie conventionnelle).

Distribution des lots et choix des doses administrées

Nous avons utilisé 5 lots (4 lots d'essais et un lot témoin) contenant chacun trois souris (entre 18 et 20g). Chaque lot va recevoir une dose de l'extrait solubilisé dans un solvant neutre (eau + Tween) sauf le témoin qui ne recevra que le solvant neutre. Le volume administré pour chaque souris est de 0.5 ml.

Les différentes doses d'extraits ont été émulsionnées dans un solvant constitué d'eau distillée et de Tween 80 (1ml de Tween dans 100ml d'eau distillée). Ce dernier est un stabilisateur d'émulsions sans toxicité significative sur l'animal.

Les doses utilisées sont : 12.5g/kg et 25g/kg de poids corporel de l'animal.

Le produit a été administré par gavage à l'aide d'une sonde œsophagienne, en respectant la durée recommandée de 5 secondes / souris. Les animaux sont privés d'alimentation durant les deux heures qui suivent le gavage.

Les animaux sont mis en observation pendant 14 jours, avec distribution d'aliments et d'eau *Ad libitum*.

Lecture des résultats

Le calcul de la DL 50 se fait selon la formule de **Behrens et Karber (1949)** :

$$DL50 = DL_{100} - \frac{\sum a b}{n}$$

n : Nombre moyen d'animaux par lot

b : nombre moyen des morts de deux doses successives

a : différence entre deux doses successives

Les valeurs obtenues vont être comparées avec celles fournies dans l'échelle de Hodge et Sterner (**Tableau.2**).

Tableau.2 : Classes de toxicité : échelle de Hodge et Sterner (**O'Hare et Atterwill, 1995**).

DL ₅₀ (orale)	Indice de Toxicité
Jusqu'à 1 mg / kg	1 : extrêmement toxique
De 1 à 50 mg / kg	2 : hautement toxique
De 50 à 500 mg / kg	3 : modérément toxique
De 500 à 5000 mg / kg	4 : légèrement toxique
De 5000 à 15000 mg / kg	5 : presque pas toxique
Plus de 15000 mg /kg	6 : relativement inoffensif

I.4.2 Evaluation de l'activité anti-oxydante in vitro

Pour l'évaluation de l'effet anti-oxydante des concrètes obtenues, nous avons adopté le protocole décrit par **Sanchez-Moreno et al., (1998)**.

Principe

La capacité de donation des électrons par l'extrait est mise en évidence par une méthode spectrophotométrie, en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH (2-2-Diphényl-1-picrylhydrazyl).

Le Diphényl picrylhydrazyl (DPPH), un radical libre stable violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm (**figure.14**). Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényl picryl-hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration, l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu donneur des protons. (**Sanchez-Moreno, 2002**), selon la formule de réduction de DPPH suivante :

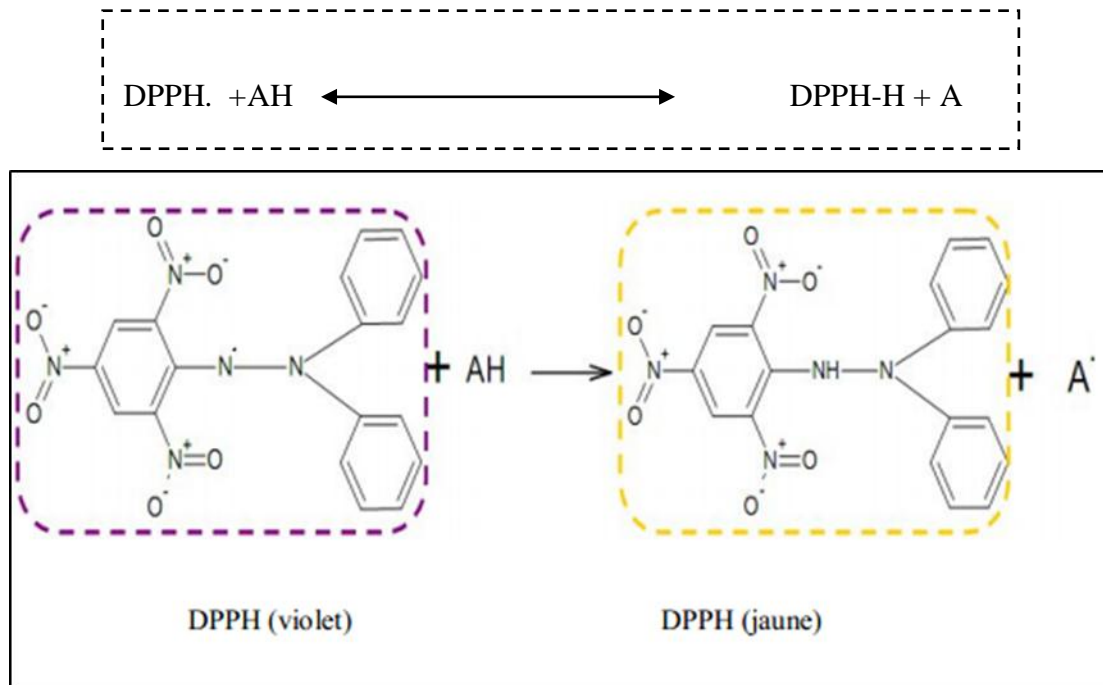


Figure.14. Schéma illustrant la forme réduite et oxydée du radical DPPH (Bouchouka, 2016).

Mode opératoire

- **Préparation de la solution DPPH :** On prépare une solution de DPPH 0.025 g/l en dissolvant 25 mg de DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$; M : 394,33), dans 1000 ml de méthanol, ce réactif doit être fraîchement préparé et maintenu à l'abri de la lumière.
- **Préparation des échantillons :** On prépare pour chaque extrait à tester trois dilutions (0.25 ; 0.5 et 1 mg/ml de méthanol) afin de pouvoir tracer une droite à partir de laquelle, on déduit le pourcentage de réduction des radicaux libres.

Un volume de 50 μ l de chaque substance à tester (0.25 ; 0.5 et 1mg/ml) est ajouté à 1.95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0.025g/l). Parallèlement, un blanc est préparé en mélangeant 50 μ l de méthanol avec 1.95 ml de la solution méthanolique de DPPH. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, et à température ambiante, la lecture de l'absorbance (Abs) est faite à 517 nm. Les contrôles positifs sont représentés par des solutions d'antioxydants standards ; l'acide ascorbique et la quercétine dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions expérimentales. Pour chaque concentration, le test est répété trois fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition des radicaux libres (I%), qui est déterminé selon la formule de Wang et al., (1998).

$$I\% = [(Abs_c - Abs_e) / Abs_c] \times 100$$

I% : pourcentage d'inhibition

Abs_c : Absorbance de contrôle

Abs_e : Absorbance de l'échantillon testé

La valeur de concentration efficace EC₅₀ (ou bien la concentration inhibitrice IC₅₀) a été déterminée pour chaque extrait, elle correspond à la concentration du substrat, qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (Wang *et al.*, 1998).

Les valeurs moyennes de l'EC₅₀ ont été calculées par régressions linéaires.

I.4.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne

I.4.3.1 Activité antimicrobienne des extraits par la méthode de diffusion sur milieu gélosé

Principe

Le pouvoir antimicrobien de nos extraits a été testé par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé (Ozcan *et al.*, 2003).

Dès l'application des disques imbibés par la substance à analyser sur le milieu de culture préalablement ensemencé, les substances actives diffusent de manière uniforme. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires, correspondant à une absence de culture (Gullüce *et al.*, 2006).

Préparation de l'extrait

Une masse de 1g de chaque extrait sec est dissoute dans 1 ml de DMSO (Diméthylsulfoxyde) pour avoir une solution ayant une concentration de 1g/ml.

Mode opératoire

A partir d'une jeune culture bactérienne réactivée de 18 heures, on réalise des suspensions troubles, en prélevant 3 à 4 colonies bien distinctes que l'on introduit dans 5 ml d'eau physiologique stérile (0.9%). La densité optique de chaque suspension doit être comprise entre 0.08 et 0.1 à une longueur d'onde de 625nm.

A partir d'une culture fongique jeune de 48 heures, on prépare des suspensions troubles en diluants quelques colonies dans 5 ml d'eau physiologique stérile (0.9%). La densité optique des suspensions fongique, mesurée à 625 nm, doit être égale à 0.3.

Sur des milieux de culture déjà préparés (Milieu Sabouraud pour les levures et les champignons et Milieu Mueller-Hinton pour les bactéries), l'ensemencement est fait par écouvillonnage en couvrant toute la surface de la gélose contenu dans la boîte de Pétri.

Des disques stériles de papier Whatman n°1 de 9 mm de diamètre sont imbibés avec 25µl de l'extrait aqueux (1g/ml), puis à l'aide d'une pince stérile, on les dépose soigneusement sur la surface de la gélose ensemencée au préalable, par la suspension microbienne. Des témoins sans extraits ont été réalisés : un contrôle négatif sur milieu Mueller-Hinton imprégné uniquement avec le solvant solubilisant (DMSO), et deux contrôles positifs avec :

- un antibiotique de référence : Sulfaméthoxazole + Triméthoprime pour les bactéries
- un antifongique de référence : Terbinafine chlorhydrate pour les champignons et les levures.

On les laisse diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes, puis on transfère les boîtes pour incubation dans une étuve bactériologique (à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les levures et les champignons).

Après l'écoulement du temps d'incubation requis, la sensibilité des souches testées est déterminée, en mesurant le diamètre de zone d'inhibition développée autour de chaque disque, à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle graduée en (mm).

Ponce et al, (2003) ont classé le pouvoir antimicrobien d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits testés, en 04 classes :

Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 10 mm.

Sensible (+) : diamètre compris entre 10 à 14 mm.

Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.

Extrêmement sensible (+++) : diamètre ≥ 20 mm.

I.4.3.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Principe

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration de l'extrait à tester, où aucune croissance microbienne n'est observée après 24 h. Elle est pratiquée pour toutes les souches utilisées (Mohammedi, 2006).

Mode opératoire

Pour chaque gamme de dilutions des substances à tester (1000 mg/ml, 500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml et 62,5 mg/ml, 31,25 mg/ml), on procède de la même manière citée précédemment pour la diffusion sur milieu gélosé approprié, on teste pour chaque souche en culture jeune ; toutes les dilutions préparées en imbibant des disques stériles de 9mm de diamètre. L'ensemble est incubé à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, à 25°C pendant 48h pour les levures et les champignons.

L'interprétation correspond à la plus faible concentration de l'extrait à tester, pour laquelle le milieu de culture présente une zone d'inhibition.

I.4.4 Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

Il s'agit d'évaluer l'effet anti-inflammatoire de chaque extrait pour une éventuelle utilisation en thérapeutique. Ce test est très utilisé pour évaluer un nouvel anti-inflammatoire en première intention.

Principe

Le principe du test consiste à provoquer un gonflement aigu de la patte d'une souris. Il est réalisé par une injection d'une substance inflammatoire sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche. Ceci provoque une réaction qui peut être réduite par des substances anti-inflammatoires. Cette réaction se traduit par un œdème d'installation rapide et persistant. La mesure est effectuée en comparant, à différents temps, le volume (mm) de la patte des souris des 4 lots (témoin, référence et les extraits).

Préparation des extraits

Extrait 1 : Une masse de 500 mg de résidu sec obtenu à partir de l'extraction à froid par macération dans l'éthanol est dissoute dans 1 ml de la solution solubilisante (100 ml d'eau distillée + 1 ml de Tween80).

Extrait 2 : une masse de 500 mg de résidu sec obtenu à partir de l'extraction à chaud par décoction dans l'éthanol est dissoute dans 1 ml de la solution solubilisante (100 ml d'eau distillée + 1 ml de Tween80).

Mode opératoire

Pour la réalisation de ce test, nous avons utilisé le protocole d'induction d'œdème à la carragénine décrit par **Levy (1969)**. L'efficacité des extraits est appréciée en comparaison avec le Diclofénac[®] (1%) qui est utilisé comme produit de référence.

Des souris des deux sexes, de race N.M.R.I et pesant en moyenne 20 g, sont réparties en 4 lots (3 souris par cage). Dix-huit heures avant l'expérience, les animaux ont été mis à jeun tout en ayant un accès libre à l'eau.

Le gavage des souris (au temps T_0) a été réalisé à l'aide d'une sonde gastrique à raison de 0.5 ml /souris.

- **lots traités :**

Lot E1 : chaque souris reçoit un volume de 0.5 ml par gavage du solvant neutre (Eau + Tween 80).

Lot E2 : chaque souris est gavée avec 0.5ml de l'extrait 1.

Lot E3 : chaque souris est gavée avec 0.5 ml de l'extrait 2.

Lot E4 : chaque souris est gavée avec 0.5ml de la solution du Diclofénac[®] (1%).

L'inflammation est provoquée par l'injection de 0.025ml d'une solution de carragénine 1 % (1g de carragénine dissout dans 100ml d'éthanol) sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche de chaque souris 30 minutes après l'administration du traitement.

Après quatre heures, l'activité anti-inflammatoire des extraits à étudier, a été évaluée en sacrifiant les souris par l'éther, puis en coupant les pattes postérieures au niveau de l'articulation, les pesées sont faites à l'aide d'une balance analytique.

Évaluation des résultats de l'effet anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire est exprimée par le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins selon la formule de **NDIAYE et al, (2002)** :

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

Le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites de chaque lot est donné par la formule suivante :

$$\% \text{ d'augmentation de l'œdème} = \frac{\text{Moyenne des poids de la patte gauche} - \text{Moyenne des poids de la patte droits}}{\text{Moyenne des poids de la patte droits}} \times 100$$

II Résultats et discussion

II.1 Résultats de l'étude phytochimique

❖ Screening phytochimique

Le test phytochimique est une analyse qualitative qui permet de mettre en évidence les différentes familles de métabolites secondaires présents dans la plante. La présence de ces derniers est attestée par des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques pour chaque famille de composés.

Les résultats expérimentaux de l'extrait aqueux préparé sont présentés dans **le tableau.3**

Tableau.3 : Résultats du screening phytochimique réalisé.

Composés	Résultat	Réaction
Les anthocyanes	+	Acidification puis coloration bleu violacé
Les tanins	+	Pas de coloration bleu noirâtre
Les tanins catéchiques	+	Pas de précipitation rouge
Les tanins galliques	+	Coloration vert noirâtre
Les flavonoïdes	+	Coloration rouge brique
Les mucilages	+	Précipitation
Les glycosides	+	Coloration violette
Les coumarines	+	Formation d'un trouble

Présence (+)

Absence (-)

Le test phytochimique réalisé sur la poudre et l'infusé de *Lepidium sativum* révèle la présence de plusieurs familles de composés bioactifs : les anthocyanes, les tanins (les tanins galliques et les tanins catéchiques), les flavonoïdes, les mucilages, les glycosides et les coumarines.

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques de *Lepidium sativum* ont démontré la présence des saponines, tanins galliques, flavonoïdes, phénols, stéroïdes et glycoside, ainsi que l'absence des triterpènes (**Berehe et Boru, 2014**).

De même les résultats réalisés par (**Hussain et al., (2011)**) ont montré que *Lepidium sativum* contient des flavonoïdes, des tanins galliques et des phénols, ces résultats sont en accord avec ceux que nous avons obtenus dans le présent travail.

Selon **Karazhiyan et al, (2011)**, l'extrait des graines de *Lepidium sativum* est extrêmement riche en composés mucilagineux, en acide gluconique et en acide galacturonique, ce qui ouvre des perspectives pour son utilisation comme agent gélifiant pour améliorer la texture de certains produits dans le domaine pharmaceutique, cosmétique et agro-alimentaire, surtout qu'il présente une grande stabilité à l'égard des variations de la température.

Les métabolites du cresson alénois pourraient être responsables de son potentiel pharmacologique connu, qui peut fournir de nouveaux phytoconstituants pouvant être évalués pour une bioactivité probable.

L'aspect visqueux de l'extrait aqueux des graines de *Lepidium sativum* nous a posé des difficultés lors de sa filtration afin de réaliser le screening phytochimique.

Pour faciliter la filtration, on a préféré de la réaliser dans trois bécher, en utilisant trois entonnoirs avec des papiers filtres, et on a utilisé l'eau chaude à chaque fois pour rincer la solution, en introduisant une spatule pour faciliter la descente du filtrat.

Cette viscosité importante est en relation directe avec la teneur importante des graines de *L. sativum* en mucilage, qui constitue l'un des constituants majeurs de cette plante. Un tel comportement suggère la capacité de l'extrait des graines de *Lepidium sativum* à structurer un liquide. Ce qui montre la possibilité de l'appliquer comme nouvel épaississant et stabilisant dans les systèmes aqueux dans le cadre d'application pharmaceutique (**Cray et al., 1998**).

II.2 Résultats de la caractérisation physico-chimique

Les propriétés physicochimiques de la poudre végétale de *Lepidium sativum* sont résumées dans le **tableau 4**.

Tableau.4 : Caractères physicochimiques de la poudre végétale.

Taux d'humidité de poudre (%)	6.75
Teneur des substances extractibles par l'eau (%)	8.25
Teneur des substances extractibles par l'éthanol 80% (%)	14.57
Cendres totales (%)	8.87
pH	6.01

Nous avons trouvé un taux d'humidité égale à 6.75 % de la poudre, ce qui montre que l'échantillon sur lequel nous avons travaillé se prêtait à une bonne conservation (<15%) d'après les recommandations de la pharmacopée européenne (2002), près de 8.25% de ses substances sont solubles dans l'eau et 14.57% dans l'éthanol. Environ 8.87% de la poudre sont des substances résiduelles inorganiques que l'on peut obtenir après une incinération. Le pH s'est avéré légèrement acide (6.01).

II.3 Etude comparative des techniques d'extraction par solvant (Solide-liquide)

La technique d'extraction est une étape très importante dans l'isolement des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal (**Lehout et Laib, 2015**). Elle est influencée par sa nature chimique, la méthode utilisée, la taille de l'échantillon étudié, ainsi que la présence de substances interférentes (**Stalikas, 2005**).

Dans ce travail, nous avons utilisé deux méthodes d'extraction, en utilisant le même solvant extracteur : Extraction à froid par macération (éthanol) et extraction à chaud par décoction (éthanol).

L'étude comparative de ces deux méthodes d'extraction porte sur :

- Le rendement d'extraction.
- L'évaluation de quelques activités biologiques : l'étude de la toxicité aigüe par voie orale, l'activité antioxydante, l'activité anti-inflammatoire et l'activité antimicrobienne.

II.3.1 Caractères organoleptiques

Les deux procédés d'extraction nous ont permis d'obtenir des extraits dont les caractéristiques organoleptiques sont mentionnées dans le **Tableau 5**.

Tableau.5 : Caractères organoleptiques des deux extraits.

Procèdes d'extraction	Caractères		
	Aspect	Couleur	Odeur
A froid par macération	Liquide	Jaune pale	Piquante
A chaud par décoction	Liquide	Jaune pale	Piquante

Au vu de ces résultats, on peut déduire que les deux extraits éthanoliques possèdent les mêmes caractères organoleptiques.



Figure.15. Caractères organoleptiques de l'extrait 1 (Originale, 2017).



Figure.16. Caractères organoleptiques de l'extrait 2 (Originale, 2017).

Afin d'utiliser l'extrait pour des essais pharmacologiques, la conservation de l'état bioactif des molécules extraites semble importante. L'épuisement complet du solvant s'avère nécessaire. La présence même des traces d'éthanol dans l'extrait peut entraîner des effets

secondaires indésirables. De ce fait l'effet positif ou curatif de la substance pharmacologique peut être masqué par l'action du solvant (**Bousahel, 2010**).

II.3.2 Détermination du rendement

Dans cette étude, le rendement de l'extrait sec, obtenu après évaporation, a été déterminé par rapport à 30g de la matière végétale (broyat des graines).

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le **tableau.6**.

Tableau.6 : Rendement de l'extrait sec correspondant aux deux méthodes d'extraction effectuées.

Méthode d'extraction	Rendement de l'extrait sec (%)
Macération (éthanol)	8.09
Décoction (éthanol)	9.98

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que :

- Le rendement le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction à chaud par décoction dans l'éthanol.

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que : la nature chimique du solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (**Lehout et Laib, 2015**).

Selon **Lee et al. (2003)**, le rendement n'est que relatif et semble être liée aux propriétés géographiques, à la durée de stockage et de récolte ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée.

D'après **Lehout et Laib, (2015)** l'utilisation du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans ce solvant.

Dans ce contexte, **Lehout et Laib, (2015)** ont observé que l'éthanol est considéré comme étant le deuxième solvant efficace pour extraire les polyphénols à partir de la plante *Acacia mollissima* après le méthanol.

Par ailleurs, l'extrait sec ne renferme pas uniquement des polyphénols et des flavonoïdes, il contient également d'autres substances naturelles (**Békro et al., 2007 ; Kebièche et al., 2011**).

Il y a également une autre raison qui pourrait avoir un impact sur le rendement d'extraction, c'est le temps d'extraction qui est généralement très long dans le cas de la première méthode (72 h pour l'extraction par macération) par rapport à la deuxième méthode (2 h pour l'extraction par décoction).

L'extraction à froid par macération est considérée comme étant une des meilleures méthodes d'extraction parce qu'elle permet de maintenir les métabolites extraits dans un état aussi proche de leur état naturel, cependant elle présente l'inconvénient d'avoir un rendement très faible. Par contre, l'extraction par décoction présente un rendement élevé, mais les métabolites thermolabiles risquent d'être totalement dégradés (**Ponge et al, 2005**).

II.4 Résultats de l'étude de la toxicité aigüe par voie orale

Des lots de 3 souris de race N.M.R.I ont reçu par voie orale les doses suivantes : 12.5g/kg et 25g/kg de poids corporel des extraits aqueux préparés à partir du résidu sec.

Après l'administration des extraits par gavage, à l'aide d'une sonde œsophagienne, les animaux ont été soumis à l'observation pendant les 14 jours qui ont suivis l'administration.

Cette étude montre que les deux extraits de la plante ne semblent exercer, aucun effet toxique, aux différentes doses administrés aux souris, leur comportement ne change pas au cours et après l'observation. Nous avons également constaté que ces doses testées ne provoquent aucune mortalité immédiate ou tardive.

D'après cette étude, nous pouvons déduire que les extraits des graines de *Lepidium sativum* ne présentent aucun effet toxique même à la dose de 25g/kg de poids corporel, ce qui supporte son usage traditionnel dans le traitement de diverses maladies tels que les maladies respiratoires et les maladies cardio-vasculaires.

Al Yahya et al, (1994), ont rapporté que l'administrions de doses uniques de 0.5 à 3 g/kg a des souris de race *Albinos*, ne provoque aucune toxicité aigüe. Cependant, l'administration d'une dose journalière de 100mg/kg pendant 3 mois n'a présenté aucun signe de toxicité ou trouble du comportement des animaux testés durant les deux premiers mois, toutefois, un faible taux de mortalité qui ne dépasse pas 5% a été enregistré au terme de ce test de toxicité subaigüe.

II.5 Résultats de l'effet antioxydant

L'activité antioxydante des deux extraits de la plante vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 517 nm (**Figure.17 et .18**). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires contenues dans les extraits à tester (**Hamidi, 2011**).

Les résultats sont exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire qui a été calculée pour des concentrations croissantes allant de 0.25 jusqu'à 1 mg/ml.

Tableau.7 : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire de l'extrait 1 et l'extrait 2.

Concentration mg/ml	Extrait 1 (Obtenu par macération)		Extrait 2 (Obtenu par décoction)	
	DO	I %	DO	I %
1 mg/ml	0.063	86.92946058	0.047	90.2489625
0.5 mg/ml	0.126	73.78976487	0.124	74.27385892
0.25 mg/ml	0.170	64.79944675	0.2643	45.15905948

DO : densité optique

I% : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.

Les courbes (**figure.17 et .18**) révèlent que le pouvoir anti-radicalaire est proportionnel à la concentration des extraits. A partir de ces données, la concentration efficace EC_{50} a été déterminée. Les résultats obtenus sont consignés dans le **tableau.8**. On rappelle que la EC_{50} représente la quantité de l'extrait nécessaire à l'inhibition de la moitié de la quantité initiale des radicaux libres présents dans le mélange réactionnel (**Bouchouka, 2016**).

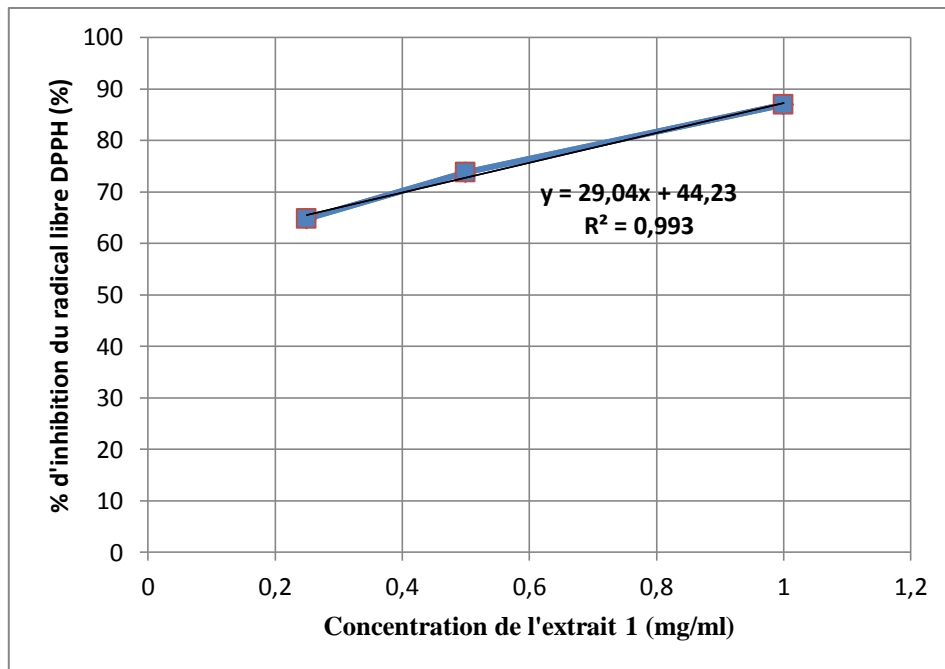


Figure.17. Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait 1.

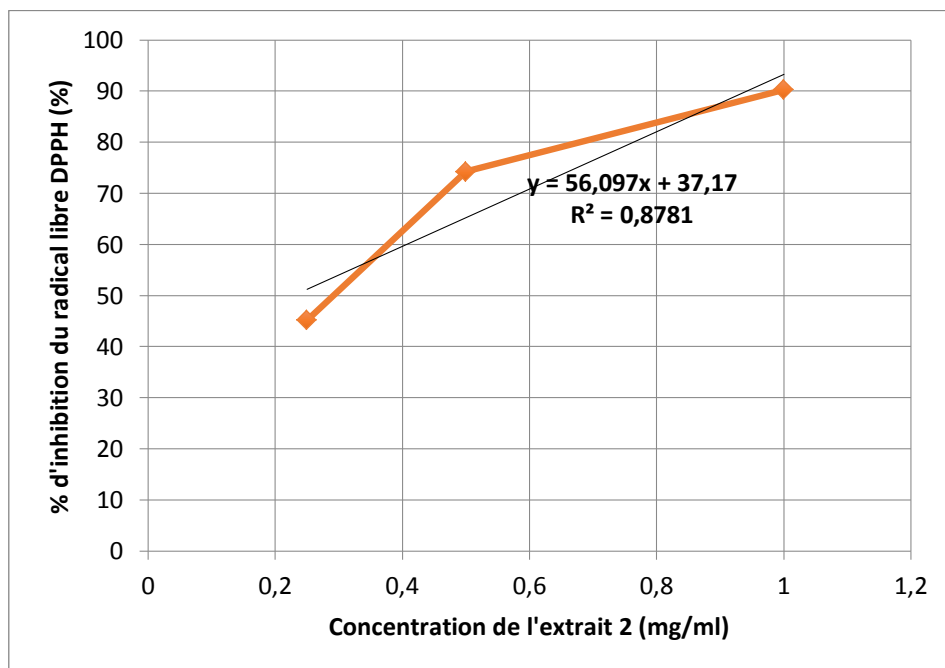


Figure.18. Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait 2.

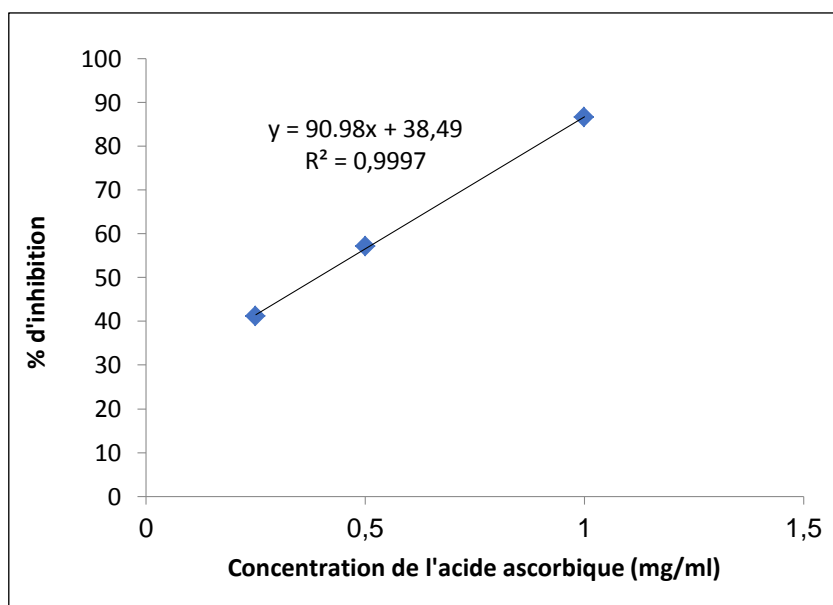


Figure.19. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique

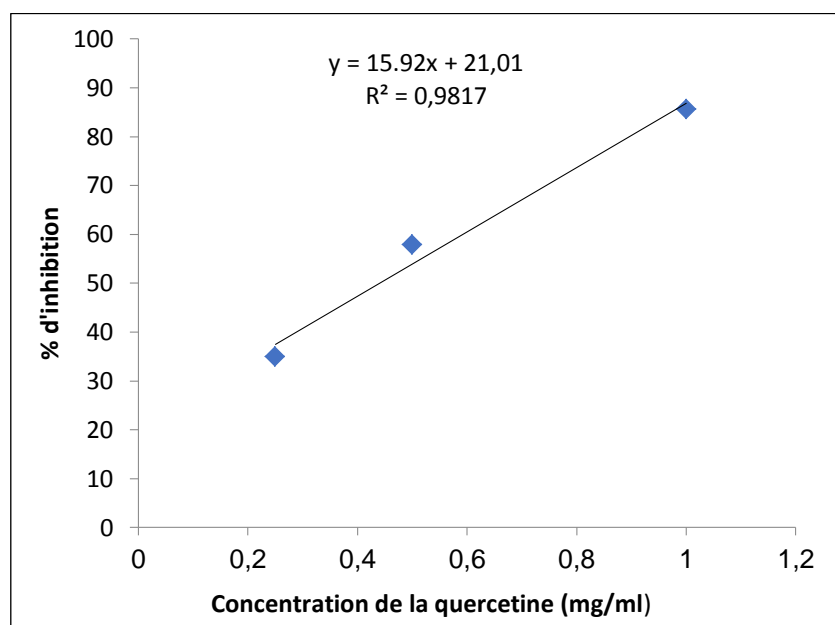


Figure.20. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de la quercétine

D'après le tableau.8, les pourcentages de réduction du radical libre DPPH, varient considérablement. En comparant les valeurs des EC_{50} , on constate que l'extrait 1 ($EC_{50}=0.1986$ mg/ml) possède une activité antioxydante supérieure à celle de l'extrait 2 ($EC_{50}=0.2287$ mg/ml). Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que l'activité antioxydante d'un extrait dépend essentiellement de la nature des composés qu'il contient et de leur vulnérabilité au traitement qu'il subit lors du procédé d'extraction.

Tableau.8 : Valeurs de la EC_{50} des extraits et des contrôles positives utilisés.

Concentration (mg/ml)		EC_{50} (mg/ml)	PAR
Extrait 1		0.1986	5.0352
Extrait 2		0.2287	4.3725
Contrôles positifs	Vitamine C	0.1265	7.9051
	Quercétine	1.82	0.5494

Cela nous mène à admettre que les extraits de cette espèce possèdent des molécules bioactives thermolabiles responsables de son activité antioxydante.

Par ailleurs, à la différence de la macération qui se déroule à température ambiante, la décoction se fait à la température d'ébullition du solvant, ce qui entraînerait la dégradation thermique des composés thermosensibles (**Popovici et al., 2009**).

La capacité antioxydante la plus élevée qui correspond à la valeur d' EC_{50} la plus faible a été enregistrée pour l'extrait 1 avec une EC_{50} de l'ordre de 0.1986 mg/ml. Il est à noter que cette valeur est proche de celle de Vitamine C, tandis qu'elle est presque dix fois meilleure que celle de la quercétine.

Le Vitamine C et la quercétine sont des contrôles positifs utilisés dans cette étude comme antioxydants de référence dont les valeurs d' EC_{50} sont respectivement 0.1265 mg/ml et 1.82 mg/ml.

Comparativement à d'autres études, nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Indumathy et Aruna. (2013)** sur l'extrait de graines de *Lepidium sativum*.

Les graines de *Lepidium sativum* ont fait l'objet de nombreux travaux dont les résultats sont variables. Les travaux de **Yadav et al, (2011)** et **Rizwan et al, (2015)** présentent des valeurs respectives d'EC₅₀=18.46µg/ml, 0.429mg/ml et 62µg/ml.

Cette variabilité est dûe aux impacts des facteurs environnementaux sur la composition chimique de la plante ainsi que sur leurs activités biologiques.

Notre étude a mis en évidence l'impact du procédé d'extraction sur la qualité des extraits obtenus plus particulièrement en terme d'activité antioxydante et a montré l'importance du choix de la méthode d'extraction qui s'avère une étape cruciale dans une étude de valorisation des plantes médicinales visant à en obtenir des métabolites bioactifs.

A la lumière des résultats obtenus au cours du criblage phytochimique, qui a mis en évidence la présence de plusieurs familles de composés phénoliques, on peut conclure que l'extraction par décoction est la meilleure méthode en terme de quantité, pour extraire le maximum de ces métabolites, et la macération est la méthode la mieux appropriée pour avoir des extraits de qualité dotés de pouvoir antioxydant.

Sur cette même piste d'investigation, les travaux menés par **Dorman et al, (2003)**, ont démontré qu'il n'y a pas une corrélation significative entre la teneur des polyphénols et l'activité antioxydante de l'extrait d'une poudre végétale.

Ces derniers auteurs ont montré que la capacité antioxydante des extraits des plantes n'est pas nécessairement liée à un contenu élevé de composés phénoliques, mais vraisemblablement dépend d'autres composés à effet antioxydant tels que les coumarines, les tanins et les flavonoïdes.

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité antioxydante a un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composées phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composées phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (**Tawaha et al., 2007**).

II.6 Résultats de l'activité antimicrobienne

II.6.1 Activité antimicrobienne des extraits par la méthode de diffusion sur milieu gélosé

Nous rappelons, que les objectifs de cette manipulation sont :

- Evaluer *in vitro* le pouvoir antimicrobien des extraits préparés à partir des graines *Lepiduum sativum*.
- Vérifier si on peut utiliser ce pouvoir antibactérien comme un facteur de comparaison entre les deux méthodes d'extraction étudiées.
- Evaluer la concentration minimale inhibitrice des extraits testés.

Nous avons utilisé la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, (Sabouraud (SAB) pour les levures et champignons, et Mueller-Hinton (MH) pour les bactéries).

L'activité antimicrobienne des deux extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques imbibés par les extraits à tester vis-à-vis de cinq (5) souches de micro-organismes (**Tableau 9**).

Tableau.9 : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de *Lepidium sativum*.

Souches microbiennes	Zone d'inhibition (ZI) (mm)				Sensibilité	
	Extrait 1	Extrait 2	T ⁺	T ⁻	Extrait 1	Extrait 2
<i>Bacillus subtilis</i>	11	23	40	9 [*]	Sensible	Extrêmement sensible
<i>Escherichia coli</i>	11	17	33	9 [*]	Sensible	Très sensible
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	13	40	9 [*]	Sensible	Sensible
<i>Aspergillus niger</i>	16	18	40	9 [*]	Très sensible	Très sensible
<i>Candida albicans</i>	11	9 ^{**}	17	9 [*]	Sensible	Résistante

T⁺ : Sulfaméthoxazole +Triméthoprime pour les bactéries, et Terbinafine chlorohydrate pour les champignons et les levures

T⁻ : DMSO (diméthylsulphoxyde)

Extrait1 : 1g de résidu sec obtenu à partir de l'extraction à froid dissoute dans 1ml de DMSO

Extrait2 : 1g de résidu sec obtenu à partir de l'extraction à chaud dissoute dans 1ml de DMSO

* Le diamètre est évalué en prenant en considération le diamètre du disque (9mm)

** Absence totale de zone d'inhibition

Cette méthode nous a permis de déterminer l'action de deux extraits sur les 5 souches microbiennes étudiées. Cette action se traduit par l'apparition des zones d'inhibition autour des disques préalablement imprégnés d'extrait.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une souche bactérienne à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques.

Les extraits testés ont réagi positivement sur les différentes espèces bactériennes et fongiques ce qui confirme que l'espèce de *Lepidium sativum* est douée de propriétés antimicrobiennes, à l'exception de la souche *Candida albicans* qui a exprimé une nette résistance pour la concentration de 1g/ml.

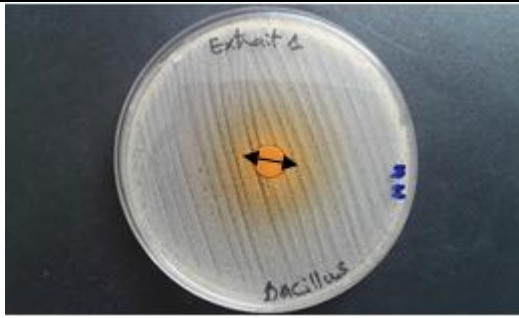


Figure.21. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *B. subtilis* par l'extrait1.

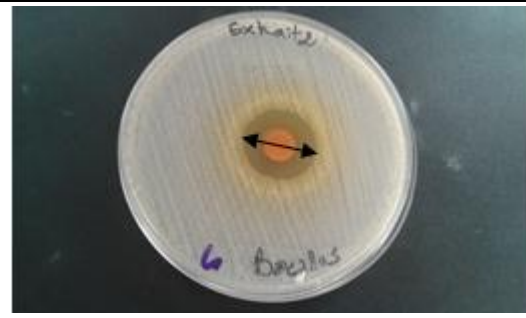


Figure.22. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *B. subtilis* par l'extrait2.



Figure.23. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *E. coli* par l'extrait1.

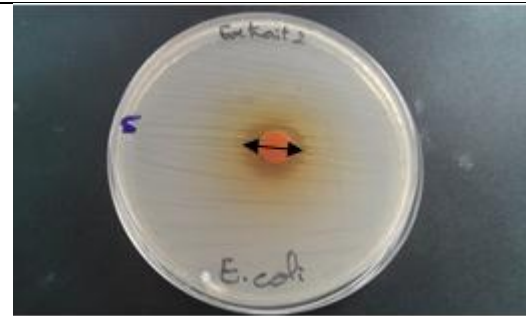


Figure.24. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *E. coli* par l'extrait 2.



Figure.25. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *S. aureus* par l'extrait1.



Figure.26. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *S. aureus* par l'extrait2.



Figure.27. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *A. niger* par l'extrait1.



Figure.28. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *A. niger* par l'extrait2.



Figure.29. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *C. albicans* par l'extrait1.



Figure.30. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *C. albicans* par l'extrait2.

Selon **Brantner et al., (1996)**. Cette activité peut être due à la présence des flavonoïdes et des tanins. Les composés phénoliques participent à la défense de la plante contre les agressions comme agents antibactériens ou antifongiques en se liant aux protéines et en inactivant les mécanismes enzymatiques des microorganismes (**Harborne et al., 1992**).

L'extrait 2 présente une activité antibactérienne intéressante vis-à-vis de la souche *Bacillus subtilis* avec une zone d'inhibition de 23 mm. L'hypersensibilité de cette dernière peut

s'expliquer probablement par la nature des parois des bactéries Gram (+) qui sont dépourvues de membrane externe et qui semblent être sensibles aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH et les extraits naturels (**Balentine et al., 2006**). Par ailleurs, il est à noter que le pouvoir antibactérien de ce même extrait est sensiblement diminué vis-à-vis des trois souches : *A. niger* ; *E. coli* et *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition de 18 ; 17 et 13 mm respectivement. On note aussi que cet extrait a présenté un résultat complètement négatif pour la souche fongique *Candida albicans*. Certains microorganismes, peuvent d'ailleurs dégrader les composés phénoliques qui leur servent alors de substrats carbonés et favorisent ainsi leur croissance (**Straney et al., 2002**).

D'autre part, l'extrait 1 paraît moins actif. On note que la souche fongique *A. niger* s'avère très sensible à cet extrait avec un diamètre de zone d'inhibition de 16mm, alors que pour les quatre souches restantes, les résultats sont identiques (11mm) témoignant de leur faible sensibilité.

La variation de l'effet entre les deux extraits est probablement due à leur teneur en polyphénols. Comme rapporté dans la littérature, le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. (**Jungkind, 1995**).

Il est clair que l'activité antibactérienne de nos extraits reste inférieure à celle des antibiotiques de références : Sulfaméthoxazole +Triméthoprime, et Terbinafine chlorohydrate. Cependant, ces extraits exercent une activité antibactérienne dans la mesure où ils ne sont pas des produits purs mais des extraits bruts (**Sanogo et al., 2006 ; Werner et al., 1998**).

Pragya et al. (2012) ont observé un effet antimicrobien de l'extrait éthanolique contre *S. aureus* et *E. coli* dont les zones d'inhibition sont respectivement 15 mm et 13 mm, tandis qu'il est complètement négatif pour la souche *Candida albicans*.

Ces résultats sont en accord avec nos résultats pour l'extrait 2 (obtenu par décoction) des graines de *Lepidium sativum*.

Des travaux antérieurs ont montré que l'extrait éthanolique des graines de *Lepidium sativum* est très efficace contre les bactéries gram positif et négatif (**Pragya et al., 2012**). Les substances bioactives de cette plante peuvent donc être utilisées dans la formulation d'agents antimicrobiens pour le traitement de diverses infections bactériennes et fongiques (**Pragya et al., 2012**).

II.6.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Après la mise en évidence de l'activité antibactérienne de nos extraits par la méthode de diffusion des disques imbibés sur milieu gélosé, nous avons essayé de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de ces deux extraits. Les résultats donnant les valeurs de la CMI en mg/ml de chaque extrait, sont consignés dans le **tableau.10**.

Tableau.10 : Valeurs des concentration minimales inhibitrices pour les deux extraits.

Souches microbiennes	Extrait 1	Extrait 2
	CMI (mg/ml)	CMI (mg/ml)
<i>Bacillus subtilis</i>	250	62.5
<i>Escherichia coli</i>	62.5	62.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	500	250
<i>Aspergillus niger</i>	62.5	62.5
<i>Candida albicans</i>	125	ND

ND : Non déterminé

D'après le **tableau.10**, Les deux extraits se sont révélés actifs envers toutes les souches microbiennes testées mais avec des degrés différents ce qui s'est traduit par la différence des CMI, toutefois la souche *Candida albicans* n'a montré aucune sensibilité pour l'extrait 2.

Les deux extraits possèdent la même CMI pour les souches : *A. niger* et *E. coli* de 62.5 mg/ml (la valeur plus faible de la CMI), cette valeur de la CMI a été également obtenue avec l'extrait 2 pour la souche *B. subtilis*, qui est quatre fois plus faible que la CMI obtenue avec l'extrait 1.

Alors que pour la souche de *S. aureus*, la valeur de la CMI de l'extrait 1 est deux fois supérieure à celle de l'extrait 2.

Les résultats trouvés dans les travaux de **Pragya et al. (2012)**, ont présenté la même valeur de CMI pour les souches *E. coli* et *S. aureus* estimée à 2.5 mg/ml. Cette différence trouve probablement son explication dans la différence de la méthode d'extraction utilisée.

II.7 Résultat de l'activité anti-inflammatoire

L'étude a été conçue pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits préparés à partir des graines de la plante *Lepidium sativum*. L'expérience a été réalisée par induction d'un œdème au niveau de la patte des souris en injectant de la carragénine (1%). Nous avons testé sur ce modèle les deux extraits aqueux (Extrait 1 et extrait 2), à la dose de 25g/kg de poids corporel par voie orale (**Figure.31, .32 et .33**).

Les résultats obtenus ont été comparés à ceux du lot des animaux traités avec un anti-inflammatoire de référence le Dicoféna[®] (anti-inflammatoire non stéroïdien) et à ceux du lot témoin ayant reçu uniquement le solvant neutre (eau + Tween 80).

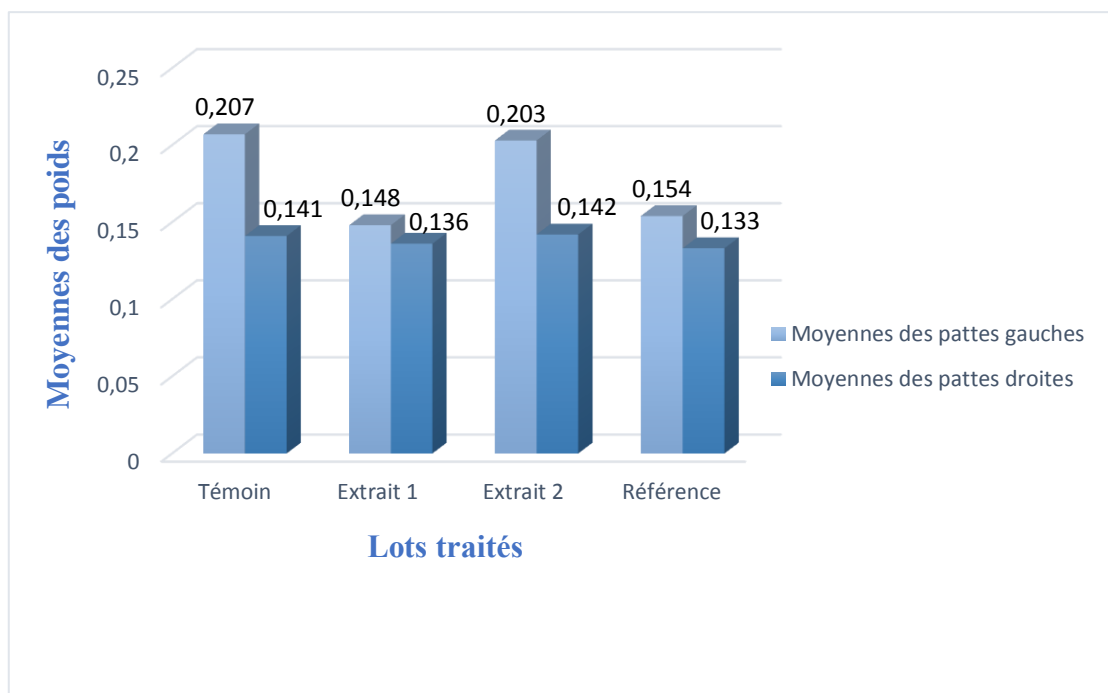


Figure.31. Variation du poids des pattes postérieures gauches et droites pour chaque lot.



Figure.32. Le pourcentage d'augmentation de l'œdème pour les quatre lots.

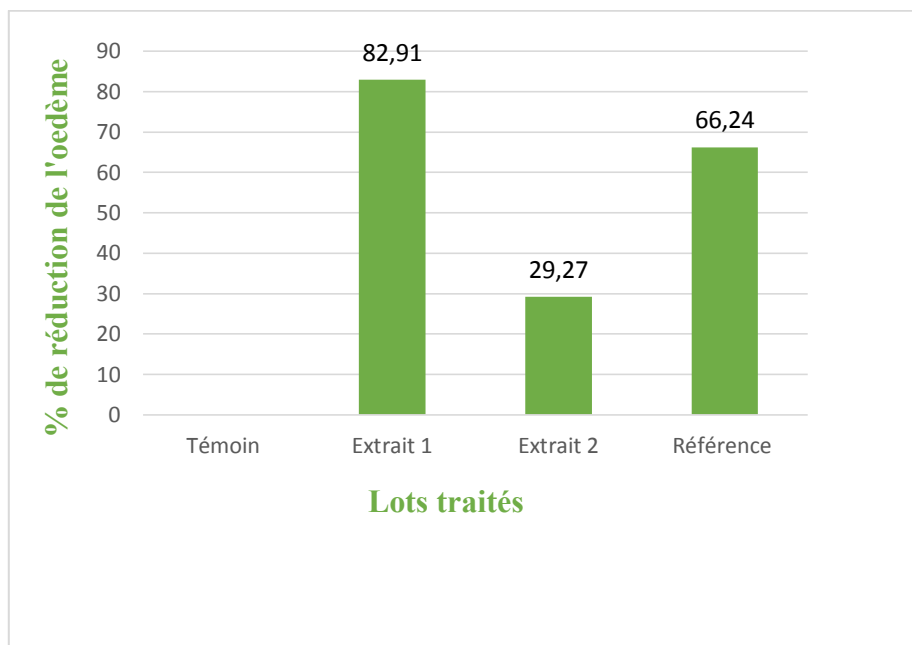


Figure.33. Le pourcentage de réduction de l'œdème pour les quatre lots.

L'injection de la carragénine provoque une augmentation progressive de l'œdème chez le lot témoin durant les quatre heures de l'expérimentation.

L'extrait 1 de l'espèce *Lepidium sativum* administré par voie orale provoque une diminution de l'œdème, qui est plus importante que celle du Diclofénac[®] (1%). Les pourcentages d'inhibition de l'œdème après les quatre heures étant respectivement de 82.91 pour l'extrait 1 et 66.24% pour l'anti-inflammatoire de référence.

Le lot traité avec l'extrait 2 a présenté la plus faible activité anti-inflammatoire avec un pourcentage de 29.27%.

Les résultats obtenus à l'issue du test réalisé montre que l'extrait 1 des gaines de *Lepidium sativum*, réduit de façon appréciable l'œdème induit par la carragénine. L'inhibition de l'œdème par l'extrait 1 de la plante est comparable, à celle de Diclofénac[®].

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait 1 peut s'expliquer en partie par la présence des composés phénoliques dont l'existence a été révélée par le screening phytochimique. De nombreuses études ont rapporté que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires, qui sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation ; d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine (**Zeghad, 2009**).

On peut admettre également que l'extrait 1 exerce un excellent effet anti-inflammatoire à visée préventive, puisqu'il a été administré aux souris avant d'induire l'inflammation par la carragénine, il est également fort probable que des doses plus élevées peuvent empêcher complètement la formation de l'œdème et le déclenchement du processus inflammatoire. on constate encore une fois , à travers ce test que l'efficacité du test anti-inflammatoire est en relation étroite avec le choix du procédé d'extraction, la macération à froid reste toujours une méthode de choix pour obtenir des extrait de très bonne qualité et de meilleurs propriétés thérapeutiques, puisque elle protège les biomolécules de toute forme d'altération chimique ou thermique.

Al Yahya et al. (1994) ont rapporté que l'extrait éthanolique des graines de *L. sativum* exerce un intéressant effet anti-inflammatoire sur les souris et ne présentent aucune contre-indication ou effet non-souhaitable suite à une administration à court terme.

Selon **Rahimi et al. (2008)**, les extraits éthanoliques de *L. sativum* sont efficaces dans le traitement de la maladie inflammatoire de l'intestin.

Conclusion et perspectives

La flore algérienne jouie d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques. Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, l'espèce *Lepidium sativum* a fait l'objet d'une étude phytochimique, physico-chimique, toxicologique et d'une évaluation de quelques potentialités biologiques de la concrète extraite à partir de ses graines par deux méthodes d'extraction différentes (par macération et par décoction).

Dans le présent travail, le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de cette plante en métabolites secondaires, où nous avons constaté la présence des anthocyanes, des tanins galliques, des flavonoïdes, des mucilages, des glycosides et des coumarines. Ces métabolites secondaires détectés qualitativement possèdent une grande valeur thérapeutique.

La détermination des caractéristiques physico-chimiques, nous a permis de confirmer la bonne qualité de la poudre végétale utilisée. Elle se distingue par un taux d'humidité de 6.75 %, et un taux de cendres de 8.87%. Cependant le taux des substances extractibles dans l'eau est égal à 8.25%, alors que celui obtenu dans l'alcool est de 14.57%. Le pH s'est avéré légèrement acide (6,01).

Les résultats de l'étude comparative montrent que le meilleur rendement d'extraction a été obtenu par décoction (9.98%), alors que la macération présente un rendement plus faible de 8.09%.

L'étude de la toxicité aiguë des extraits aqueux préparés à partir de la concrète éthanolique des graines de *Lepidium sativum*, administrés par voie orale à des souris de race N.M.R.I, a montré que la plante n'a aucun effet toxique à la dose de 25g/kg du poids corporel.

Aucun signe de toxicité n'a été observé sur l'ensemble des lots testés au cours des 14 jours ayant suivis l'administration.

L'activité antioxydante in vitro réalisée avec la méthode de réduction du radical libre DPPH a montré que le pouvoir antioxydant est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait. D'après les résultats obtenus, nous pouvons déduire que les extraits testés de la plante (*L. sativum*) jouissent d'un potentiel anti-radicalaire appréciable. Dont les pourcentages d'inhibition sont de l'ordre de 86.93% et 90.25% à la concentration de 1mg/ml

Conclusion et perspectives

pour l'extrait 1 et l'extrait 2 respectivement. Néanmoins, cette activité reste bien inférieure à celle de la vitamine C, qui est utilisé comme contrôle positif.

L'évaluation du pouvoir antimicrobien réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, diffère d'un extrait à l'autre, elle est en rapport direct avec leurs compositions chimiques respectives. Ainsi, l'extrait obtenu par décoction présente une activité inhibitrice plus importante par rapport à l'extrait obtenu par macération, en accord avec son meilleur rendement d'extraction. Pour cet extrait la plus grande zone d'inhibition a été marquée par la souche *B. subtilis* avec un diamètre d'inhibition de 23mm, suivie par les souches *A. niger* et *E. coli* dont les diamètres d'inhibition sont : 18 et 17 mm respectivement. Alors que pour l'extrait obtenu par macération, la souche fongique *A. niger* est la plus sensible avec un diamètre d'inhibition de 16 mm.

Ces deux extraits ont donné la plus faible concentration minimale inhibitrice (CMI) vis-à-vis des souches *A. niger*, et *E. coli* qui est de l'ordre de 62.5 mg/ml. Selon les résultats obtenus, on peut conclure que les extraits testés sont pourvus d'une activité antimicrobienne modérée à la concentration de 1g/ml.

Par ailleurs, l'inhibition du développement de l'œdème induit par la carragénine chez les souris de race N.M.R.I permet de conclure que l'extrait obtenu par macération administré par voie orale (82.91%) possède un effet anti-inflammatoire supérieur à celui de Diclofenac[®] tandis que l'extrait obtenu par décoction a un effet très faible (29.27%).

L'activité anti-inflammatoire des extraits des graines de *Lepidium sativum* montre que cette plante possède un intéressant pouvoir pharmacologique, ce qui valide son usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

En perspectives, des études à l'échelle moléculaire seront nécessaires pour :

- Déterminer, d'une part les composés des graines de *Lepidium sativum* (notamment en ce qui concerne l'identification et la purification des composés phénoliques) qui peuvent être responsables de tels effets et d'autre part, le mécanisme absolu par lequel ces composés accomplissent leurs effets antioxydants, antimicrobiens et anti-inflammatoires.
- Elargir le panel de ces activités in vitro et in vivo et pourquoi pas appliquer d'autres tests biologiques (activité hypoglycémiant, analgésique, anticancéreuse.....etc) pour affirmer ou infirmer les usages connus pour cette plante en médecine traditionnelle.

Références bibliographiques

- 1- **Ahmed A.A, El-Moghazy S.A, El-Shanawany M.A, Abd el-Ghani H.F, Karchesy J, Sturtz G, Dalley K, Pare´P.W. J., 2004.** Evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *Limoniastrum feei* (PLUMBAGINACEA). Nat. Prod. 67:1705–1710.
- 2- **Ali-Delille L., 2013.** Les plantes médicinales d'Algérie. Ed- Berti, Algérie, 102 p.
- 3- **Al-Yahya M.A, Mossa J.S, Ageel A.M, Rafatullah S., 1994.** Pharmacological and safety evaluation studies on *Lepidium sativum* L., Seeds. Phytomedicine. 1: 155-159.
- 4- **Baba Aissa F., 2011.** Encyclopédie des plantes utiles, flore méditerranéenne 'Maghreb, Europe méridionale' substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed- Elmaarifa, Algérie, pp : 124, 125.
- 5- **Balentine C.W, Crandall P.G, O'Bryan C.A, Duong D, Pohlman F.W., 2006.** The pre and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. Meat Science. 73: 413-421.
- 6- **Berehe S.G et Boru A.D., 2014.** Phytochemical screening and antimicrobial activities of crude extract of *Lepidium sativum* seeds grown in ethiopia. International journal of pharmaceutical sciences and research. 5(10): 4182-4187.
- 7- **Behrens B. & Kärber U.G., 1949.** Toxicity on mice. Arch. Exper. Path. U. Pharmakol, pp177, (379 p).
- 8- **Bekro A, Janata, Bekro M, Boua B.B, Trabi F.H and Ehile E., 2007.** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (baill) hernend et Zarucchi (caesalpinia). Science et nature. 4:217-225.
- 9- **Boullard B., 2001.** Plantes médicinales du monde ; croyances et réalités. Ed Estem. 309 p.
- 10- **Bouchouka E., 2016.** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat. Phytochimie, Université Badji Mokhtar, Annaba. pp:60, 80, 81.
- 11- **Boussahel S., 2011.** Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. Thèse de doctorat. Biochimie, Université Ferhat Abbas, Sétif., pp:39.
- 12- **Brantner A, Males Z, Pepeljnjak S, Antolic A., 1996.** Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* Mill (Christ's thorn). J. Ethnopharmacol. 52(2):119-122.

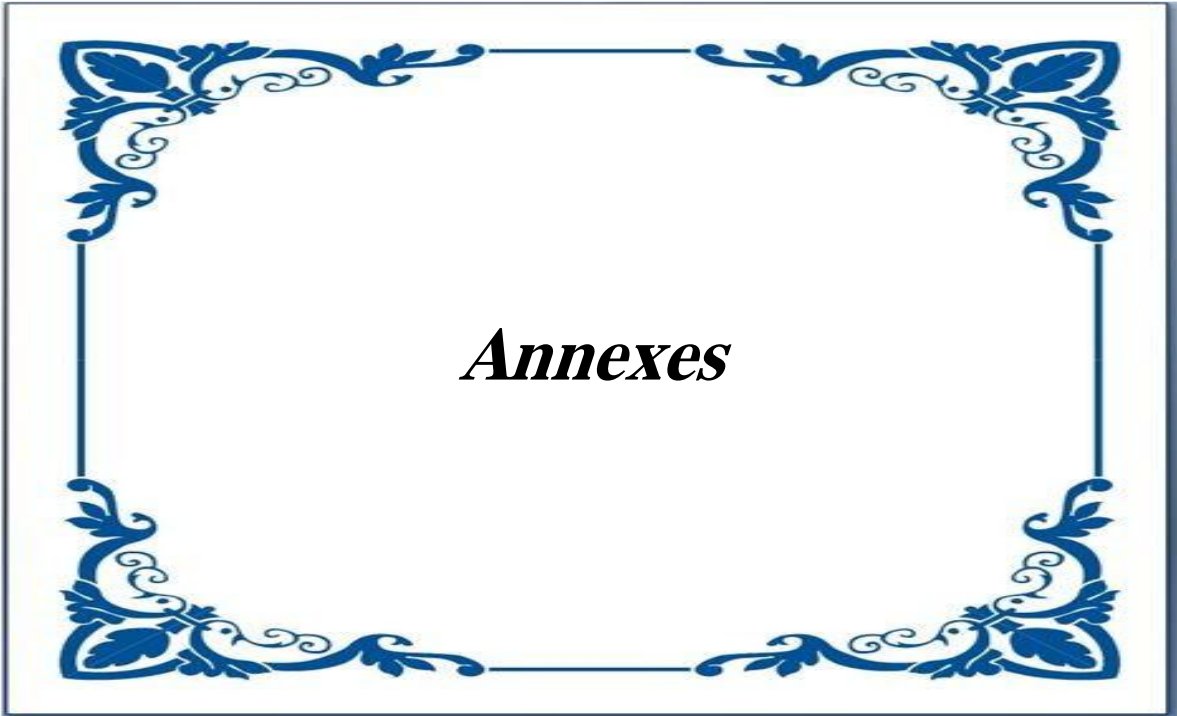
- 13- **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} Ed. Tec & Doc, Paris, 327p.
- 11- **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Ed. Tec & Doc, Paris, 575p.
- 12- **Burkill H.M., 1985.** The useful plant of west tropical Africa. 2^{ème} Ed. Families A-D. Royal Botanic Gardens, Kew, United Kingdom. 960 pp.
- 13- **Ciulei I., 1982.** Methodology for Analysis of Vegetable Drugs. Practical Manual on the Industrial Utilisation of Medicinal and Aromatic Plants. Bucharest, Romania. pp: 62.
- 14- **Cray T, Callow J.A, Fkennedy J., 1998.** Composition of Root Mucilage Polysaccharides from *Lepidium sativum*. Journal of Experimental Botany. 39: 1249–1261.
- 15- **Datta P.K, Diwakar B.K, Viswanatha S, Murthy K.N, Naidu., 2011.** Des études d'évaluation de sécurité KA Garden cress (*Lepidium sativum L.*) des graines chez le rat Wistar. Int. App J.Res. Nat. Prod, 4:37- 43.
- 16- **Dowson A et Aten M., 1963.** Composition et maturation, récolte et conditionnement des dattes. Collection F.A.O. Rome. p67.
- 17- **Diallo A., 2005.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako. Mali. p99.
- 18- **Diarra M.N., 2003.** Etude phytochimique d'une plante antipaludique : *Spilanthes oleracea*. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako. Mali. pp : 78.
- 19- **Dorman H.J.D, Kosar M, Kahlos K, Holm Y, Hiltunen R., 2003.** Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. J. Agric. Food Chem. 51: 4563- 4569.
- 20- **Eberhard T, Robert A, Annelise L., 2005.** Plantes aromatiques (épices, aromates, condiments et huiles essentiels. Edition Lavoisier, Paris, pp : 204, 205, 206.
- 21- **Facciola S, Cornucopia A., 1990.** Source Book des plantes comestibles; Kampong Publications: Vista, CA, USA, pp : 210.
- 22- **Fournier P.V., 2010.** Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France. Edition Omnibus, France, pp : 731 – 732.
- 23- **Girre L., 1980.** Connaître et reconnaître les plantes médicinales. Edition Ouest. France. 332p.
- 24- **Gulluce M, Aslan A, Sokmen M, Sahin F, Adiguzel A, Agar, Sokmen A., 2006.** Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. Phytomedicine. 13: 515–521.

- 25- **Guignard J.L., 2000.** Biochimie végétale. Edition DUNOD. Paris. 274 p.
- 26- **Grunwald L.J. et Janiche C., 2007.** La santé par les plantes. Ed- Marabout, USA. 144 p.
- 27- **Gzegorzyc I, Matkowski A, Wysokinska H., 2007.** Antioxidant activity of extracts from in vitro cultures of *Sativia officinalis* L. Food chemistry. 104:536-541.
- 28- **Haddouchi F, Lazouni H.A, Meziane A, Benmansour A., 2009.** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. Afrique SCIENCE. 05(2): 246 – 259.
- 29- **Hamidi A., 2011.** Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum gyonianum*. Thèse de master. Chimie. Université de Biskra, pp : 75.
- 30- **Harborne N, Griffiths L, Busby S.J, Cole J.A., 1992.** Transcriptional control, translation and function of the products of the five open reading frames of the Escherichia coli nir operon. Mol. Microbiol. 6:2805-2813.
- 31- **Hussain I, Khattak M.R, Ullah R, Muhammad Z, Khan N, Ali Khan F, Ullah Z et Haider S., 2011.** Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants. Pakistan African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 5(6), p 746-750.
- 32- **Indumathy A et Aruna A., 2013.** Effet anti-inflammatoire et cicatrisant des extraits aqueux et éthanolique des écorces du tronc de *Buchholzia coriacea*. (Capparidaceae) International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 5(3): 634-637.
- 33- **Iserin P., 1997.** Encyclopédies des plantes médicinales : Identification, préparation, soins, Larousse-Bordas, pp 1-130.
- 34- **Ivan A.R., 1928.** Medicinal Plants of the World: Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses. Humana Press Inc, New Jersey. 623p.
- 35- **Jansen P., 1981-1982.** Ressources végétales de l'Afrique tropicale. PROTA Network Office Europe, Wageningen University, AH Wageningen, Netherlands.
- 36- **Jungkind D.L., 1995.** Antimicrobial resistance : a crisis in health care ; [based on the proceedings of the Eastern Pennsylvania Branch of the American Society of Microbiology Symposium on Antimicrobial Resistance: a Crisis in Health Care- Clinical Laboratory and Epidemiologic Considerations. Ed. Plenum Press, New York, 248p.
- 37- **Karazhiyan H, Razavi S.M.A, Phillips G.O, Fang Y, Al-Assaf S et Nishinari K., 2011.** Physicochemical aspects of hydrocolloid extract from the seeds of *Lepidium sativum* .International journal of food science and technology. 46: 1066–1072
- 38- **Kebiéche M, Lakroum Z, Maraihi et Soulimani R., 2011.** Eeffet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercetine sur un modèle expérimentale de diabète alloxanique phytothérapie .9 : 272-282.

- 39- **Lahout R et Laib M., 2015.** Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale *Artimisia herba herba*. Thèse de master. Biochimie moléculaire et santé. Université de Constantine. pp42.
- 40- **Lee K.W, Kim Y.J, Lee H.J and Lee C.Y., 2003.** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7292-7295
- 41- **Legrand G., 1994.** Manuel du Préparateur en pharmacie l'usage des élèves préparateurs et étudiants stagiaires en pharmacie, Edition Masson, pp 1-20.
- 42- **Levy L., 1969.** Carrageenan paw oedema in the mouse. *Life Sciences.* 8: 601–606.
- 43- **Messkgue M., 1975.** Mon herbier de santé, Edition Robert Laffont S.A., Paris, pp 1-50.
- 44- **Mohammedi Z., 2006.** Etude du pouvoir anti-microbien et anti-oxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister en biologie. Université Abou Bakr Belkaïd. Tlemcen. pp : 105.
- 45- **Moghe S, Laud D, Bawankar M, Moghe R, Joshi S, Ade G, Bansod I, Hadke A., 2016.** Micropropagation of *Lepidium Sativum*, *Int. J. of Life Sciences*, 6: 141-144.
- 46- **Müller K, Tintelnot S, Leubner-Metzger G., 2006.** Endosperm-limited Brassicaceae seed germination : Abscisic acid inhibits embryo-induced endosperm weakening of *Lepidium sativum* (cress) and endosperm rupture of cress and *Arabidopsis thaliana*, *Plant and cell physiology* 47, 864-877.
- 47- **Ndiaye M, Dieye A.M, Mariko F, Tall A, Sall diallo A, Faye B., 2002.** Contribution à l'étude de l'activité anti-inflammatoire de *Moringa oleifera* (Moringaceae). *Dakméd.* 47: 26-30.
- 48- **O'Hare S, Atterwill C.K., 1995.** Methods in molecular biology: In vitro toxicity testing protocols. Humana press INC, Totowa - New Jersey, 326p.
- 49- **OMS., 2003.** Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. 2ème Ed. Genève. pp: 17.
- 50- **Ozkan G, Sagdic O, Baydar N.G, Baydar H., 2003.** Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentration. *Food Science and Technology International*, 9(2): p85-88.
- 51- **Pharmacopée européenne., 2002.** 4ème Edition. Conseil de l'Europe. Strasbourg. 2060 p.
- 52- **Pharmacopée européenne., 2005.** Tome I. Conseil de l'Europe. Strasbourg. 3343 p.
- 53- **Pharmacopée URSS., 1991.** Tome II. 11^{ème} édition. Moscou. 250p

- 54- **Ponce A.G, Fritz R, Delvalle C.E, Roura S.I., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on native microbial population of organic Swiss chard. *LWT*. 36: 679-684.
- 55- **Ponge A.O, Mwelo J.N, Mbenza A.P, Tshilumbu P.K, Ngombe N.K, Kalenda N.T, Duki A.M., 2005.** Contribution à l'analyse chimique préliminaire et à la détermination de la valeur nutritionnelle de certaines plantes médicinales. *Annales de Pharmacie*. 3(1):153-158.
- 56- **Popovici C, Saykova I, Tylkowski B., 2009.** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel* 4 : 25-39.
- 57- **Pragya N, Pandey K.K et Sahoo P.K., 2012.** A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 24 :159-171.
- 58- **Rahimi R, Nikfar S, Rahimi F., 2008.** A meta-analysis on the efficacy of probiotics for maintenance of remission and prevention of clinical and endoscopic relapse in Crohn's disease. *Revue Médicale suisse*. 53(9):2524-2531.
- 59- **Rizwan M, Shafaqat A, Muhamma I, Mujahid F, Muhammad A, Saima A.B, Muhammad Z.A, Muhammad F.Q, Farhat A., 2015.** Mechanisms of silicon-mediated alleviation of drought and salt stress in plants: a review. *National library of health*. 22 :15416-15431.
- 60- **Sanogo R, Diallo D, Diarra, Ekoumon C, Bougoudougou F., 2006.** Activité antibactérienne et antalgique des deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Mali Medical* 1: 18-24.
- 61- **Sanchez-Moreno C., 2002.** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8 (3), 121-137.
- 62- **Sanchez-Moreno C, Larrauri J.A, Saura-catixto F., 1998.** A procedure of measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal Science Technology International*. 8: 121-137.
- 63- **Sat I.G, Yildirim E, Turan M, Demirbas M., 2013.** Antioxidant and nutritional characteristics of garden cress (*Lepidium sativum*), pp: 175,176.
- 64- **Schauenberg P et Paris F., 2005.** Guide des plantes médicinales (analyse, description et utilisation de 400 plantes) Ed- Delachaux et Niestlé, Paris. 395p.
- 65- **Schippers R. R., 2000.** African indigenous vegetables an overview of the cultivated species. Natural Resources Institute/ACP-EU Technical Center for Agricultural and Rural Cooperation, Chatham, United Kingdom. 214 p.

- 66- **Scimeca D, Tétau M., 2005.** Votre santé par les plantes : le guide familial pour prévenir et guérir tous les maux quotidiens. Ed- Alpen, France. pp:137.
- 67- **Stalikas C.D., 2005.** Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. J. Sep. Sci, 30: 3268-3295.
- 68- **Stelljes M.E., 2008.** Toxicology for Nontoxicologists. Government Institutes: an imprint of The Scarecrow Press, Inc, United States of America. 207 p.
- 69- **Straney D, Khan R, Tan R, Bagga S., 2002.** Host recognition by pathogenic fungi through plant flavonoids in cell function. New York, pp 9, 22.
- 70- **Tawaha K, Alali F, Gharibeh M, Mohammed M., 2007.** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food chemistry. 104(4) :1372-1378.
- 71- **Togola A., 2002.** Etude de la phytochimie et de l'activité antipaludique de *Alchornea cordifolia* Schmach.. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako. Mali. pp : 100.
- 72- **Tyihák E, Moricz A.M et Ott P.G., 2007.** Biodetection and Determination of Biological Activity of Natural Compounds in Thin Layer Chromatography Phytochemistry. 271:310-319.
- 73- **Wang M.Li.J, Ranharajan M, Shao Y, Lavoie E.J, Huang T.C, Ho C.T., 1998.** Antioxidant phenolic compound From Sage (*Salvia officinalis*). J Agricultural and food chemistry.46: 4869-4873.
- 74- **Wichtl M et Anton R., 2003.** Plantes thérapeutiques (Tradition, pratique, officinale, science et thérapeutique). 2eme Edition, Paris, pp : 692.
- 75- **Yadav Y.C, Srivastava D.N, Saini V, Seth A.K, Ghelani T.K, Malik A, Kumar S., 2011.** International Journal of Pharmaceutical Sciences. 21: 244 -253.
- 76- **Zeghad N., 2009.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de magister. Biotechnologie végétale. Costantine. pp : 8.



Annexe 1 : Matériel non biologique

<i>Verreries et autres</i>	<i>Appareillage</i>	<i>Réactifs et solutions</i>
<ul style="list-style-type: none"> - Bêchers - Boîtes de pétri - Cages makrolon avec grilles en inox - Creusets en porcelaine - Disques absorbants stériles de 9 mm - Écouvillons - Entonnoirs - Erlenmeyers - Flacons - Fioles jaugée - Hanse de platine - Loupe - Papiers filtres (papiers Whatman N ° 1) - Pied à coulisse - Piluliers - Pince de laboratoire - Pipettes graduées - Pissette - Seringue de 1 ml et 2.5ml - Sonde œsophagienne - Spatule - Tubes à essais stériles - Verre de montre 	<ul style="list-style-type: none"> - Agitateur magnétique - Bain marie - Balance de précision - Balance analytique - Bec bunsen - Dessiccateur - Etuve - Etuve bactériologique - Four à moufle - Hotte à flux laminaire vertical - PH-mètre - Plaque chauffante - Réfrigérateur - Spectrophotomètre - Vortex 	<ul style="list-style-type: none"> - Acide chlorhydrique HCl (10%) - Acide sulfurique H₂SO₄ - Ammoniaque NH₄OH - Carragénine (1%) - Trichlorure de fer FeCl₃ (5%) - Trichlorure de fer FeCl₃ (1%) - Copaux de magnésium - Diclofénac[®] - DPPH (2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) - Eau physiologique - Ethanol chlorhydrique - Ether diéthylique - Fragment d'acétate de sodium pulvérisé - Hydroxyde de potassium KOH (10%) - Milieu Mueller-Hinton (MH) - Milieu Sabouraud (SAB) - Tween 80

Annexe 2 : Les résultats de screening phytochimique



Figure 1 : Recherche des Anthocyanes



Figure 2 : Recherche des Coumarines



Figure 3 : Recherche des Flavonoïdes



Figure 4 : Recherche des Glycosides



Figure 5: Recherche des Mucilages

Annexes 3 : Etude de la toxicité aigue



Figure 1 : Les lots traités



Figure 2 : Gavage de l'extrait 1 aux souris à l'aide d'une sonde œsophagienne



Figure 3 : Gavage de l'extrait 2 aux souris à l'aide d'une sonde œsophagienne

Annexes 4 : Activité anti-oxydante



Figure 1: Les dilutions de l'extrait 1



Figure 2: Les dilutions de l'extrait 2



Figure 3 : La solution de DPPH

Annexe 5 : Activité anti-microbienne



Figure 1 : Préparation des milieux de culture



Figure 2 : Les souches microbiennes utilisées



Figure 3 : L'ensemencement sur la surface de gélose

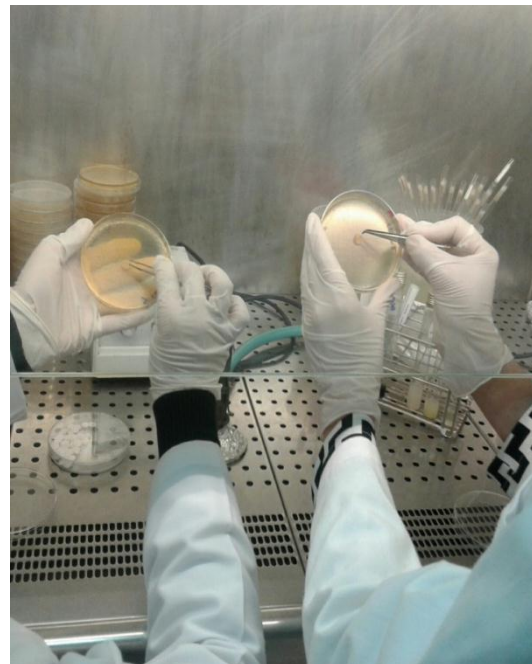


Figure 4 : Dépôt des disques imbibés par les extraits à tester

Annexes 6 : Activité anti-inflammatoire



Figure 1 : Les lots traités

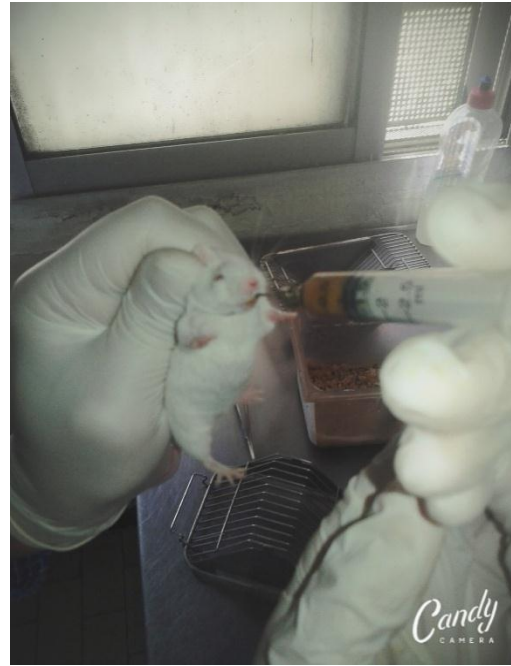


Figure 2 : Administration de l'extrait 1



Figure 3 : Administration de l'extrait 2



Figure 4 : Administration de Diclofénac® après 30 min



Figure 5 : Injection de la carragénine



Figure 6 : Sacrifice des souris par l'éther

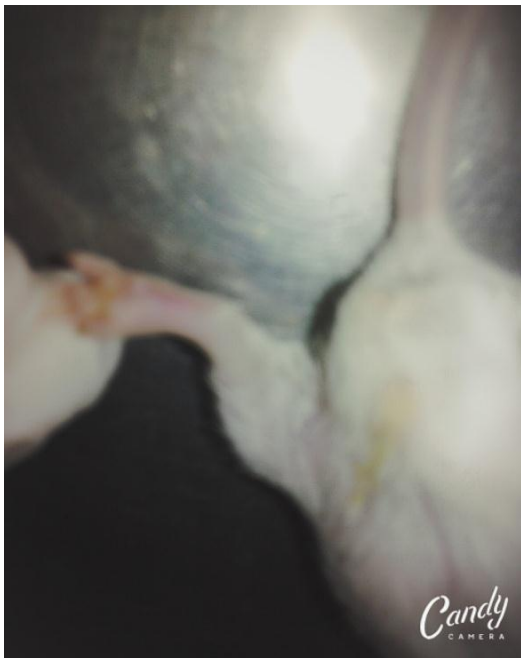


Figure 7 : Apparition de l'œdème



Figure 8 : Découpage des pattes



**Figure 9 : Pattes coupées
(droites et gauches)**



Figure 10 : Pesage des pattes

Tableau.11 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire.

Lots Souris	Témoin		Extrait 1		Extrait 2		Référence	
	PPG	PPD	PPG	PPD	PPG	PPD	PPG	PPD
1	0.161	0.102	0.139	0.125	0.247	0.147	0.219	0.193
2	0.265	0.157	0.184	0.154	0.183	0.132	0.198	0.158
3	0.195	0.164	0.122	0.129	0.180	0.148	0.235	0.139
Moyennes	0.207	0.141	0.148	0.136	0.203	0.142	0.218	0.163



Figure 1 : Dessiccateur



Figure 2 : Balance de précision



Figure 3 : Spectrophotomètre



**Figure 4 : Pied à coulisse
UV-Visible**



Figure 5 : Evaporateur rotative



Figure 6 : Etuve bactériologique



Figure 7 : Hotte à flux laminaire vertical

Annexes



Figure.5. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *B. subtilis* par le Sulfaméthoxazole + Triméthoprim

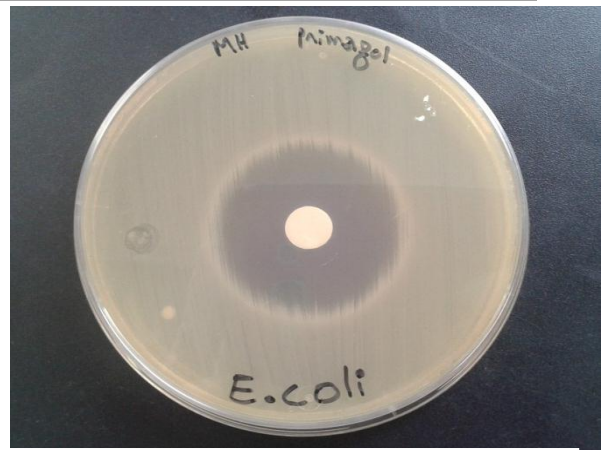


Figure.6. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *E. coli* par par le Sulfaméthoxazole + Triméthoprim

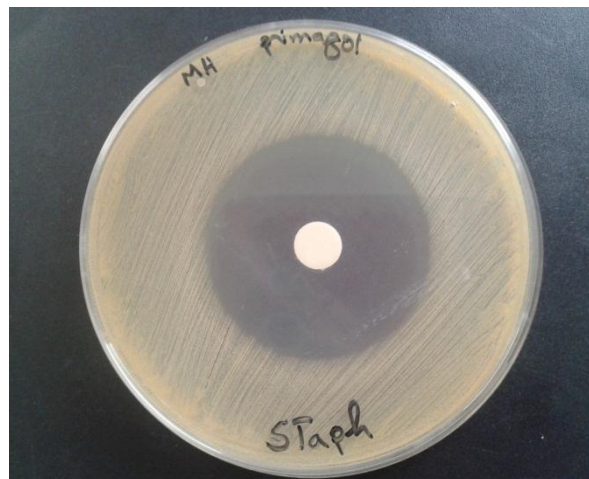


Figure.7. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *S. aureus* par par le Sulfaméthoxazole + Triméthoprim

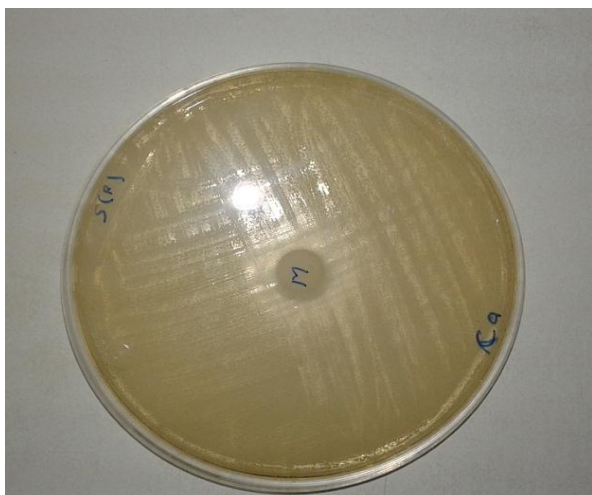
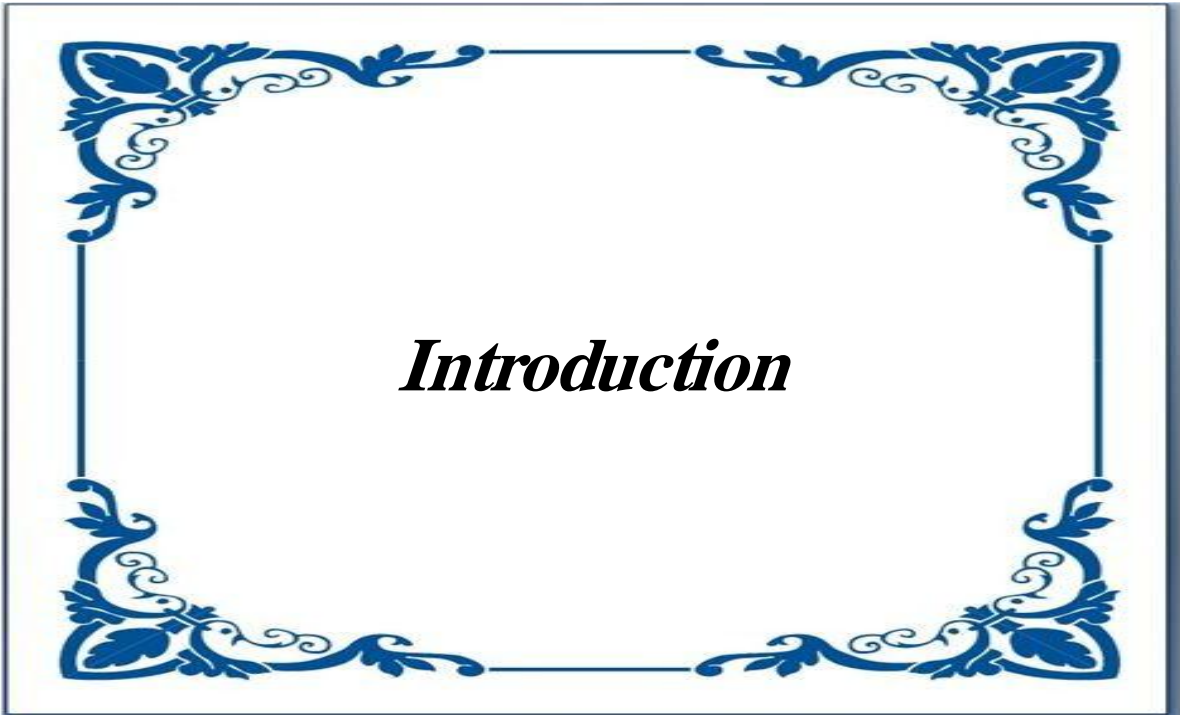


Figure.8. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *C. albicans* par le Terbinafine chlorhydrate



Figure.9. Zone d'inhibition de la croissance de la souche *A. niger* par le Terbinafine chlorhydrate



Introduction

A decorative blue floral border with intricate scrollwork and leaf patterns, framing the central text.

Chapitre I

Partie bibliographique



Chapitre II

Matériel et méthodes

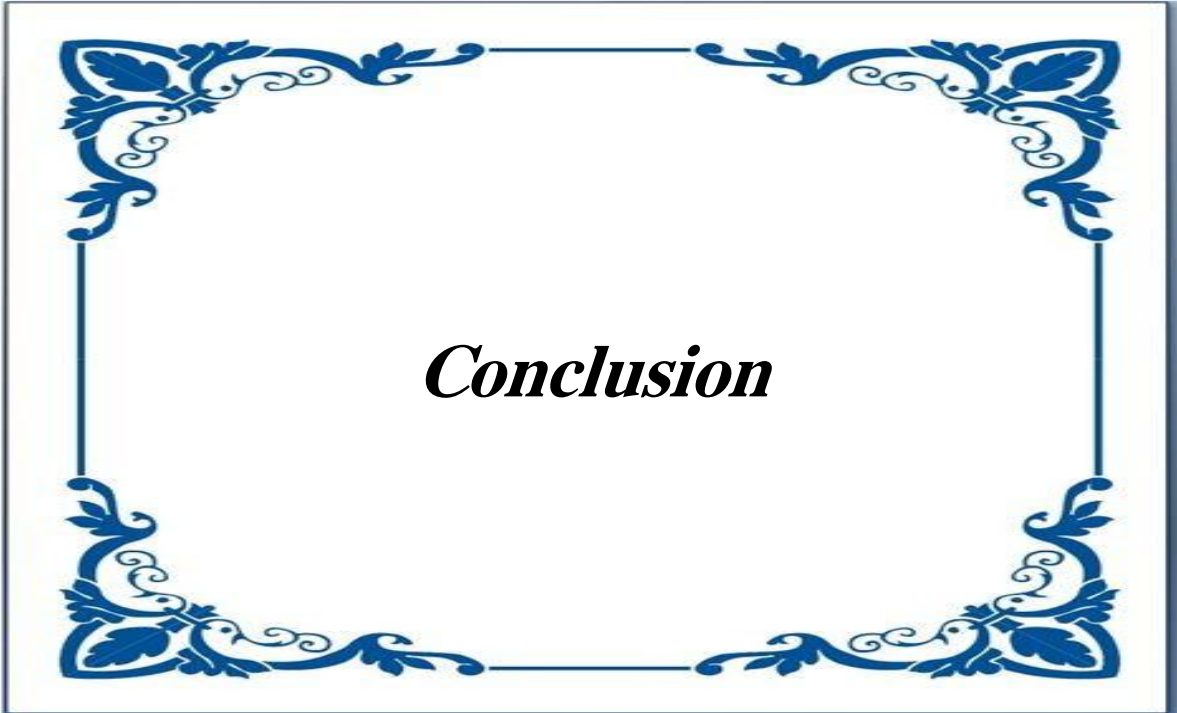


Références
Bibliographiques



Chapitre III

Résultats et discussion



Conclusion