



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique

Université de Saida – Dr. Moulay Tahar

Faculté des sciences

Département de Biologie

Laboratoire De Bio-toxicologie, Pharmacognosie Et Valorisation

Biologie Des Plantes

N° d'Ordre

## Mémoire

Présenté par :

Mr. LAKEHAL Mohamed

M<sup>lle</sup>. SADEK Rekia

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie

## Intitulé

Contribution à l'étude de quelques activités biologiques  
*in vitro* de *Mentha spicata* et *Populus alba*

Devant le jury composé de :

soutenu le :

	Nom & prénom	Grade	Etablissement
<b>Président</b>	SITAYEB tayeb	Prof	Université Dr. Moulay Tahar – Saida
<b>Examineur</b>	BENREGUIEG Mokhtar	MCA	Université Dr. Moulay Tahar – Saida
<b>Encadreur</b>	ADLI Djallal Eddine	MCA	Université Dr. Moulay Tahar – Saida
<b>Co-encadreur</b>	BRAHMI Mostapha	MAB	Université Ahmed Zabana – Relizane

Année universitaire : 2021/2022

# Remerciements

*Tout d'abord, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail.*

*Toute mon estime et ma respectueuse gratitude vont à nos encadreur Dr. Adli Djallal Eddine et co-encadreur Dr. Brahmi Mostapha , qui nous dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa conseils et la confiance qu'elle nous a accordée, nous a permis de réaliser ce travail.*

*Nous remercions aussi :*

*Pr. Sitayeb tayebe qui m'a fait l'honneur de présider le jury .*

*et Dr. Benreguiég Mokhtar qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Toute ma gratitude à tous les enseignants de Biologie, surtout ceux qui ont contribué à ma formation.*

*Nos plus sincères remerciements à l'ingénieur de labo Mr Ahmed pour leur aide, faciliter nos travaux et pour sa gentillesse au quotidien et son soutien .*

*Un grand merci pour toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*J'exprime également toute mon amitié et ma reconnaissance aux nombreuses personnes rencontrées au cours de mes études, qui m'ont motivé, soutenu, corrigé.*

# *Dédicaces*

*A mes parents*

*A mes frères et sœurs*

*A ma famille*

*A tous mes ami(es)*

*Mohamed* 

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes chers parents en témoignage de ma profonde affection et mon éternelle reconnaissance pour leur soutien inconditionnel.*



***Rekia***

## Résumé :

Ce travail porte sur l'étude des constituants phytochimiques phénolique et les activités biologiques *in-vitro* des extraits de ces deux plantes *Mentha spicata* et *Populus alba* . appartenant à la famille des *lamiacées* et *Salicacées* respectivement.

La composition chimique des extraits de la partie aérienne de la plante *M.spicata* et les feuilles de *P.alba* a été analysée via une HPLC . L'activité antioxydante a été évaluée par des méthodes basées sur le transfert d'atome d'hydrogène et le transfert d'électron singulier. L'activité antimicrobienne des extraits a été testée vis-à-vis de différentes souches en utilisant la méthode de diffusion en puits et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI). En outre, le test de la cytotoxicité a été réalisé par le suivi de la fuite d'hémoglobine.

L'analyse chromatographique a mis en évidence la présence des acides phénoliques, des flavonoïdes (les flavonols, les isoflavones et les flavones) ainsi que le menthol 41,6 % et le thymol 40,2% comme composés majoritaires à partir de l'extrait éthanolique de *M.spicata* et génistéine 8,9% & catéchine 56% de l'espèce *P.alba*.

Le potentiel antioxydant des extraits éthanoliques des deux plantes s'est révélé intéressant avec des CI50 DPPH= 14,858 µg/ml ±0,51 et 1,382 mg/ml ±0,3 respectivement .Les extraits éthanoliques des deux plantes ont montré un pouvoir antibactérien important avec une CMI de l'ordre de 3,125 mg/mL. En plus, l'extrait éthanolique de *P.alba* a manifesté une puissante activité inhibitrice vis-à-vis des moisissures avec 1,25 µg/mL. Enfin le test d'hémolyse de même extrait ne présentent aucun effet toxique vis-à-vis des globules rouges humains à des concentrations inférieures à 2,5 mg/mL.

**Mots clés:** *Mentha spicata*, *Populus alba* L, HPLC, DPPH, FRAP, activité antibactérienne, activité antifongique, activité anti-hémolytique.

**Abstract:**

This work is based on the study of phytoconstituents and biological activities *in-vitro* of two plants *Mentha spicata* and *Populus alba*. which belonging to the *Lamiaceae* and *Salicaceae* family respectively.

The chemical compositions of aerial part of *M. spicata* and *P. alba* leaves extracts were analyzed by the HPLC. The antioxidant activities were evaluated using hydrogen atoms and single electron transfer. The antimicrobial activity of the extracts was realized against different strains using the Minimal Inhibitory Concentration (MIC). The hemolysis test was performed by following the hemoglobin leakage.

The chemical analysis revealed the presence of phenolic acids, Trans-cinnamic acid, flavonoids, illustrated by the presence of Quercétin and Menthols 41,6% & Thymol 40,2% (major compounds) from ethanolic extract of *M.spicata* plant and genestein 8,9% & catechin 56% from *P.alba* plant. The antioxidant assays of the ethanolic extracts of the two plants proved to be interesting with IC<sub>50</sub> DPPH= 14.858 µg/ml ±0.51 and 1.382 mg/ml ±0.3 respectively. The ethanolic extracts of both plants showed significant antibacterial power with an MIC of the order of 3.125 mg/mL against the most tested bacteria. Moreover, the ethanolic extract of *P. alba* showed a potent inhibitory activity against molds with 1,25 µg/mL. When, the hemolysis tests of the same extract showed that the extracts didn't have a toxic effect against human blood cells at concentrations less than 2.5 mg/mL.

**Keywords:** *Mentha spicata*, *Populus alba* L, HPLC, antioxidant activity, antimicrobial activity, anti-hemolytic activity.

## ملخص:

يركز هذا العمل على دراسة المكونات الكيمونباتية و الأنشطة البيولوجية للمستخلصات المستخرجة من نبتتين طبيبتين *النعناع الأخضر* و *الهور الأبيض* اللتان تنتميان إلى العائلة الشفوية و الصصافية على التوالي ، المعروفتان بامتلاكهما لخصائص علاجية متعددة.

التركيبية الكيميائية لمستخلصات الجزء العلوي لنبته *النعناع الأخضر* و أوراق شجرة *الهور الأبيض* تمت معاينتهما باستعمال الفصل الكروماتوغرافي عالي الإستبانة .لدراسة النشاط المضاد للأكسدة استخدمت طرق الأكسدة الإرجاعية بانتقال ذرة الهيدروجين أو/و الإلكترولون المفرد .كما تطرقنا لتقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات ضد سلالات مختلفة باستخدام طريقة الإنتشار وتحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط . وتم اختبار انحلال الكريات الدموية الحمراء بقياس نسبة تسرب الهيموغلوبين .

معاينة الكروماتوغرافيا السائلة العالية الكفاءة (HPLC) أثبتت عن وجود أحماض الفينول، حمض الترنسيناميك و الفلافونويدات من فئة الكيرسيتين إضافة الى الثيمول 40,2% و المونثول 41,6% كمركب أساسي في المستخلص الإيثانولي لنبته *النعناع الأخضر* و الجينستين 8,9% و الكاتيشين 56% من أوراق *الصفصاف الأبيض* فيما يخص قدرة المستخلصات الإيثانولية كمضادات الأكسدة أبدت نشاطية في تثبيط الجذر الحر DPPH حيث قدرت كمية IC50 لنبات *النعناع* بمقدار 14,858مكغ/مل ±0,51 و 1,382مغ/مل ±0,3 لأوراق *الصفصاف* . وأوضحت الدراسة أن المستخلص الإيثانولي للنبتين أثبت نجاعته اتجاه البكتيريا بتركيز أدنى مثبط يساوي 3,125 مغ/مل . علاوة على ذلك أظهر مستخلص أوراق *الصفصاف* نشاطا مثبطا قويا على بعض أنواع الفطريات بتركيز مثبط يساوي 1,25 مكغ/مل. أما بالنسبة لإختبار انحلال الدم عن طريق قياس نسبة تسرب الهيموغلوبين تبين أن المستخلص المدروس لا يهلك أي تأثير سام ملحوظ على الكريات الدموية الحمراء في التراكيز الأقل من 2.5 مغ/مل.

**الكلمات المفتاحية :** *النعناع الأخضر*، *الهور الأبيض* ، الفصل الكروماتوغرافي عالي الإستبانة، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات ، انحلال الكريات الدموية الحمراء.

## Sommaire

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	2

### *Revue bibliographique*

#### **I. Généralités sur les plantes médicinales**

1. La phytothérapie .....	5
2. Plante médicinale .....	6
3. Mode d'obtention et récolte .....	6
4. Le séchage .....	6
5. la conservation .....	7
6. Les extraits .....	7
7. Les techniques d'extraction .....	7
7.1. L'enfleurage .....	7
7.2. La décoction .....	7
7.3. L'infusion .....	7
7.4. La macération .....	7
7.5. . L'extraction par solvant .....	8
7.5.1. Extraction liquide-liquide .....	8
7.5.2. Extraction solide-liquide (soxhlet) .....	8
7.6. L'entraînement à la vapeur ou l'hydrodistillation .....	10
8. Définition des principes actifs.....	10
9. Les principaux constituants actifs dans la plante .....	11
9.1. Polyphénols.....	11
9.1.1. Acides phénoliques.....	11
9.1.2. Flavonoïdes.....	12
9.1.3. Tanins.....	13
9.1.4. Lignines.....	14
9.2. Alcaloïdes.....	14
9.3. Terpènes et stéroïdes.....	14

9.3.1. Saponosides.....	15
9.3.2. Huiles essentielles.....	15
9.4. Les polysaccharides .....	16
10. Toxicité .....	16

## **II. *Mentha spicata***

1. Définition.....	18
2. Description.....	18
3. Systématique.....	18
4. Composition chimique de <i>M. spicata</i> .....	19
5. Utilisations.....	19
6. Vertus médicinales et activités biologiques .....	20
6.1. Activités antioxydantes .....	20
6.2. Activités antibactériennes et antifongiques .....	20
6.3. Activités antivirales .....	21
6.4. Activités anti-inflammatoires .....	21
6.5. Activités cytotoxiques et anti-cancéreuses .....	21

## **III. *Populus alba***

1. Etymologie .....	21
2. Description botanique .....	22
3. Classification .....	22
4. Composition chimique .....	23
5. Utilisation du peuplier blanc .....	23
6. Propriétés thérapeutiques et activités biologiques .....	24
6.1. Activités antioxydantes .....	24
6.2. Activités antimicrobiennes .....	24
6.3. Activités anti-cancéreuses .....	24
6.4. Activités anti-inflammatoires .....	24

## ***Étude expérimentale***

### **IV. Matériels et méthodes**

1. Matériel biologique .....	27
1.1. Matériel végétale .....	27
1.2. Matériel microbien .....	27
2. Préparation des extraites .....	27

3. Tests phytochimiques .....	29
3.1. Dosage des composés phénoliques (Analyse quantitative) .....	29
3.1.1. Dosage des phénols totaux.....	29
3.1.2. Dosage des flavonoïdes.....	30
3.1.3. Dosage des tanins.....	30
3.2. L'analyse des composés phénoliques par HPLC (Analyse qualitative).....	31
4. L'Activité antioxydante .....	32
4.1. Réduction du Fer : FRAP .....	32
4.2. Piégeage du radical libre DPPH .....	33
5. L'Activité antimicrobienne.....	34
5.1. Activité antibactérienne .....	35
5.2. Activité antifongique vis-à-vis des moisissures .....	36
6. Evaluation de la cytotoxicité des extraits vis-à-vis des globules rouges .....	37
7. Analyses statistiques .....	38
<b>V. Résultats et interprétation</b>	
1. Rendement .....	40
2. Composition chimique des extraits .....	40
2.1. Screening phytochimiques .....	40
2.1.1. Teneur des polyphénols totaux.....	41
2.1.2. Teneur des flavonoïdes.....	41
2.1.3. Teneur des Tanins.....	42
2.2. Analyse par HPLC .....	42
3. Activité antioxydante .....	45
3.1. Réduction du Fer : FRAP .....	45
3.2. Piégeage du radical libre DPPH .....	46
4. Activité antimicrobienne.....	47
4.1. Activité antibactérienne .....	47
4.2. Activité antifongique .....	48
5. Activité anti-hémolytique .....	49
<b>VI. Discussion</b> .....	50
Conclusion et perspectives	
Les références bibliographiques	
Les annexes	

*Liste des Abréviations*

**%** : Pourcentage

**Abs** : Absorbance

**ADN** : Acide ribonucléique

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium

**ATCC**: American Type Culture Collection

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute

**DMSO** : diméthylsulfoxyde

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle)

**EAG/g.MS** : Equivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche

**E EtOH** : Extrait éthanolique

**EQ/g.MS** : Equivalent de Quercetine par gramme de matière sèche

**EOA** : Espèces réactives de l'oxygène

**ERO** : Espèce Réactive de l'Oxygène

**Fe<sup>2+</sup>** : Fer ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Fer ferrique

**FRAP** : Ferric reducing antioxydant power

**FeCl<sub>3</sub>** : Trichlorure de fer

**g** : Gramme

**H<sub>2</sub>O** : Eau

**H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phosphomolybdique

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phosphotungstique

**HCl** : Acide chlorhydrique

**HE** : huile essentielles

**HPLC** : chromatographie liquide à haute performance

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Le peroxyde d'hydrogène

**IC<sub>50</sub>**: Concentration inhibitrice à 50%

**K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub>** : Ferricyanure de potassium

**MeOH** : Méthanol

**mg** : Milligramme

**M.H** : Muller hinton

**ml** : Millilitre

**mm** : Millimètre

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**nm** : nanomètre

**PDA** : Potato Dextrose Agar

**PR** : Pouvoir réducteur

**R** : Radical

**v/v** : Rapport volume par volume

**µg** : Microgramme

**µl** : Microlitre

**µm** : Micromètre

Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Les extracteurs de Soxhlet et de Kumagawa.....	08
<b>Figure 02</b> : Schéma d'un appareil de Soxhlet.....	09
<b>Figure 03</b> : Structure de base des acides benzoïque et cinnamique.....	11
<b>Figure 04</b> : Exemple d'alcaloïde, la morphine.....	13
<b>Figure 05</b> : Unité isoprénique.....	14
<b>Figure 06</b> : Structure de noyau stéroïde.....	14
<b>Figure 07</b> : parties aériennes de <i>Mentha spicata</i> L.....	18
<b>Figure 08</b> : Feuilles de <i>Populus alba</i> .....	21
<b>Figure 09</b> : le broyat (A) : <i>M.spicata</i> (B) : <i>P.alba</i> .....	26
<b>Figure 10</b> : Procédure d'extraction par Soxhlet.....	27
<b>Figure 11</b> :La concentration d'extrait récupérer par évaporateur rotatif.....	28
<b>Figure 12</b> : dosage de FRAP (A) : <i>M.spicata</i> (B) : <i>P.alba</i> .....	31
<b>Figure 13</b> : Mécanisme réactionnel du radical libre DPPH.....	31
<b>Figure 14</b> : dosage de DPPH (A) : <i>M.spicata</i> (B) : <i>P.alba</i> .....	32
<b>Figure 15</b> : Préparation de la suspension érythrocytaire.....	36
<b>Figure 16</b> : Activité scavenging du radical FRAP à différentes concentrations de l'extrait éthanolique de <i>Mentha spicata</i> et de <i>Populus alba</i> . ....	41
<b>Figure 17</b> : Activité Piégeage du radical libre DPPH à différentes concentrations de l'extrait éthanolique de <i>Mentha spicata</i> et de <i>Populus alba</i> .....	42
<b>Figure 18</b> : résultats de l'activité anti bactérienne des différents extraits.....	44
<b>Figure 19</b> : Evaluation de taux d'hémolyse (%) en fonction de concentration d'extrait éthanolique de <i>P.alba</i> .....	46

*Liste des tableaux*

<b>Tableau 01:</b> La structure de base des principaux flavonoïdes.....	12
<b>Tableau 02 :</b> Taxonomie de <i>Mentha spicata L.</i> .....	17
<b>Tableau 03:</b> Composition biochimique de <i>Mentha spicata L.</i> .....	18
<b>Tableau 04 :</b> Taxonomie de <i>Populus alba L.</i> .....	21
<b>Tableau 05:</b> Composition biochimique de <i>Populus alba.</i> .....	22
<b>Tableau 06 :</b> Dosage des composés phénoliques.....	29
<b>Tableau 07 :</b> Rendement des extraits éthanoliques de deux plantes étudiées .....	38
<b>Tableau 08 :</b> Teneur en polyphénols totaux .....	38
<b>Tableau 09 :</b> Teneur en flavonoïdes .....	39
<b>Tableau 10 :</b> Teneurs en tanins .....	39
<b>Tableau 11 :</b> résultats de l'analyse par HPLC pour l'extrait éthanolique de <i>Mentha spicata</i> ....	40
<b>Tableau 12 :</b> résultats de l'analyse par HPLC pour l'extrait éthanolique de <i>Populus alba</i> .....	41
<b>Tableau 13 :</b> Radical Scavenging activité IC50 DPPH .....	42
<b>Tableau 14 :</b> les diamètres des zones d'inhibition des différentes souches en (mm) .....	43
<b>Tableau 15 :</b> Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des souches fongiques en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique de <i>P.alba</i> .....	45

# *Introduction*

## ***Introduction***

---

Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires.

L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaires des millénaires. Les plantes médicinales et aromatiques commencent à avoir beaucoup d'intérêts comme source potentielle de molécule naturelle bioactives, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites.

L'utilisation des extraits remonte aux plus anciennes civilisations : tout d'abord dans l'Orient et le Moyen Orient et par la suite au nord de l'Afrique et en Europe (**Nogaret-Ehrhart, 2008**).

Dans l'histoire moderne, avec vertus thérapeutiques occupent une place de plus en plus importante. Aujourd'hui, elles sont très recherchées, car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes. L'évolution des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydante et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile surtout en présence de beaucoup infection microbienne et la résistance des bactéries qui s'observe de plus en plus.

L'Algérie possède un patrimoine végétal très riche avec 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, reste peu étudié et très peu explorée sur le plan pharmacologique.

La valorisation des plantes médicinales de la flore nationale sera d'un grand apport pour l'industrie pharmaceutique Algérienne et aura un impact économique certain (**Sahi et al., 2016**).

L'objectif de cette étude est d'évaluer les activités biologiques *in vitro* des extraits de *Mentha spicata* et *Populus alba*

- ❖ Le premier chapitre de ce document est consacré à une synthèse bibliographique sur
  - les plantes médicinales, ainsi qu'un aperçu général sur les plantes étudiées.
- ❖ Le deuxième chapitre est consacré à la partie expérimentale, à savoir :
  - Extraction ethanologique à partir de la partie aérienne de la plante *M.spicata* et les feuilles de *P.alba*;
  - Dosages des composés phénoliques de ces extraits (Analyse quantitative)
  - L'analyse des composés phénoliques par HPLC (Analyse qualitative)
  - Evaluation de leur activité antioxydante.
  - Études de l'activité antimicrobienne
  - Evaluation de la cytotoxicité des extraits vis-à-vis des globules rouges
- ❖ La troisième partie présente les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

*Partie 1*

*Revue bibliographique*



*Chapitre I*  
*Généralités sur les plantes*  
*médicinales*

## **I. Généralités sur les plantes médicinales**

On conseillait couramment les plantes médicinales et aromatiques pour différentes indications : massages, bains, hygiène, santé et diététique (**Lardry et Roulier, 1990**).

Au 1er siècle apr. J-C., apparut le traité intitulé « De materia medica » écrit par Dioscoride, médecin et grand voyageur, dressant l'inventaire de 519 espèces de plantes et qui servira de référence dans la société Romaine et Arabe. Les arabes ont ainsi poursuivi les recherches sur les plantes médicinales en devenant les premiers à mettre au point la distillation des plantes, permettant d'en extraire l'huile essentielle, il y a de cela plus de mille ans (**Nogaret-Ehrhart, 2008**).

Cependant, avec les progrès de la science, l'avènement de la pharmacologie de synthèse (l'aspirine, la pénicilline, etc.) et l'émergence de la médecine basée sur la preuve, l'usage des médicaments chimiques a pris son essor, et ce depuis la seconde guerre mondiale, tandis que la phytothérapie ainsi que l'aromathérapie ont perdu de leur intérêt. Récemment, depuis le début des années 2000, il y a un retour en force vers cette discipline alternative. En effet, la prise de conscience par les patients et le personnel médical d'une image de plus en plus défavorable des médicaments de synthèse suite à l'apparition des effets indésirables, d'une efficacité parfois insuffisante ou nulle et l'émergence de résistances bactériennes ont renvoyé à nouveau vers l'usage de produits naturels à base de plantes médicinales qui semblent avoir de grands avantages. Ainsi, la phytothérapie médicale, aujourd'hui, creuse son chemin, se développe et se codifie. Des études scientifiques se multiplient prouvant de plus en plus l'efficacité thérapeutique des plantes, dont l'utilisation est plus réglementée selon des critères scientifiques et une démarche clinique rigoureuse pratiquée par des professionnels de la santé spécifiquement formés (**Leila, 2015**).

### **1. Phytothérapie**

Le terme de phytothérapie provient du grec phyton ("plante") et therapeia ("traitement"). Elle se définit donc comme l'utilisation des plantes pour soigner les maladies (**Moatti., 1990**).

On entend par phytothérapie le traitement curatif ou préventif des maladies et des troubles subjectifs par l'utilisation de préparations obtenues à partir de plantes entières ou d'organes de plantes : feuilles, fleurs, racines, fruits, graines. Les plantes ainsi employées sont appelées plantes médicinales (**Tarabet et Toumi., 2017**).

## **2. Plante médicinale**

Il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses .

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Boumediou et Addoun., 2017**).

## **3. Mode d'obtention et récolte**

Des études scientifiques ont permis de définir le moment optimal de la récolte. Ainsi, sont récoltées de préférence :

- les racines au moment du repos végétatif (automne, hiver) ;
- les parties aériennes, le plus souvent au moment de la floraison ;
- les feuilles, juste avant la floraison ;
- les fleurs à leur plein épanouissement, voir en bouton (aubépine) ;
- les graines, lorsqu'elles auront perdu la majeure partie de leur humidité naturelle (**Kalla., 2012**).

## **4. Le séchage**

Le séchage, qui élimine la majeure partie de l'eau d'une plante, doit être commencé sitôt la récolte terminée et réalisé avec soin.

Ne mélange pas l'espèce et les différents parties de la plante, commencez par faire sécher la plante quelques heures au soleil, avant de la mettre à l'abri dans un locale sec et bien aéré.

Lavez et brossez avec soin les racines, puis coupez-les, encore fraîches, en morceau ou en tronçons de 1 cm environ.

Brassez les plantes une fois par jour pour les aérer.

La durée de séchage varie de quelque jour à 15 jour, mais ne dépasser pas le cap des 3 semaines afin d'éviter tout dépôt de poussière sur les plantes. Ecorces et les racines sont les plus longue à sécher ; Le bon degré de séchage est atteint lorsque les feuilles et les fleurs sont rigides, mais non cassantes ou toucher (**Debaisieux et Polese., 2009**).

## **5. la conservation**

Fragmentez en petits morceaux les plantes séchées, et mettre dans les boites hermétiques en fer blanc, des sacs en papier épais fermé dans une bande adhésive, ou par bouchon de liège..., et n'oubliez pas de marquer le nom et la date de récolte sur chaque contenant, et on le mette dans un endroit sec à l'abri de la lumière (**Debaisieux et Polese., 2009**).

## **6. Les extraits :**

Les extraits végétaux sont des préparations liquides, obtenus à partir de drogues végétales généralement à l'état sec. Un extrait végétal est un ensemble composé de molécules volatiles, odorantes, renfermées dans les organes producteurs de certains végétaux extraits de celle-ci par différentes méthodes d'extraction.

Ces substances se trouvent dans les feuilles ; les fleurs, mais également dans les grains , les racines et les écorces des plantes (**Bensaid.,2011**).

## **7. Les techniques d'extraction:**

L'extraction est utilisée pour extraire sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange initial, sur la base de propriétés chimiques ou physiques.

L'homme utilise des colorants, des parfums, des arômes, et des extraits de produits naturels depuis la haute antiquité, par différentes principaux techniques:

**7.1. L'enfleurage:** Est une forme d'extraction utilisée en parfumerie. Il repose sur le pouvoir d'absorption d'une huile essentielle par les corps gras. Par exemple, les fleurs fragiles sont posées sur des cadres enduits de graisse animale très pure et inodore qui absorbe le parfum des fleurs au contact; en fin de séchage, les graisses sont imprégnées de substances odorantes.

**7.2. La décoction:** Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min; jusqu'à ce que cette dernière soit bouillante et les constituants se dissolvent.

**7.3. L'infusion:** Elle consiste à verser de l'eau bouillante sur des plantes (les feuilles ou les fleurs) finement broyées puis les laisser tremper pour dissoudre leurs principes actifs.

**7.4. La macération:** Consiste à laisser séjourner à froid un solide dans un liquide , Ex : mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voire plusieurs jours, pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide (**Paolo., 2015**).

**7.5. L'extraction par solvant:** C'est un procédé qui permet d'extraire des composés qui ne peuvent pas l'être avec de l'eau. Dans cette méthode, les plantes sont mélangées à un solvant organique volatil (éthanol , méthanol ,hexane ,butane , benzène ou éther) dans lequel les molécules organiques étant solubles dans les solvants employés se mettent en solution, .le mélange est ensuite filtré pour récupérer les solvants chargés des composés . Ce produit organique est ensuite évaporé pour former un résidu solide très parfumé, la concrète qui est ensuite traité à l'alcool pour avoir le produit absolu (**Bensaid.,2011**).

#### 7.5.1. Extraction liquide-liquide :

En utilise cet méthode pour séparer deux liquide miscible en ajoute un solvant qui est plus affinité comme antagoniste qui est de propriété de facile éliminé pour purifier les composés de nos échantillon (**Kaloustian et al., 2013**).

L'extracteur de Soxhlet	L'extracteur de Kumagawa
	
<p>L'extracteur de Soxhlet est un appareille utilisé en chimie analytique qui permet de faire à chaud l'extraction par solvant d'un solide avec une grade efficacité , cet appareil porte le nom de son inventeur : Franz Von Soxhlet.</p>	<p>Très proche de l'extracteur de soxhlet , le Kumagawa a l'avantage de de pouvoir être utilisé à des températures bien supérieures et d'être moins encombrant grâce à la cartouche incorporée dans le porte-ballon.</p>

**Figure 01 :** Les extracteurs de Soxhlet et de Kumagawa (**Benabdallah.,2015**)

### 7.5.2. Extraction solide-liquide (soxhlet) :

La méthode d'extraction en discontinu consiste à mettre l'échantillon solide, sous une forme très finement divisée, en présence du solvant à température ambiante ou à la température d'ébullition du solvant, pendant un temps plus ou moins long, et sous agitation. Le principal inconvénient est qu'il faut, à la fin de l'essai, séparer les parties solide et liquide, soit par centrifugation, soit par filtration (Kaloustian *et al.*, 2013).

Pratiquement, on utilise parfois des appareils plus efficaces, les extracteurs de Soxhlet et de Kumagawa, qui fonctionnent en continu qui entraînent la phase solide avec le solvant utilisé (Fig. 1).

Le Soxhlet est constitué d'un (Fig. 2):

- Ballon contenant une réserve de solvant.
- Extracteur proprement dit permettant le contact entre le solvant et le solide dans une cartouche poreuse.
- Siphon qui permet l'évacuation de la solution vers le ballon.
- Réfrigérant à eau qui permet la condensation des vapeurs de solvant dans la cartouche.

Le solide est toujours en contact avec le solvant pur grâce au remplissage régulier de la cartouche, ce qui présente les meilleures capacités de solubilisation des composés à extraire.

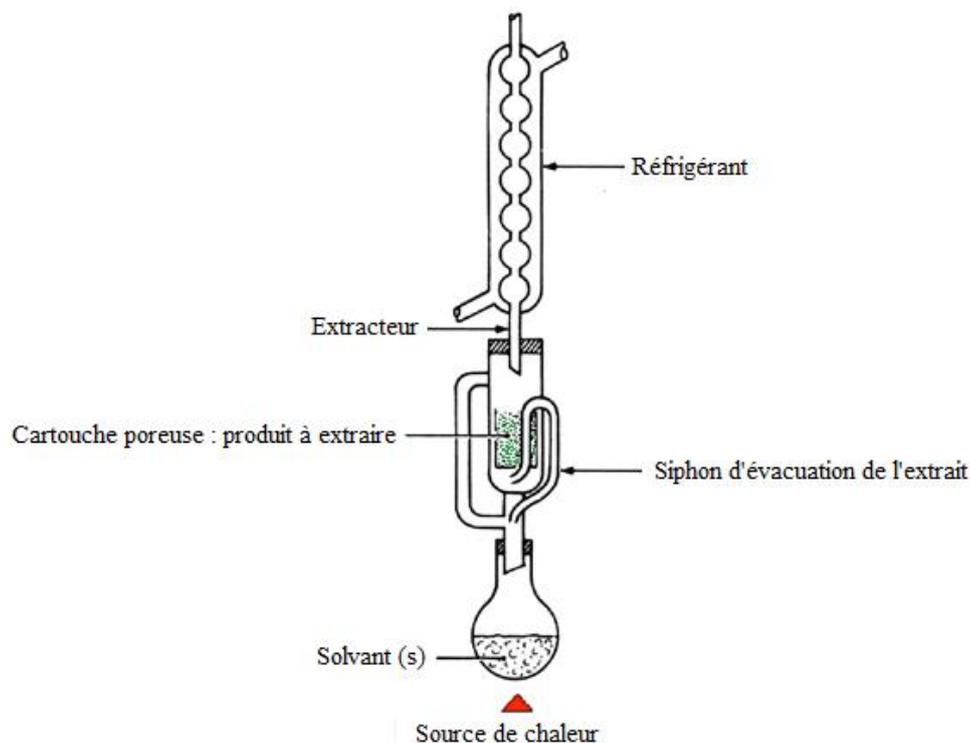


Figure 02 : Schéma d'un appareil de Soxhlet (Benabdallah.,2015)

**7.6. L'entraînement à la vapeur ou l'hydrodistillation:** Cette technique date de l'Égypte ancienne. Elle consiste à extraire les parfums des plantes (huiles parfumées ou huiles essentielles) par la vapeur d'eau. **(Bourguet et al., 2008).**

### **8. Définition des principes actifs :**

Le principe actif c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments **(Pelt, 1980).**

Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines **(Benghanou, 2012).**

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

**(Sarnimanchado et Cheynier, 2006).**

Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes.

### **9. Les principales classes de principes actifs d'origine naturelles :**

On distingue classiquement plusieurs catégories de principes actifs. Les principes actifs se classent en de nombreux groupes, dont trois grands groupes chez les plantes :

-Le type polyphénols : tels que les flavonoïdes, les tanins etc.

-Le type azoté : tel que les alcaloïdes.

-Le type terpène et stéroïdes : tels que les saponosides, les huiles essentielles etc. **(Benhelima .,2021)**

#### **9.1. Polyphénols**

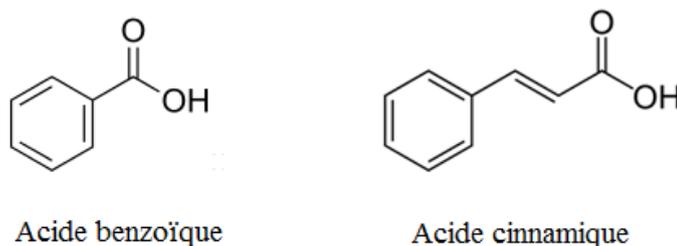
Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés photochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils subdivisent en sous classes principales : les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines et les tanins **(Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).**

Comme ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes, elles ont un rôle principale à la vie de plante, à la défense contre les pathogènes; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et à la protection contre les rayonnements UV; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

### 9.1.1. Acides phénoliques

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (**Wichl et Anton, 2009**).

Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (**Iserin et al., 2001**).



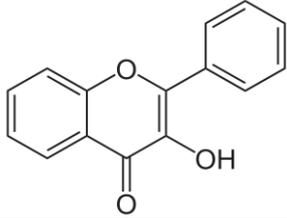
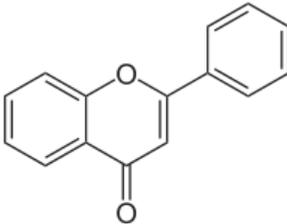
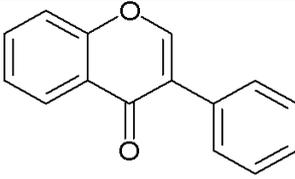
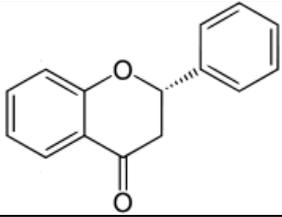
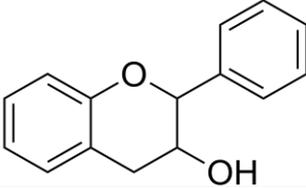
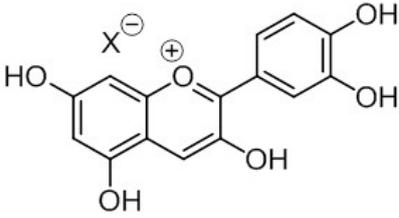
**Figure 03:** Structure de base des acides benzoïque et cinnamique (**Bruneton, 2009**).

### 9.1.2. Flavonoïdes

Terme en latin ; flavus = jaune. Ont une structure de C6-C3-C6 à poids moléculaire faible, ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (**Wichl et Anton, 2009**). Les flavonoïdes ont des sous-groupes caractérisés à contenant deux ou plusieurs cycles aromatiques existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, chacun portant une ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliées par un pont carboné (**Heller et Forkmann, 1993**).

Les flavonoïdes sont généralement des antibactériennes (**Wichl et Anton, 2009**). Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire (jus de citron) et de l'industrie pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (**Iserin et al., 2001**).

Tableau 01: La structure de base des principaux flavonoïdes (Harborne et Williams, 2000).

Sous classe	Structure
Flavonoles	
Flavones	
Isoflavones	
Flavanones	
Flavan-3-ol	
Anthocyanes	

### 9.1.3. Tanins

Tanin est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux (Hopkins, 2003). On distingue deux catégories :

Les tanins condensés, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines (Hopkins, 2003).

Les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (**Hopkins, 2003**).

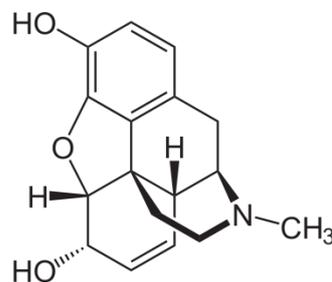
Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (**Iserin et al., 2001**).

#### 9.1.4. Lignines

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (**Sarni-machado et Cheynier, 2006**).

#### 9.2. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (**Wichtl et Anton, 2009**).



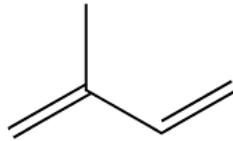
**Figure 04:** Exemple d'alcaloïde, la morphine (**Osborn et Lanzotti, 2009**).

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) (**Hopkins.,2003**). Des anticancéreuses (vincristine et la vinblastine) (**Iserin et al., 2001**).

#### 9.3. Terpènes et stéroïdes

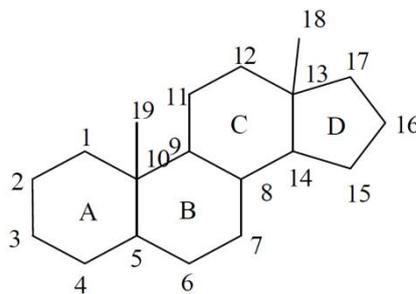
Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principale de formule (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub> selon la variation de nombre n, dont les composés monoterpènes, diterpènes, triterpènes, sesquiterpènes, etc. (**Wichtl et Anton, 2009**).

Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) (**Hopkins, 2003**).



**Figure 05:** Unité isoprénique (**Osbourn et Lanzotti, 2009**).

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique (**Hopkins, 2003**).



**Figure 06:** Structure de noyau stéroïde (**Ling et Jones, 1995**).

Chez toutes les plantes on trouve ces composés liées avec un groupement alcool qu'ils nommés les stérols; prenant une forme plane, glycosylée, analogues du cholestérol qui ne diffèrent de celui-ci que par leur chaîne latérale comme: B-Sitostérol et Stigmastérol (**Hopkins, 2003**).

### 9.3.1. Saponosides

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycosylés comme ils peuvent aussi se trouve sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre (**Hopkins, 2003**).

Ils existent sous deux formes, les stéroïdes et les terpénoïdes (**Iserin et al., 2001**).

### 9.3.2. Huiles essentielles

Ce sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil offrant à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs (**Iserin et al., 2001**). Ils Jouent un rôle de protection des plantes contre l'excès de la lumière et attirent les insectes pollinisateurs (**Dunstan et al., 2013**).

D'autre part, ils sont utilisées pour soigner des maladies inflammatoires telles que l'allergie et eczéma; et ils favorisent l'expulsion des gaz intestinales comme les fleurs fraîches ou séchées de plante "camomille" (**Iserin et al., 2001**).

**9.4. Les polysaccharides :**

Ce sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble que l'on trouve dans toutes les plantes. Du point de vue de la phytothérapie, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages « visqueux » et les gommés présents dans les racines, les feuilles et les graines. Ces deux derniers absorbent de grandes quantités d'eau, produisant une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés (**Iserin, 2001**).

**10. Toxicité**

Les plantes peuvent être utilisées de la même manière que tout autre médicament mais quelque fois les plantes peuvent être toxiques. Cette toxicité peut être expliquée par : une toxicité intrinsèque des constituants des plantes médicinales qui sont un mélange complexe de molécules diverses dont la composition est souvent mal définie, et qui peut former de molécules pourvues d'une activité biologique notoire. Comme toutes les molécules bioactives, ces constituants peuvent, à un certain degré de concentration, présenter une toxicité intrinsèque. Telle

la composition des produits végétaux, qui varie de multiples façons, la teneur de ces constituants peut « naturellement » varier d'une préparation à une autre (**Chabrier, 2010**).

Les extraits des plantes ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque dans la phytothérapie. Comme tous les produits naturels : « ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme ». A forte dose, par Ex : l'HE de menthe peut causer des brûlures d'estomac, la menthe poivrée peut irriter les muqueuses de la bouche et de rares cas d'allergie cutanée, Le menthol est moyennement toxique, son utilisation est contre-indiquée chez l'enfant, la menthe pouliot a été reliée à des cas de toxicité rénale et hépatique, des convulsions, des dommages neurologiques (**Brahmi, 2019**).

*Chapitre II*  
*Notions sur les plantes*  
*étudiées*

## I. *Mentha spicata*

### 1. Définition

*Mentha spicata* est une herbe aromatique qui appartient à la famille des lamiacées (Abootalebian *et al.*, 2016), ces dernières sont très homogènes et faciles à identifier (Brahmi, 2016). Son nom vernaculaire en arabe « Naànaa », en anglais « spearmint » (Zekri, 2016), et en français « menthe verte ». *Mentha spicata* L pousse spontanément dans les zones tempérées et elle est cultivée partout dans le monde (Laggoune *et al.*, 2016).

### 2. Systématique

Le tableau suivant représente la systématique de *Mentha spicata* L.

**Tableau 02 :** Taxonomie de *Mentha spicata* L (Moon *et al.*, 2009 ; Lansdown, 2014).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantea
Sous règne	Trachéophytes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Nepetoideae
Tribu	Menthea
Sous-tribu	Menthinae I
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha spicata</i> L

### 3. Description

*Mentha spicata* L est une plante vivace et rampante (Bremness, 2011). Elle se caractérise par une tige carrée droite et verte, qui ne dépasse pas plus d'un mètre de longueur, ses feuilles sont d'un vert foncé, opposées, sessiles, subsessiles et allongées à ovales ou lancéolées de 5 à 9 cm de longueur et de 1.5 à 3 cm de largeur (Sennoussi, 2015), ses fleurs comportent un calice en forme de clochette; glabre ou cilié, divisé en 5 dents, une corolle violette pale, rose ou blanche, 4 étamines saillantes de taille identiques, un ovaire super et divisé en deux loges renfermant chacune deux ovules (Brahmi, 2016) .



Figure 07 : parties aériennes de *Mentha spicata* L (Emerso, 2004).

#### 4. Composition chimique

Le tableau suivant montre la composition biochimique de *Mentha spicata* L de l'Algérie.

Tableau 03: Composition biochimique de *Mentha spicata* L (Brahmi *et al.*, 2016).

Les huiles essentielles	
Carvone , limonene, 1.8-cineole, $\beta$ -Caryophyllene germacrene D.	
Composés phenoliques	
<b>Acides phénoliques :</b>	Acide 4-hydroxy benzoïque, Acide caféique, Acide $\alpha$ -coumarique, Acide chlorogénique et Acide rosmarinique.
<b>Flavonoïdes :</b> rutine, naringenine, luteoline, diosmine, kaempferole et diosmetine.	
Autre composés	
Esters méthilique d'acide gras, triglycéride, squalène, stigmastérol, Sitostérol, acide oléanolique, ursolique et pomolique Caroténoïdes, alcaloïde, saponine.	

#### 5. Utilisations

*Mentha spicata* L est la plus ancienne herbe médicinale (Nanekarani *et al.*, 2012). Grâce à ses propriétés thérapeutiques (antifongique, antivirale, antimicrobienne, insecticide et antioxydant) (Almeida *et al.*, 2012), les feuilles de cette plante ont été utilisées traditionnellement pour le traitement de plusieurs maladies (rhume, spasmes, crampes, troubles digestives, fièvre, maux de tête, bronchite, nausée, rhumatisme, troubles gastrointestinaux et douleurs des dents). L'huile de cette menthe est utilisée comme un arôme dans des dentifrices, chewing-gum, savons et aussi dans des soupes, parfumeries, détergents et pesticides (Soysal, 2005 ; Brahmi *et al.*, 2012).

## 6. Vertus médicinales de *Mentha spicata*

Le genre *Mentha* sont connus anciennement en médecine traditionnelle elle est efficace contre les troubles digestif (efficace en cas de constipation ou de diarrhée, Trouble urinaires (effet diurétique) toux et rhume (apaisante) anti douleur (douleurs articulaires, musculaires et maux de tête), problèmes respiratoires (efficace contre les affections similaires aux bronchites) ,contre des affections de la peau (soulage les douleurs liées aux piqûres d'insectes et d'animaux et prévient la formation de crevasses (Soumia., 2021)

Des études récentes se rapportant à *Mentha spicata* ont révélé un large spectre d'activités biologiques principalement les propriétés antibactérienne et antifongique (Singh *et al.*, 2015), antioxydante (Snoussi *et al.*, 2015) et anti-inflammatoire (Patwary *et al.*, 2013) grâce à sa richesse en composés phénoliques et en huiles essentielles (Bagheri *et al.*, 2014 ; Abootalebian, 2016 ; Alaei *et al.*, 2016).

### 6.1. Activités antioxydantes :

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs. La capacité antioxydante des extraits est étroitement liée à tout le contenu phénol (Yanishlieva *et al.*, 1999)

Brahmi *et al.*, (2015) ont démontré *in vitro* que l'extrait éthanolique des feuilles de *Mentha spicata L* est un très bon scavenger du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) ( $IC_{50}=16,2 \pm 0,2 \mu\text{g/ml}$ ).

### 6.2. Activités antibactériennes et antifongiques :

Barchan *et al.* (2015) ont démontré par la technique de diffusion en puits que les souches *Listeria monocytogenes* 4031, *Enterococcus hirae* 4081, *Staphylococcus aureus* 976 sont sensibles vis-à-vis des extraits méthanoliques des feuilles de *Mentha spicata L* avec des diamètres supérieurs à 12 mm.

### 6.3. Activités antivirales :

Les propriétés antivirales ont été approuvées pour plusieurs espèces de menthes. Les huiles essentielles de *M. spicata* ont été évaluées pour leurs activités antivirales contre l'herpès simplex de type-1 (HSV-1) et la para-influenza de type-3. Les deux huiles ont exhibé une activité antivirale plus forte contre l'herpès HSV-1 (Orhan *et al.*, 2012).

#### 6.4. Activités anti-inflammatoires :

**Arumugam et al. (2008)** ont évalué, *in-vivo*, l'effet anti-inflammatoire des extraits aqueux, de chloroforme, d'éthyl acétate et hexanique de l'espèce *M. spicata* L. Les deux extraits, aqueux et d'éthyl acétate sont les plus efficaces dans la réduction de l'inflammation aiguë et chronique chez les rats.

#### 6.5. Activités cytotoxiques et anti-cancéreuses :

L'extrait aqueux des feuilles de *Mentha spicata* L a des effets cytotoxiques, sur les deux cellules tumorales fibrosarcome (Wehi-164) et monocyte leucémie (U937), qui ont été évalués *in vitro* (**Hajighasemi et al., 2011**).

## II. *Populus alba*

Les peupliers sont des plantes supérieures ligneuses Angiospermes Eucotylédones appartenant à la famille des *Salicacées*. Cette famille est composée de deux genres principaux: le genre éponyme *Salix* regroupant entre autres les espèces de saules et d'osiers et le genre *Populus* regroupant les espèces de peupliers (**Dickmann et Kuzovkina, 2008**). Le peuplier blanc (*Populus alba*) est une espèce eurasiatique qui abonde dans les zones humides d'Europe centrale et méridionale, ainsi qu'en Afrique du Nord. Il croît également en Asie occidentale et centrale, dans l'Himalaya et dans l'ouest de la Chine (**Roiron et al., 2004**). *Populus alba* supporte les hautes températures et un certain niveau d'alcalinité du sol ou de l'eau. C'est ainsi qu'il se trouve presque dans tout le Maroc dans les vallées à sol frais et à fertilité moyenne ; il existe même au Sahara et ne dépasse guère l'altitude de 2000 mètres (**Sbay et al., 2003**).

### 1. Etymologie

Le terme latin *Populus* désigne un peuplier alors que *alba* signifie "blanc" et fait référence à l'écorce blanchâtre de l'arbre et de la couleur blanc argenté du dessous de ses feuilles. Son nom latin de *Populus* provient d'ailleurs du fait que les romains le plantaient sur les lieux publics.

A l'état spontané en Algérie du Nord, il est fréquent sur les plateaux mésophiles à xérophiles, le long des cours d'eau encaissés (**Roiron et al., 2004**).

**Nom français :** Peuplier blanc

**Nom vernaculaire :** Abèle, Peuplier à feuille d'érable, Peuplier argenté, Blanc de Hollande, Aube, Ypréau ou Piboule.

**Nom vernaculaire arabe :** El-hour Elabyadh

## 2. Classification du peuplier blanc

Le tableau suivant représente la classification *Populus alba* L

**Tableau 04** : Taxonomie de *Populus alba* L., 1753 (TELA BOTANICA)

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Salicales
Famille	Salicaceae
Genre	<i>Populus</i>
Espèce	<i>Populus alba</i> L

## 3. Description botanique *Populus alba*

Le peuplier appartient à la famille des *Salicacées*. C'est un arbre dioïque qui se produit par voie végétative (boutures) et qui est peu sensible au froid.

Les feuilles sont caduques, cotonneux au revers (ce qui donne un aspect blanc à l'arbre), vert foncé sur la face supérieure (figure 08). La formes des feuilles différent en fonction leur âge. Elles sont plus ou moins dentelées et sinueuses et plus elles sont jeunes, plus les bords sont ronds. Elles possèdent 3 à 5 lobes et mesurent de 6 à 12 cm de long (Stanton, 2009).

Lorsqu'il est planté dans des conditions acceptables, il s'accroît couramment de un à deux mètres par an en hauteur. Le peuplier peut aisément atteindre des hauteurs de 20 à 30 m et un diamètre d'environ 1 m à 1,20 m au bout de 15 ans (Collinson, 1992). Les rameaux de *Populus alba* sont recouverts d'un duvet blanc et cotonneux. En vieillissant, ils deviennent gris et noueux. Les fruits sont matures au mois de juin, entourés d'un duvet blanc que le vent emporte facilement. L'écorce est d'abord lisse et gris blanchâtre, puis fissurée et plus foncée en vieillissant (Durand, 2009).



**Figure 08** : Feuilles de *Populus alba* (TELA BOTANICA)

#### 4. Composition chimique

Le tableau suivant montre les composants majeurs de *Populus alba* de l'Algérie.

**Tableau 05:** Composition biochimique de *Populus alba* (Belkhodja., 2015 , Boumghar et al., 2019).

Les huiles essentielles	
α-Eudesmol , 1,8-Cineole , β-Eudesmol , δ-Cadinene .	
Composés phénoliques (Les bourgeons)	
<b>Acides Phénoliques :</b> Acide ellagique , Acide p-coumarique	
<b>Flavonoides :</b>	kaempferole

#### 5. Utilisation du peuplier blanc

C'est un combustible très médiocre qui produit peu de chaleur à la combustion et produit un charbon de piètre qualité. De l'écorce, on extrait de la salicine. (Jean-Claude et al., 2008).

La vitesse de croissance particulièrement élevée de *Populus* assure une production annuelle de près de 1,5 millions de bois d'oeuvre ; faisant de lui la deuxième essence feuillue en terme de volume de bois récolté après le chêne. Près de 80 % de cette production est destinée au déroulage et au sciage pour la confection d'emballages dits légers (contreplaqués, panneaux de particules, allumettes) ou lourds (palettes, caisses, menuiserie) (Bonhomme, 2009).

#### 6. Propriétés thérapeutiques de *Populus alba*

Le genre *Populus* sont connus anciennement en médecine traditionnelle pour avoir différentes activités biologiques telles que des propriétés fongicides, antioxydantes, anti-tumorales, antiseptiques et antivirales (Greenaway et al., 1991).

*Populus alba* est utilisé traditionnellement pour ses propriétés dépuratives pour désinfecter les lésions de la peau, traiter l'herpès et la décadence des dents (Adam et al., 2009).

##### 6.1. Activités antioxydantes :

L'addition de l'huile essentielle de *P. alba* au mélange de réaction de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a réduit avec un faible degré la formation de l'ADN linéaire. Donc, l'huile essentielle de *P. alba* peut présenter une protection contre la scission de l'ADN induite par les radicaux OH<sup>-</sup> générés à partir de la photolyse UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. (Belkhodja .2015)

**6.2. Activités antimicrobiennes :**

Des activités antibactériennes et antifongiques des extraits éthanoliques des feuilles de *Populus alba* vis-à-vis un grand nombre de germes ont été clairement mise en évidence. (**Wamidh et al., 2010**). Une étude réalisée par **Vardar-Unlu et al (2008)** dans le but d'analyser l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques des bourgeons de trois espèces de populus (*Populus alba*, *Populus nigra*, *Populus tremuloides*) contre une panoplie de souches. Les exsudats des bourgeons du genre populus ont montré une activité antimicrobienne très importante.

**6.3. Activités anti-cancéreuses :**

L'extrait dérivé de la fraction chloroforme des fleurs de *Populus alba* a montré une activité antiprolifératives contre des lignées de cellules cancéreuses (**Wamidh et al., 2010**).

**6.4. Activités anti-inflammatoires :**

**Belkhodja., (2015)** ont évalué, *in-vivo*, l'effet anti-inflammatoire ; Le traitement avec l'huile essentielle de *P. alba* sont apparues efficace pour réduire les réponses induites par le dextrane.dans le modèle d'inflammation aiguë chez le rat.

*Partie 2*  
*Étude expérimentale*



*Chapitre IV*  
*Matériel et méthodes*

## 1. Matériel biologique

### 1.1. Matériel végétale

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond à deux plantes : la partie aérienne de l'espèce *Mentha spicata* récolté dans la région de Sidi Maamar de la Wilaya de Saida durant le mois de Décembre 2021 et les feuilles de l'espèce *Populus alba* récoltées en Décembre 2021 dans la région de Mascara. L'identification de l'espèce végétale est réalisée par Pr. Si Tayeb membre de laboratoire de Biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation biologique des plantes de l'université de saida- Algérie .

Après la collecte de la plante fraîche , les impuretés ont été enlevées, et la plante a été étalée sur le sol et laissée sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 15 jours, Une fois la plante séchée , sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique , puis conservé dans des boîtes en verre ;bien fermées, couvertes par des papier aluminium et stockées a l'obscurité, loin de la lumière et de l'humidité et a une température ambiante jusqu'au leur utilisation . **(Brahmi , 2019)**



**Figure 09** : le broyat

**(A)** : *M.spicata*      **(B)** : *P.alba*

### 1.2. Matériel microbien

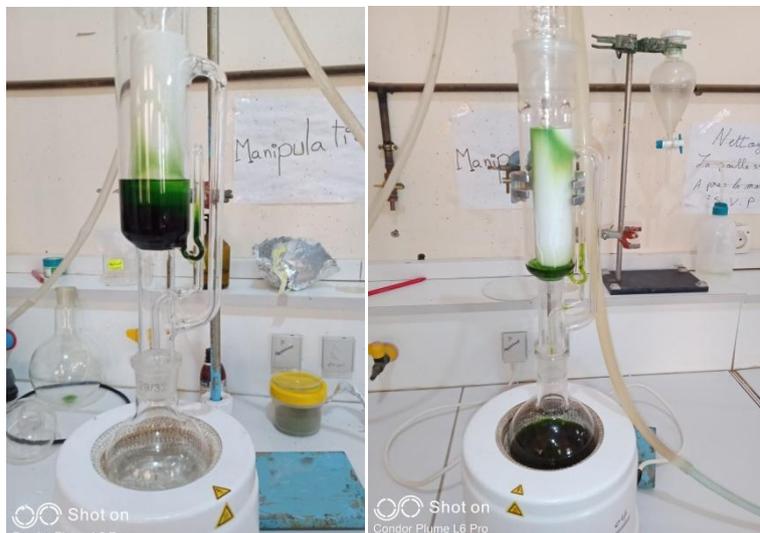
Les souches microbiennes qui ont été utilisées dans cette expérimentation :

4 souches bactériennes choisies sont pathogènes et/ou impliquées dans le processus d'altération des aliments ont été étudiées. Deux bactéries Gram(-) : *Escherichia coli* ATCC 25933 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 7853 et deux bactéries Gram(+) : *Bacillus subtilis* ATCC 6633; *Staphylococcus aureus* ATCC43300.

Et trois souches de moisissures:, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Penicillium viridicatum* ATCC 26205, *Rhizopus stolonifer* ATCC 14037, les micro-organismes ont été obtenus à partir de la culture de la collection de laboratoire de Biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation biologique des plantes de l'université de Saida- Algérie.

## 2. Préparation des extraits

L'extraction que nous avons utilisée par Soxhlet le protocole de (Wamidh *et al.*, 2010; Brahmi *et al.*, 2012). Cette méthode consiste à ajoutée 5g de broyat de plante dans une cartouche et en ajoute 150 ml de solvant (éthanol 96%) est porté à ébullition pendant 5 cycle.



**Figure 10 :** Procédure d'extraction par Soxhlet

### Le Soxhlet permet:

Le lavage d'un composé solide par un solvant dans lequel il est totalement insoluble et Les impuretés sont extraites vers le ballon et le solide pur est récupéré dans la cartouche.

La recristallisation d'un composé par un solvant dans lequel il est modérément soluble.

Les impuretés insolubles restent dans la cartouche tandis que le composé cristallise dans le ballon récepteur par refroidissement lorsque la solution est assez concentrée.

La limitation du volume de solvant ; Afin d'éviter l'utilisation de grands volumes de solvants, il faut réaliser l'extraction et la concentration dans le même appareil.

En règle générale, un solide ne se laissera pas traverser par un liquide. Il est donc nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives par utilisation d'un extracteur de Soxhlet, ou alors sa variante plus économique (Benabdallah.,2015)

- Chaque extrait obtenu est évaporée au Rotavapor pour obtenir des extraits solides.



**Figure 11 :**La concentration d'extrait récupérer par évaporateur rotatif

### - Détermination du rendement

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait obtenu et la masse sèche de la matière végétale utilisée, il est donné selon la formule :

$$R\% = (m_E / m_S) \times 100$$

**R** : rendement

**m<sub>E</sub>** : la masse extraite (g).

**m<sub>S</sub>** : la masse du matériel végétal sèche (g).

## 3. Tests phytochimiques

### 3.1. Dosage des composés phénoliques (Analyse quantitative)

#### 3.1.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits éthanolique de *M.spicata* et *P.alba* a été déterminée par la méthode de Folin–Ciocalteu (**Bougandoura et al, 2012**).

Une quantité de 200 µl de l'extrait est mélangée avec 1ml du réactif de Folin–Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué) et 0,8ml de carbonate de sodium à 7,5% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 minutes et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par g de matière végétale sèche.

### 3.1.2. Dosage des Flavonoïdes

La détermination de la teneur en flavonoïdes des extraits éthanolique de *M.spicata* et *P.alba* est effectuée par la méthode colorimétrique en utilisant des solutions de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). (Bougandoura *et al*, 2012).

Une quantité de 100  $\mu\text{l}$  de l'extrait a été mélangée avec 0,4ml d'eau distillée et par la suite avec 0,03ml d'une solution de nitrite de sodium  $\text{NaNO}_2$  à 5%. Après 5min, 0,02ml d'une solution d' $\text{AlCl}_3$  à 10% a été ajouté. On additionne au mélange 0,2ml de solution de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1M et 0,25ml d'eau distillée après 5 min de repos. L'ensemble est agité à l'aide d'un vortex et l'absorbance a été mesurée à 510 nm.

La concentration des flavonoïdes dans l'extrait a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage  $y = ax + b$  établie avec la catéchine par g de matière végétale sèche.

### 3.1.3. Dosage des tannins condensés

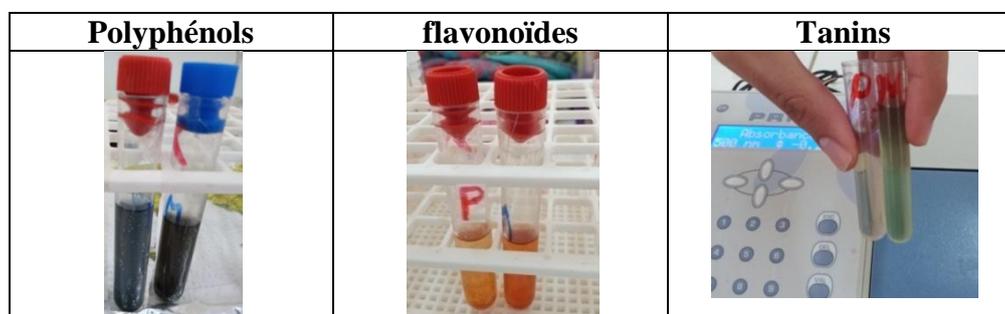
Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon la méthode décrite par Raja *et al*,(2017)

Une prise de 200  $\mu\text{L}$  de chaque extrait a été ajoutée à 3 mL de vanilline à 4% et 1.5 mL d'acide chlorhydrique concentré (HCl). L'absorbance de cette préparation a été mesurée après 15 min d'incubation à 500 nm. La courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif aux concentrations comprises entre 0 à 400 mg/ mL.

En présence d'acide chlorhydrique concentré, les tanins condensés se dépolymérisent, par réaction avec la vanilline, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm.

Le taux des tanins condensés a été exprimé en microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EC/ mg E}$ ).

**Tableau 06 :** Dosage des composés phénoliques



(P) : *Populus alba* (M) : *Mentha spicata*.

### 3.2. L'analyse des composés phénoliques par HPLC (Analyse qualitative)

L'identification des composés phénoliques des extraits a été réalisée par une chromatographie en phase liquide à haute performance, système Perkin Elmer Flexar couplée à un détecteur UV-vis à longueurs d'onde multiples.

Les données analytiques ont été évaluées à l'aide d'un système de traitement de données DataApex. La séparation a été réalisée sur une colonne Eclipse ODS Hypersil C18 (150 mm, 4,6  $\mu\text{m}$ ) à température 25 C °. La phase mobile utilisée a été composée d'eau acidifié 1 % acide formique (solvant A) et d'acétonitrile (solvant B).

Le gradient d'élution a été comme suit: 95% eau acidifié /5% acétonitrile 50 min 5 % eau acidifié /95% acétonitrile /60 min 95% eau acidifié /5% acétonitrile. Après 15 minutes permettant le calibrage de l'appareil. Le débit a été de 1 mL/ min et le volume d'injection a été de 20  $\mu\text{L}$ . La longueur d'onde utilisée pour l'identification des composés a été de 254 nm basée sur la combinaison entre le temps de rétention et l'appariement spectral.

## 4. Activité antioxydante

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs. La capacité antioxydante des extraits est étroitement liée à tout le contenu phénol (**Bougandoura et al, 2012**).

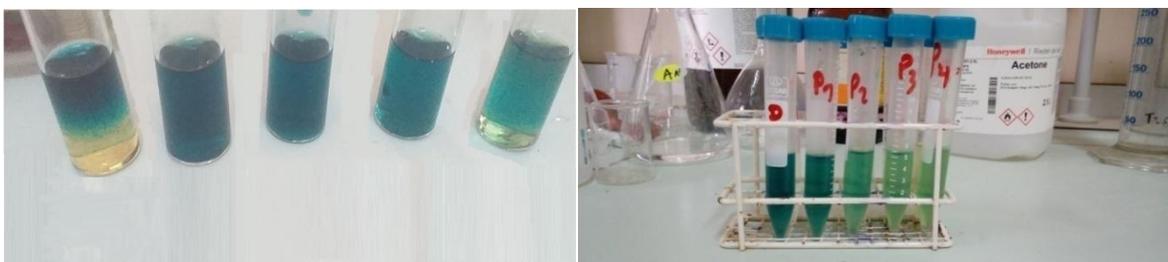
### 4.1. Test de la réduction du fer FRAP :

Ce protocole est basé sur l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réagir avec le ferricyanure de potassium ( $\text{Fe}^{3+}$ ) pour former le ferrocyanure de potassium ( $\text{Fe}^{2+}$ ), qui réagit ensuite avec le chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) pour donner un complexe ferrique ferreux d'une couleur bleu mesurable à 700 nm. Qui se traduit à la présence de groupements hydroxyles qui peuvent servir comme donneur d'électron (**Jayanthi et Lalitha, 2011 ; Bougandoura et Bendimerad, 2012**).

Le pouvoir réducteur du fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par (**Bougandoura et al, 2012**).

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 0,3125 à 2,5mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%.

L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2.5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2,5ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Bougandoura *et al*, 2012).

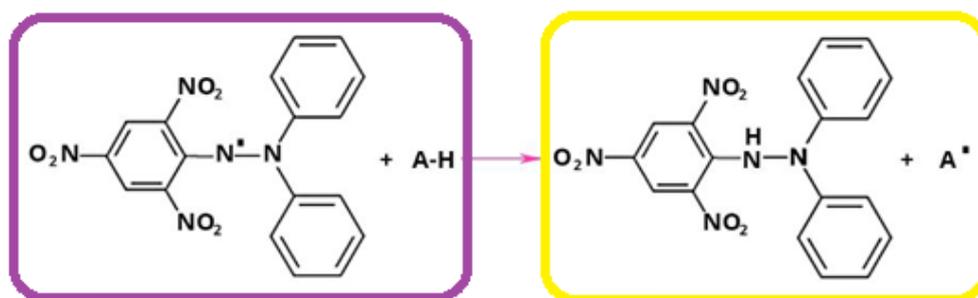


**Figure 12** : dosage de FRAP

(A) : *M.spicata* (B) : *P.alba*

#### 4.2. Test de piégeage du radical libre DPPH :

Le DPPH• (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) est un radical libre de couleur violette, en présence des piégeurs des radicaux libres se réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune (figure 13) (Athmena *et al.*, 2010).

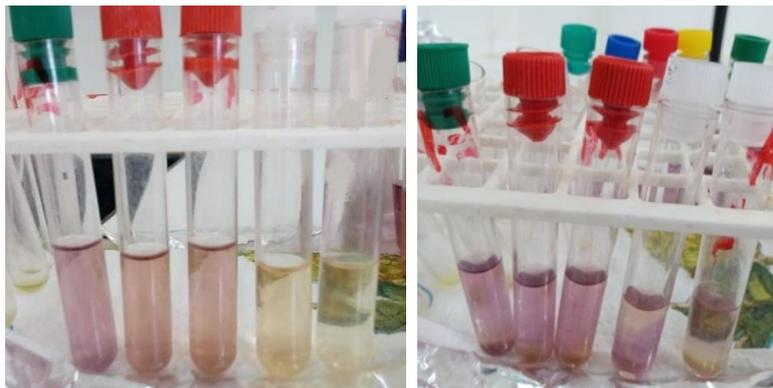


**Figure 13** : Mécanisme réactionnel du radical libre DPPH. (Talbi *et al.*, 2015).

50µl de chaque solution éthanolique des extraits à différentes concentrations (de 0,3125 à 5mg/ml) sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test est répété 3 fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) . (Kim et al. 2003)

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Les valeurs de l'EC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire



**Figure 14** : dosage de DPPH

(A) : *M.spicata*    (B) : *P.alba*

## 5. L'Activité antimicrobienne

### 5.1. L'activité anti bactérienne

#### 5.1.1. Méthode de diffusion en puits

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits éthanolique de *M.spicata* et *P.alba*, nous avons adopté la technique de diffusion en puits , (Barchan et al.,2015)

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création des puits de 6 mm de diamètre sont réalisés.

Les puits sont ensuite remplis par 50 µl de l'extrait (50 mg/ml) à tester d'un gradient de concentration, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible.

L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

Les souches bactériennes choisies sont pathogènes et/ou impliquées dans le processus d'altération des aliments ont été étudiées. deux bactéries Gram(-) : *Escherichia coli* ATCC 25933 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 7853 et deux bactéries Gram(+) : *Bacillus subtilis* ATCC 6633; *Staphylococcus. Aureus* ATCC43300.

### 5.1.2. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton (M.H) préparé comme suit :

Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

### 5.1.3. Stérilisation du matériel

L'eau distillée, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### 5.1.4. Préparation des dilutions d'extraits de *M.spicata* et *P.alba*

Les extraits de *M.spicata* et *P.alba* ont été dissous dans l'éthanol pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 50mg/ml.

### 5.1.5. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes misent en culture dans le bouillant nutritif et incubées à 37°C pendant 48h. Leur opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

### 5.1.6. Ensemencement

- Le milieu de culture utilisé est MH, qui est le seul le plus employés pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne,
- L'essorer en le pressant fermement, et tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum,
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en striés serrées,

- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose, Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

### 5.1.7. Lecture de l'effet

Après un temps d'incubation (24 h) à 37 °C, les halos d'inhibition au tour des puits sont mesurés en millimètre et comparés avec éthanol comme control.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (Ponce et al. 2003).

Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm

Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.

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

Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm

## 5.2. Activité antifongique vis-à-vis des moisissures

Ce teste à pour objectif d'évaluer l'effet antifongique d'extrait végétal sur le développement du *Penicillium viridicatum*, *Rhizopus stolonifer* et *Aspergillus niger*. il consiste à estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes mis en contact avec l'extrait éthanolique de *Populus alba*.

### Préparation de milieu de culture

Nous avons utilisé le milieu de PDA stérilisé à l'autoclave (20 minutes à 120 °C) et maintenus en surfusion à 45, on ajoute aseptiquement 1ml de l'Acide lactique diluer à 25% pour but d'inhiber les souches bactérienne (Singh et al., 2006).

Dans des boîtes de Pétri contenant 20 ml de milieu de PDA stérile incorporé par les différentes concentrations (1,25 ; 2.5 ; 5 ; 10 µg/ml, les tubes à essai utilisés pour préparer les dilutions successives dans DMSO), l'extrait éthanolique de *Populus alba* on été ensemencées avec des disques mycéliens (de 6mm de diamètre, qui sont prélevés à l'aide d'une pipette pasteur stérile) issus d'une souches pure de *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Penicillium viridicatum* ATCC 26205, *Rhizopus stolonifer* ATCC 14037 (culture de 21 jours). Puis on a fermé bien les boîtes avec le paraffine pour éviter la contamination.

L'incubation a été effectuée à 28 ± 4°C pendant 7 jours dans l'étuve, en calculant la moyenne des diamètres mesurés sur trois axes perpendiculaires.

La même procédure à été effectué pour les témoins avec une léger différence.

Pour déterminer le taux d'inhibition de la croissance mycélienne, en utilisant la formule d'Abbott (Motiejunaite et Peiculyte, 2004)

$$T = (DK - D0) / DK \times 100$$

**DK** : diamètre de la colonie fongique du témoin (en mm).

**D0** : diamètre de la colonie fongique en présence de l'extrait (en mm).

**T** : taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage (%).

L'extrait est qualifié :

1. Très actif lorsqu'il possède une l'inhibition comprise entre 75 et 100%, la souche fongique est dite très sensible.
2. Actif [50 et 75 %], la souches fongique est dite sensible.
3. Moyennement actif [25et 50 %], la souche est dite limite.
4. Peu ou pas actif [0 et 25 %], la souche est dite peu sensible ou résistante.

## 6. Evaluation de la cytotoxicité des extraits vis-à-vis des globules rouges

La mesure de la fuite d'hémoglobine des hématies humaines provoquée par les extraits a été réalisée par la méthode décrite selon (Lee., 2002; Sakat *et al.*, 2010) avec des modifications.

### 6.1. Préparation de la suspension érythrocytaire

Du sang fraîchement prélevé sur un tube sec a été centrifugé à 3000 tours/minutes pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse. Après élimination du surnageant, le culot a été lavé 2 fois par une solution de lavage eau physiologique resuspendu dans la même solution à raison de 10%. (Sadique *et al.*,1989).

### 6.2. Mesure de la fuite l'hémoglobine

Un volume de 1mL de la suspension érythrocytaire à 10% a été incubé avec 1mL d'extraits à différentes concentrations (0.625-5mg/ml) pendant 30 minutes dans un bain marie à 60°C.

Après refroidissement les tubes ont été centrifugés pendant 5 minutes à 2500 rpm et la fuite de l'hémoglobine intracellulaire a été mesurée par la lecture de l'absorbance du surnageant à une longueur d'onde de 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis.

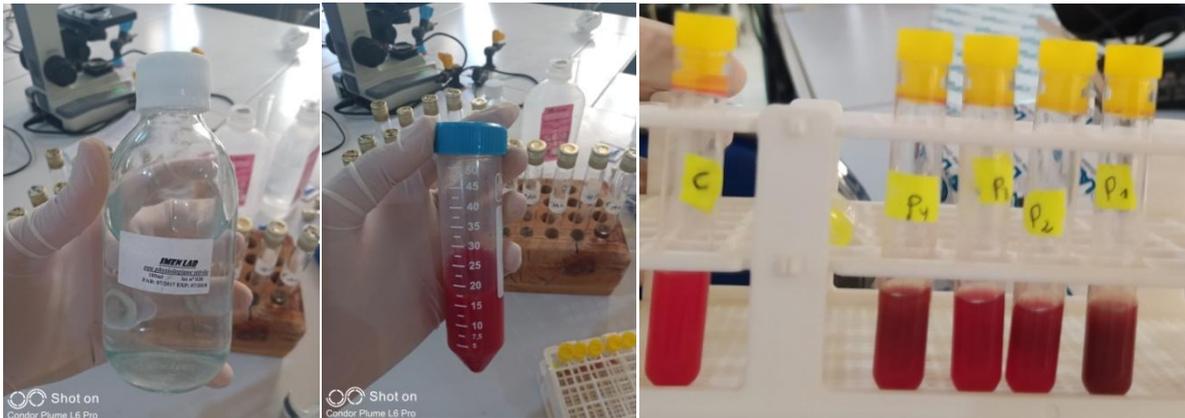
L'hémolyse totale a été obtenue par la mise en suspension des globules rouges avec le triton X-100. Eau physiologique seul a été utilisé comme contrôle négatif. (Shinde *et al.*, 1999)

Pour chaque échantillon le pourcentage d'hémolyse a été déterminé par l'équation suivante:

$$\text{Taux d'hémolyse(\%)} = \frac{(\text{DO extrait} - \text{DO control})}{\text{DO control}} \times 100$$

cytotoxicité (+) ou hémolyse > 0%

activité anti-hémolytique (-) < 0%



**Figure 15 :** Préparation de la suspension érythrocytaire

## 7. Analyses statistiques

Les résultats sont représentés sous forme de moyenne  $\pm$  SD et ils ont été effectués à l'aide du programme Microsoft Office Excel 2007.

# *Chapitre V*

## *Résultats et interprétation*

## 1. Rendement :

Les rendements d'extraction ont été calculé par rapport au poids total de le broyat végétal utilisée. Les rendements sont regroupés dans **le tableau 07**

**Tableau 07** : Rendement des extraits éthanolique de deux plantes étudiées

Extrait éthanolique	Rendement (%)
<i>Mentha spicata</i>	17,8 ±0,53
<i>Populus alba</i>	22.4 ±2,06

## 2. Composition chimique des extraits

### 2.1. Screening phytochimiques

#### 2.1.1. Teneur des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux est estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu.

Afin de caractériser l'extrait préparé à partir de *Mentha spicata* et *Populus alba*, la quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y=ax+b$ ) réalisée par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations.

**Tableau 08** : Teneurs en phénols totaux pour les deux plantes étudiées.

Extrait éthanolique	Concentration (mg GAE/g)
<i>Mentha spicata</i>	248,23 ±5,13
<i>Populus alba</i>	50,48 ±0,02

Pour les deux plantes étudié *M.spicata* et *P.alba* nous avons remarqué une variabilité des teneurs en phénols totaux (**Tableau 08**). La teneur est constatée dans la partie aérienne de la *M.spicata*, elle est de **248,23 mg GAE/g**, et pour la *P.alba*, elle est de **50,48mgGAE/g**.

#### 2.1.2. Teneur des flavonoïdes

Dans notre dosage nous avons réalisé une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation d'un standard qui est la Quercétine pour *M.spicata* et La catéchine pour *P.alba* est considérée comme un contrôle positif pour réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des extraits éthanolique des deux plantes étudiée qui est exprimée en mg

**Tableau 09** : Teneurs en flavonoïdes pour les deux plantes étudiée

Extrait éthanolique	Concentration (mg EQ-C/g)
<i>Mentha spicata</i>	10,33 ±0,08
<i>Populus alba</i>	6,69 ±0,03

Comme le montre **Tableau n° 09**, la teneur en flavonoïdes varie entre des extraits éthanolique des deux plantes étudiée, la teneur est constatée dans la *M.spicata* est de **10,33 mg EQ /g**, suivie par la *P.alba* **6,69 mg EQC /g**.

### 2.1.3.Teneur des Tanins

Les teneurs en tanins des deux plantes étudiées varient entre des extraits éthanolique des deux plantes étudiée, Comme le montre **Tableau n° 10**, la teneur de *M.spicata* avec une concentration de **16,25 mg EQC /g**, suivi par la *P.alba* avec une concentration de **6,42 mg EQC /g**.

**Tableau 10** : Teneurs en tanins pour les deux plantes étudiée.

Extrait éthanolique	Concentration (mg EQC/g)
<i>Mentha spicata</i>	16,25 ±0,01
<i>Populus alba</i>	6,42 ±0,03

## 2.2. Analyse par HPLC

Pour la détection des composés phénoliques nous avons opté pour l'utilisation d'une chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Une technique adaptée pour la séparation des phytoconstituants (**Jiri et al., 2013**). Elle permet la séparation, l'identification et la quantification simultanées des composés phénoliques (**Tomás-Barberán et al., 1990**). Le principe de la séparation d'une HPLC repose sur la répartition des analytes entre la phase stationnaire et la phase mobile en fonction de la polarité des composés.

Les deux extraits éthanolique de la partie aérienne de la plante *M. spicata* et feuilles de la plante *P. alba* ont été analysés par HPLC. Les résultats obtenus sont représentés dans les **tableaux 11** et **12** respectivement.

**Tableau 11** : résultats de l'analyse par HPLC pour l'extrait éthanolique de *Mentha spicata*.

	composants	[%]	RT
1	<b>Acide Trans-cinnamique</b>	<b>3,2</b>	14,58
2	<b>Thymol</b>	<b>40,2</b>	17,71
3	Vanilline	1,0	8,66
4	<b>Menthols</b>	<b>41,6</b>	13,72
5	4-hydroxycoumarique	0,6	12,88
6	Acide coumarique	2,5	9,17
7	Acide gallique	2,6	1,42
8	Acide ascorbique	0,8	0,66
9	Acide caffeique	1,6	7,07
10	Acide ferrulique	0,1	11,079
11	Apigénine	0,08	16,53
12	Kaempferol	0,8	16,81
13	<b>Quercétine</b>	<b>3,1</b>	14,86
14	Acide chlorengénique	0,4	7,44
15	Rutine	0,7	12,6

L'identification des composés biochimique de l'extrait éthanolique de *M.spicata* distingué sa richesse en biomolécules.

Le profil chromatographique de l'extrait de menthe a permis d'identifier 15 composés dont 14 sont des composés phénoliques (**tableau 11**), a permis d'identifier des acides phénoliques comme : L'**acide trans-cinnamique 3,2%** , **acide chlorogénique 0,4%**, **acide férulique 0,1%**, **acide coumarique 2,5%**, **acide caféique 1,6%**, **acide gallique 2,6%**, **acide ascorbique 0,8%** et **la vanilline 1%** ; Des flavonoïdes (les flavonols :**rutine 0,7%**, **quercétine 3,1%**, **kaempférol 0,8%**, les flavones : L'**apigénine 0,08%**) ainsi que **le menthol 41,6%** et **le thymol 40,2%** comme composés majoritaires

**Tableau 12** : résultats de l'analyse HPLC pour l'extrait éthanolique de *P. alba*.

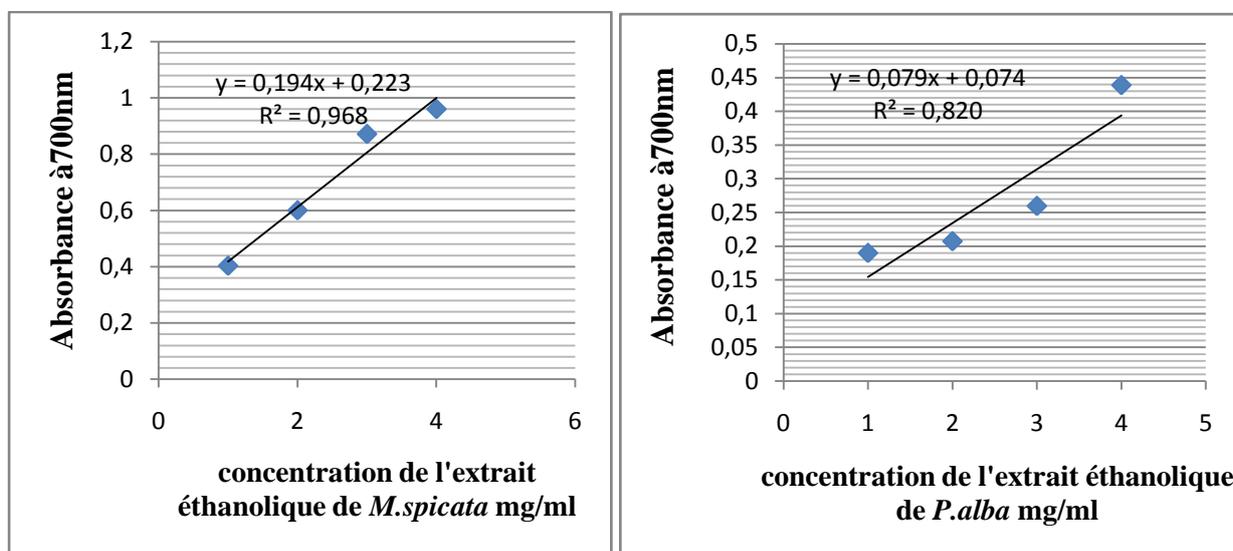
	composants	hauteur [%]	Temps de rétention [min]
1	Acide sinapique	4,1	3,203
2	Nicotinamide	4,4	3,823
3	Resorcinol	3,8	10,313
4	Vaniline	4,0	11,083
5	Cafeine	5,3	14,053
6	Rutine	8,0	15,127
7	/	4,1	16,087
8	<b>Génistéine</b>	8,9	22,403
9	<b>Catéchine</b>	56,0	28,720
10	/	1,5	30,930

Les résultats obtenus de l'analyse par HPLC pour l'extrait éthanolique des feuilles de *Populus alba* a permis d'identifier 10 composés phénoliques, en particulier des acides phénoliques comme L'acide sinapique 4,1%, vaniline 4% , ainsi que résorcinol 3,8%, nicotinamide 4,4% et la caféine 5,3% ; Des flavonoïdes (les isoflavones : génistéine 8,9% et les flavonols : rutine 8% et la catéchine 56% comme composé majoritaire); sont représentés dans le tableau 12

### 3. Activité antioxydante

#### 3.1. Réduction du Fer : FRAP

L'activité réductrice des extraits éthanolique de *M.spicata* et *P.alba* a été évaluée en utilisant la méthode de réduction du fer : FRAP.



**Figure 16 :** Activité scavenging du radical FRAP à différentes concentrations de l'extrait éthanolique de *Mentha spicata* et de *Populus alba*.

Les résultats obtenus dans les deux courbes montrent que la capacité de la réduction de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  est proportionnelle à l'augmentation de la concentration d'échantillons. A la (DO=0,5)  $A_{0,5}$  La concentration de l'acide ascorbique 0,27 mg/ml, suivi par la menthe de 1,42 mg/ml et le peuplier 5,39 mg/ml

#### 3.2. Piégeage du radical libre DPPH

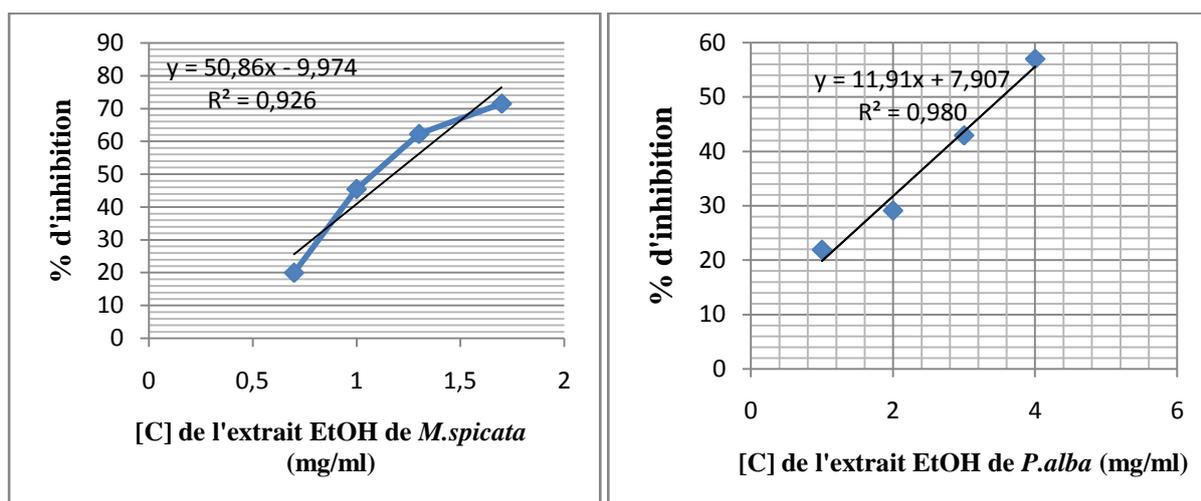
L'activité antioxydants des deux extraits éthanolique de *M.spicata* et *P.alba* est mesurée en présence d'un antioxydant standard qui est l'acide ascorbique (vit C), vis-à-vis du radical DPPH, l'activité est estimée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 517 nm. L'activité anti radicalaire est détectée par la réduction de radical DPPH.

La réduction de ce dernier aboutit à un changement de la couleur (DPPH•) violette vers le jaune (DPPH-H).

La capacité de la réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance déduite par des substances anti radicalaires.

D'après ces résultats, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration. Le taux d'inhibition du DPPH enregistré en présence des deux extraits de la plantes est inférieur à celui de l'acide ascorbique.

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit le paramètre IC<sub>50</sub>.



**Figure 17 :** Activité Piégeage du radical libre DPPH à différentes concentrations de l'extrait éthanolique de *Mentha spicata* et de *Populus alba*.

### Evaluation de l'IC<sub>50</sub>

IC<sub>50</sub> est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydants nécessaires pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Pokorny et al ; 2001).

La concentration de l'échantillon essentiel pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits préparés.

**Tableau 13 :** Radical Scavenging activité DPPH

Extrait éthanolique	IC <sub>50</sub> DPPH
<i>Mentha spicata</i>	14,858 µg/ml ±0,51
<i>Populus alba</i>	1,382 mg/ml ±0,3

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus de l'activité anti radicalaire des deux extraits testés possèdent une activité anti radicalaire avec un IC<sub>50</sub> de l'ordre de **14,858 µg/ml** pour la *M. spicata* ,et **1,382 mg/ml** pour la *P. alba*. En comparaison avec l'antioxydant standard (l'Acide

ascorbique) qui démontre un  $IC_{50\%} = 1,61 \mu\text{g/ml}$ , nous constatons que les deux extraits sont moins actifs par rapport au standard et que l'extrait de *M.spicata* possède une activité antioxydante supérieure en comparaison avec l'extrait de *P.alba* qui a une activité antioxydant un peu basse.

#### 4. Activité antimicrobienne

##### 4.1. Activité antibactérienne

Les observations effectuées sur les effets des extraits éthanolique de *M.spicata* et *P.alba* sur la croissance des souches bactériennes testées : *S. aureus*, *P.aeruginosa*, *E. coli* et *B.subtilis* sont représentées dans le tableau N° 14 et la fig 18.

**Tableau 14** : les diamètres des zones d'inhibition des différentes souches en (mm)

Diamètre de la zone d'inhibition (mm) (CMI) ≤					
		Souches bactériennes			
Extraits	[C] (mg/ml)	<i>E. coli</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>
<i>Ethanol 96%</i>		11	9	13	13
<i>Mentha spicata</i>	50	15++	13+	15++	14+
	25	14	12	≤13	13
	12.5	13	≤10	12	≤13
	6.25	≤12	8	9	12
	3.125	10	7	8	12
<i>Populus alba</i>	50	13+	15++	≤13+	>7-
	25	≤12	14	12	6
	12.5	10	13	11	6
	6.25	7	11	10	6
	3.125	6	≤9	10	6

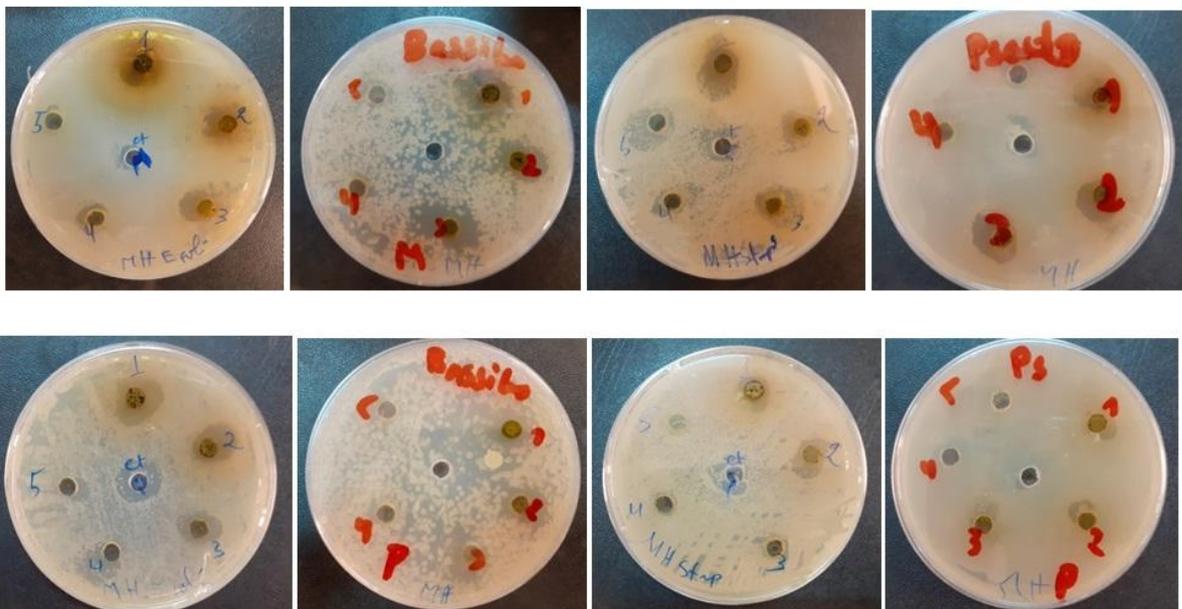
Effet : (+) : sensible , (++) : sensibilité considérable, (+++) : abondance, (-) : absence.

La sensibilité des bactéries aux extraits est déterminée selon le diamètre du halo d'inhibition par la méthode de diffusion sur gélose M.H.

Les résultats montrent que les deux extraits sont avérés plus ou moins actifs contre les souches bactériennes étudiées .

L'extrait de *P.alba* donne un effet d'inhibition faible vis-à-vis de la souche *P.aeruginosa* , cette bactérie possède un potentiel de résistance très élevé. En revanche il a une activité inhibitrice un peu grande vis-à-vis de la souche de *B.subtilis* avec une zone d'inhibition de 15mm. Par contre l'extrait de *M.spicata* possède un effet inhibiteur considérable vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* et *E. coli*.

Concernant l'éthanol 96% , on observe que ce dernier a un effet d'inhibition vis-à-vis des quatre souches bactériennes testées.



**Figure 18 :** résultats de l'activité anti bactérienne des différents extraits.

#### 4.2. Activité antifongique

Les observations effectuées sur les effets des extraits éthanolique de *P.alba* sur la croissance des souches des moisissures : *P.viridicatum*, *R.stolonifer* et *A.niger* testés par la méthode de contact direct a montré une sensibilité variable sont représentées dans le tableau 15.

La détermination de la concentration minimale fongicide des souches fongiques cibles se fait par une incorporation des différentes concentrations de l'extrait dans le milieu de culture, d'intervalles allant de 1,25 à 10  $\mu\text{g/ml}$ . La souche fongique *P.viridicatum* est la plus sensible vis-à-vis l'extrait, car elle est inhibé 72,73% à une concentration de 2,5  $\mu\text{g/ml}$ . Par contre,

*R.stolinifer* est la plus résistante vis-à-vis cet extrait, car elle inhibé 56,25% que lorsque la concentration atteint 10 µg/ml. Cependant, *A.niger* ont été inhibées 63,08% par 2,5 µg/ml. C'était aussi ont noté que le taux d'inhibition de la croissance fongique est proportionnel à la concentration de l'extrait (Tableau 15).

**Tableau 15** : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des souches fongiques en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique de *P.alba*

L'indice antifongique (%)			
	Les souches de moisissures		
[C] (µg/ml)	<i>A.niger</i>	<i>R.stolinifer</i>	<i>P.viridicatum</i>
10	72	56,25	72,73
5	69,23	47,5	72,73
2,5	63,08	31,25	72,73
1,25	43,08	18,75	31,82

### 5. L'activité anti-hémolytique et cytotoxicité

Les globules rouges sont parmi les cellules les plus utilisées dans l'évaluation de la toxicité à cause de leur disponibilité, et la facilité de leur surveillance au cours de la lyse cellulaire grâce à la libération de l'hémoglobine (Situ et Bobek.,2000).

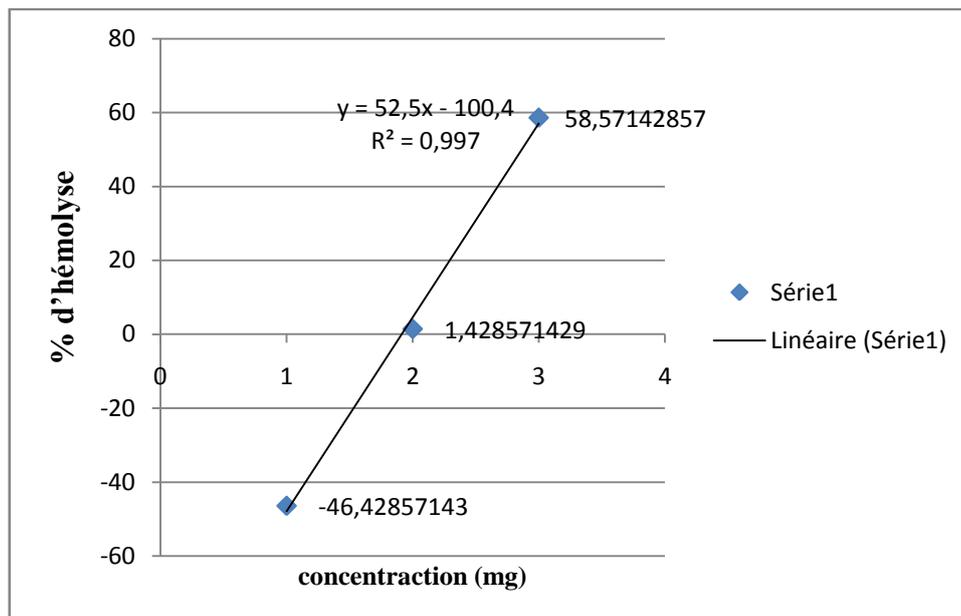
Pour que le principe actif exerce de façon efficace son activité thérapeutique, il est nécessaire que sa concentration sanguine atteigne un taux suffisant pour un effet thérapeutique mais pas supérieur au seuil de toxicité. Cette fourchette de concentration sanguine est nommée la zone thérapeutique.(Slimani.,2020)

Les résultats obtenus montrent que le pourcentage d'effet hémolytique sont directement proportionnels à l'augmentation des concentrations des extraits .

Le figure N°19 présente l'évaluation de l'effet hémolytique ,contenant une suspension érythrocytaire incubé a 60°C durant 30 min ,en présence des différentes concentrations (1.25, 2.5, 5 mg /ml), de l'extrait éthanolique les feuilles de *P.alba* et à un tube témoin négatif (tube contenant que d'eau physiologique et la suspension érythrocytaire).

Nous avons noté à partir la courbe (fig 19) l'extrait éthanolique des feuilles de *P.alba* possède un effet hémolytique élevée dans la concentration 5 mg/ml (58.57%) Cependant, le concentration 2.5 mg/ml ont montré une élévation des taux d'hémolyses qui sont presque identiques à témoin négatif.

une inhibition hémolytique est observée en ajoutant l' extrait sur des hématies soumis à un choc thermique afin de provoquer l'hémolyse ont montrés que l'extrait éthanolique des feuilles de *P.alba* peut protéger la membrane plasmique pour réduire les dommages causés par la chaleur (60°C) (-46.42%) sur les globules rouges à une concentration de 1.25 mg/ml.



**Figure 19:** Evaluation de taux d'hémolyse (%) en fonction de concentration d'extrait éthanolique de *P.alba*

*Chapitre VI*

*Discussion*

Les plantes représentent l'essentiel de la pharmacopée et l'avènement de la chimie moderne. Les analyses phytochimiques sur les extraits des végétaux est une étape préliminaire et d'une grande importance puisqu'elle révèle la présence des constituants connus par leur activités physiologiques telles que l'activité antioxydant, antibactérienne et fongique et anti-hémolytique et possédant des vertus médicinales (Sofowora, 1993). Les recherches effectuées sur les différents extraits révèlent la présence d'importants métabolites secondaires comme les polyphénols, flavonoïdes et les tanins, caractérisant les extraits des deux plantes étudiées (*Mentha spicata* et *Populus alba*) avec des intensités variables. Selon les travaux antérieurs, les espèces du genre *Mentha* sont riches en composé phytochimique (Haraguchi *et al.*, 1996 ; Ismaili *et al.*, 2001) ; ces données sont comparables avec nos résultats puisque les revus ont révélé la présence de ces composants avec des quantités importantes dans la partie aérienne et dans les bourgeons de nos plantes (car la composition des extraits éthanolique des feuilles de *Populus alba* ne sont pas identifiées dans la littérature). De point de vue biologique, ce groupe est constitué de principes potentiellement actifs rencontrés dans toute ou une partie de la plante. Ce sont des précurseurs de drogues très utiles en thérapie clinique (Sofowora, 1993).

### 1. Rendement

Extrait éthanolique de *Mentha spicata* a été obtenu par Soxhlet avec un rendement de **17,8%** ceci est en accord avec les travaux de Adjou et Soumanou.,2013 qui ont rapporté une valeur de **18,31 %** en effet des études on été réalisée par Priscilla *et al.*, 2012 on rapporté une valeur de **23,3 %** .

Les résultats obtenus par l'extrait éthanolique de *Populus alba* présente un rendement moyen de l'ordre de **22,4%** cette valeur nettement supérieure à celle des travaux de Wamidh *et al* (2010) sur le *Populus alba* présente un rendement de **3%** et celui de (Reema *et al* .,2011) de **11%**. Ces teneurs sont moins importantes que celle de nôtres.

Cette différence en rendement peut être attribuée à plusieurs facteurs dont essentiellement, l'origine, l'espèce, la période de récolte la durée de séchage et la technique d'extraction (Karousou *et al* .,2005) de plus (Marotti *et al.*, 1994) on montré que Les faibles rendements peuvent être associés à une série de facteurs tels que le génotype, les étapes de développement de la plante et les conditions environnementales que se produit dans les régions semi-arides.

### 2. Screening phytochimiques

Les résultats obtenus des teneurs en polyphénols de l'extrait éthanolique de la plante *M. spicata* est de 248,23 mg EAG/g nos résultats sont en accord avec les travaux de Bouzid et Ouamara .,(2017) qui ont rapporté une valeur de  $248,97 \pm 2,69$  mg EAG/g de l'extrait aqueux chloroforme

des feuilles de *Mentha spicata* L , en outre nos résultats sont désaccord avec les études de **Dorman et al. (2003)**, qui ont montré que l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Mentha spicata* L, a donné une valeur de 214 mg EAG/g. Cependant, d'autre recherches **Nickavar et al. 2008** ont obtenus des teneurs en polyphénols d'un extrait éthanolique de l'espèce *Mentha spicata* 150,91±5,14 µg/mg, ces valeurs sont inférieures à ceux trouvés lors de notre études.

Comparés au résultat des teneurs en flavonoïdes obtenus par notre étude 10,33 ±0,08 mg EQ/g par **Sweetie et al., 2007** qui est de 13,5±1,18 mg, cette valeur est voisine à celle obtenue par notre étude et similaire à celle obtenue par **Brahmi et al., 2012** 7.68 ± 0 .02 mg EQ/g

De plus, les résultats obtenus concernant les teneurs en polyphénols de l'extrait éthanolique de *P.alba* sont deconcorde avec les résultats trouvé par (**Boudkhili et al. 2011**) ont obtenus des teneurs en polyphénols d'un extrait méthanolique de l'espèce *Populus alba* 204,57±1,87 µg/mg, avec un teneur de flavonoïde 8,26±0,23 mg QE/g ces valeurs sont supérieur à ceux trouvés lors de notre études: 50,48 ±0,02 mg GAE/g et 6,69 ±0,03 mg EC/g respectivement.

Nous constatons que la teneur en tanins dans l'extrait éthanolique de *M.spicata* (16,25 ±0,01 mg EC/g d'extrait) est très significative et celle de l'extrait de *P.alba* (6,42 ±0,03 mg EC/g d'extrait), cela pourrait être dû à la nature biochimique des tanins condensés qui sont des polymères riche en groupements hydroxyles qui sont solubles dans les solvants polaires (**Schofield et al., 2001**).

La méthode HPLC décrite présente l'avantage de la résolution, simplicité, précision et sensibilité d'analyse ce qui nous permis d'identifier des composés spécifiques.

Les résultats suggèrent que les extraits éthanoliques de la partie aérienne de la plante *M.spicata* et les feuilles de *P.alba* contenaient plusieurs composants. L'identification des composés biochimique de l'extrait éthanolique de *M.spicata* distingué sa richesse en biomolécules.

Le profil chromatographique de l'extrait de menthe a permis d'identifier plusieurs composants chimiques avec des pourcentages différents, dont les composants majeurs sont : Menthol 41,6%, et thymol 40,2% , ces résultats sont désaccorde avec les études effectuée par **Brahmi et al. (2015)** qui a signalé que l'extrait éthanolique de *Mentha spicata* de la region de Bejaia contient 12 composés phénoliques dont le composant majeur est : Acide rosmarinique 54,3%

De plus, les résultants obtenus de l'analyse par HPLC pour l'extrait éthanolique des feuilles de *Populus alba* a permis d'identifier 10 composés phénoliques, en particulier des acides phénoliques comme l'acide sinapique. Ainsi que, génistéine 8,9% et la catéchine 56% comme composé majoritaire. ces résultats sont désaccord avec l'une des études limitées sur les composés phénoliques de *P.alba* par ceux de **Boumghar et al., (2019)**, qui à montre que l'analyse

chromatographique de l'extrait méthanolique des bourgeons de *P.alba* contient 3 composants phénoliques : acide ellagique , acide p-coumarique et kaempferole .

Ces variations peut s'expliquer que le contenu en composés phénoliques change de manière significative d'une espèce à une autre et au sein d'une même espèce, en raison des facteurs extrinsèques (température, climat....) (**Ksouri et al., 2008**). Cette variation est peut-être due à plusieurs paramètres influençant la qualité des extraits et les composés phytochimiques à extraire telles que la partie de la plante utilisée, l'origine, la période de la récolte, la taille des particules des tissus végétaux, la nature du solvant employé et le mode d'extraction réalisé, ainsi que, le standard utilisé, l'origine géographique (taux d'ensoleillement), le degré de maturité ,les conditions de stockage ,la durée d'extraction et la température (**Ncube et al., 2008 ; Das et al., 2010 ; Tiwari et al., 2011**).

### 3. Les activités biologiques

#### 3.1. Activités antioxydantes

Nos résultats de l'activité antioxydante ont montré que extraits éthanoliques des deux plantes *M.spicata* et *P.alba* a été efficace en tant que piègeur des radicaux libres FRAP et DPPH .

Les résultats obtenus montrent que la capacité de la réduction de Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> est proportionnelle à l'augmentation de la concentration d'échantillons. Les deux extraits de la plante donnent une activité réductrice.

Nos résultats concordent avec les travaux de ceux de (**Ozturk et al ; 2007, Su et al ; 2008 et Liuk et al ; 2009**) qui ont montrés que toutes augmentation de concentration d'échantillon conduit à l'augmentation de la capacité de réduction de fer.

D'après (**Benabdallah; 2017**) tous les extraits appartenant au genre *Mentha* ont la capacité de réduire le fer.

En revanche, nos résultats d'ic<sub>50</sub> de *M. spicata* et *P.alba* (CI<sub>50</sub> DPPH= 14,858 µg/ml ±0,51 et 1,382 mg/ml ±0,3 respectivement), ces résultats sont en accord avec les travaux menée par **Brahmi et al., (2015)** ont démontré *in vitro* que l'extrait éthanolique des feuilles de *Mentha spicata L* est un très bon scavenger du radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (IC<sub>50</sub>=16,2 ± 0,2 µg/ml). En effet, notre résultat montre que l'IC<sub>50</sub> de notre extrait est inférieure à celle obtenue par **Sweetie et al. (2007)** qui est de IC<sub>50</sub>=25,8 µg/ml.

De plus, une autre étude fournie par **kuchukhidze et al., (2011)** démontre que *P. alba* extrait par n-hexan possède une activité antioxydante (IC<sub>50</sub>=0,26 ± 0,02 mg/ml) est inférieure à celle de la notre.

D'autres études montrent que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (**Mariod et al ; 2009 ; Locatelli et al ; 2010**).

Cette différence est due à la richesse de *M.spicata* en composés phénoliques suivi par *P.alba* .

Cependant, la concentration en composés phénoliques est aussi influencée par la saison, Selon les études de **Bey Mostapha et al. 2014**, qui ont montre que la lumière stimule la biosynthèse des polyphénols chez les plantes par l'amplification de certaines activités enzymatiques, dont l'activité de la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) qui convertit la phénylalanine en acide coumarique, qui est le précurseur des molécules impliquées dans la synthèse des composés phénoliques.

De plus, Les polyphénols contribuent à la prévention des maladies dégénératives et cardiovasculaires (**Manach et al. 2004**). Ils participent aussi à la génération des certains antioxydants tel que la vitamine E. ils sont également capables de piéger les radicaux libres. (**Doukani et al. 2014**).

### 3.2. Activités antibactériennes et antifongiques

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits nous a révélé que les extraits testés présentent des niveaux d'activités variables en fonction des souches étudiées. Notre étude est en accord avec celle trouvée par **Barchan et al. (2015)** ont démontré par la technique de diffusion en puits que les souches *Listeria monocytogenes* 4031, *Enterococcus hirae* 4081, *Staphylococcus aureus* 976 sont sensibles vis-à-vis des extraits méthanoliques des feuilles de *Mentha spicata L* avec des diamètres supérieurs à 12 mm. Les études réalisées par de **Seyedeh et al., (2010)**, confirment nos résultats. a présenté une activité antibactérienne puissante contre les bactéries à Gram positif et négatif .En outre, nos résultats sont en accord avec ceux mentionnés par (**Wamidh et al., 2011**) en jordan, qui ont montré que l'extrait de *Populus alba* exerce une activité antibactérienne comparable à celle de l'extrait éthanolique de notre plante, avec un diamètre maximal d'inhibition de 14 mm pour *E coli*, 15 mm pour *Streptococcus aureus* et *Bacillus subtilis* 7 mm en 3mg/disque.

Les deux extraits donnent une activité antimicrobienne différents contre les souches testées grâce à leurs richesse en composés phénoliques.

De ce fait, La zone d'inhibition augmente largement avec l'augmentation de la concentration des extraits, ce qui a été constaté aussi par **Dordevic et al .,( 2007)**.

D'autres étude réalisé par **Rasooli et al ., 2008** ont remarqué que l'inhibition de la croissance est forte lorsque le puit est plus chargé. De plus, Pour l'évaluation du potentiel antimicrobien de ces

extraits, on a préféré les tester contre plusieurs cibles bactériennes, car chacune d'elle possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier.

D'après les recherches de **Brantner et al., 1996** ont démontrés que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les stéroïdes à une certaines concentration peuvent inhiber la croissance des microorganismes. Il est confirmé aussi que les flavonoïdes à caractère lipophile peuvent détruire les membranes microbiennes en augmentant la fluidité des lipides membranaires, ainsi que le nombre et la position des groupements hydroxyles présents sur le noyau aromatique des composés phénoliques peuvent entraîner la toxicité des microorganismes (**Cowan ; 1999**).

En effet, L'activité antimicrobienne dépend à la fois de la présence des composés phénoliques, et aussi de la présence de divers métabolites secondaires, de l'emplacement et le nombre des groupes d'hydroxyles (**Falleh et al ; 2008**).

De plus, La détermination de la concentration minimale fongicide des souches fongiques cibles se fait par une incorporation des différentes concentrations de l'extrait éthanolique de *P.alba* dans le milieu de culture, d'intervalles allant de 1,25 à 10 µg/ml. La souche fongique *P.viridicatum* est la plus sensible vis-à-vis l'extrait, car elle est inhibé 72,73% à une concentration de 2,5 µg/ml. Par contre, *R.stolinifer* est la plus résistante vis-à-vis cet extrait, car elle inhibé 56,25% que lorsque la concentration atteint 10 µg/ml. Cependant, *A.niger* ont été inhibées 63,08% par 2,5 µg/ml.

C'était aussi noté que le taux d'inhibition de la croissance fongique est proportionnel à la concentration de l'extrait. D'une manière générale, la diminution de la croissance en présence de l'extrait comparé au témoin pourrait s'expliquer par la présence dans ces extraits des composés phénoliques et terpéniques à activité antifongique (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006 ; Tatsadjieu, 2003**).

La rutine, l'acide caféique et la catechine, sont des composés caractérisés dans notre extraits et se sont révélés avoir des effets biologiques et thérapeutiques élevés, notamment des activités antioxydantes et anticancéreuses ainsi que la génistéine a montré qu'elle possède une activité antinéoplasique dépendante de la dose et du temps contre les lignées cellulaires de leucémies myéloïdes et lymphoïdes (**Alam et al., 2017 ; Raynal et al., 2008**). Le thymol est un phénol présente principalement dans plusieurs plantes qui s'est avérée posséder de nombreuses propriétés pharmacologiques, notamment antioxydantes, antimicrobienne, anti-cancérigène et anti-inflammatoire (**Sevilay et al., 2019**).

### 3.3. Evaluation de la cytotoxicité des extraits vis-à-vis des globules rouges

Pour qu'un nouveau produit puisse être utilisé par l'industrie pharmaceutique ou comme complément alimentaire, la première chose à vérifier est l'innocuité de ces composés vis-à-vis de l'être humain. Le premier indicateur de la toxicité chez l'être humain est le globule rouge humain. Dans nos tests biologiques, nous avons déterminé le taux d'hémolyse vis-à-vis des globules rouges humains d'un donneur unique sain. En sachant que l'hémolyse est un phénomène irréversible par lequel les globules rouges sont détruits et libèrent leurs hémoglobines (**Aguilar-Martinez et al., 2007**).

Le test hémolyse réalisée par la méthode spectrophotométrique a montré que l'extrait éthanolique de *P.alba* ne présente aucun effet toxique à des concentrations inférieures à 2,5mg/mL. L'accomplissement d'une étude toxicologique est une étape importante afin de pouvoir cerner tout effet indésirable et mieux identifier les sites d'action des substances actives.

Parmi les études effectuées au même contexte, les recherches de **Chenni & Hachelaf (2019)**, montre qu'une inhibition hémolytique est observée en ajoutant des extraits aqueux et méthanoliques des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur des hématies soumises à un choc thermique afin de provoquer l'hémolyse. Des travaux similaires ont été réalisés par **Ferradji (2011)**, où les extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été utilisés dans l'étude des activités anti hémolytique et anti inflammatoire *in vivo* chez les souris.

Aussi dans les travaux d'**Amrane & Babahani (2017)**, en utilisant l'huile essentielle de *Mentha spicata* ils ont enregistré des taux d'inhibition des hématies soumises à plusieurs tests hémolytiques : hypotonicité, traités par le triton X100, et l'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Des résultats proches ont été enregistrés dans les travaux réalisés par (**Silva et al., 2017**) sur l'huile essentielle de *Mentha pulegium* et *Mentha viridis*, des plantes appartenant au même genre que *Mentha spicata*. D'autres travaux réalisés par (**Brahmi et al., 2016**) ont montrés que l'huile de *Mentha spicata* peut traverser la membrane plasmique pour réduire les dommages causés par l'attachement des molécules oxydantes telle que H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sur les globules rouges à une concentration de 50 µg/ml. Des résultats similaires en utilisant les extraits aqueux et méthanoliques de *Citrus L* (**Larab & Makhlouf, 2017**).

Cependant, selon l'étude de (**Nezla, 2018**), l'évolution de l'activité anti-hémolytique a été inversement proportionnelle à la concentration de l'extrait de plant, c'est-à-dire, plus la concentration de l'extrait diminue plus le pourcentage d'inhibition augmente et cela a été, probablement, causé par la présence des enzymes de type protéases et phospholipase dans l'extrait protéique .

# *Conclusion et perspectives*



Les plantes sont l'une des sources importantes des médicaments et leur valeur médicinale réside dans certaines substances chimiques qui produisent une action physiologique définie sur le corps humain. Étant donné la toxicité et les effets secondaires indésirables des molécules de synthèse, Il existe une demande croissante de drogues naturelles.

Dans ce contexte, la présente étude a porté sur l'étude phytochimique et biologique d'extraits de deux plantes médicinales *Mentha spicata* et *Populus alba* L. utilisés empiriquement dans la pharmacopée traditionnelle locale, pour le traitement de divers maladies. À la lumière des résultats obtenus, il ressort de notre travail les points suivants:

- Les extraits éthanolique des deux *Plantes M. spicata* et *P.alba*, sont très riches en métabolites secondaires, particulièrement les composants phenoliques.
- L'analyse chromatographique par HPLC des extraits éthanoliques nous a permis d'identifier les acides phénoliques, l'acide trans-cinnamique, des flavonoïdes (Quercétine) , et Thymol & Menthols (composants majeurs) à partir de l'extrait éthanolique de *M. spicata* et génistéine & catéchine de l'espèce *P. alba*.
- La diversité en phytoconstituants de la partie aérienne de la plante *M. spicata* et les feuilles de *P. alba* confère aux deux plantes étudiées des propriétés antioxydantes remarquables. Les CI<sub>50</sub> les plus intéressantes ont été obtenus par les extraits éthanolique;
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *M. spicata* et *P.alba*, réalisée *in-vitro* par la méthode de diffusion de puits sur gélose et des microdilutions en milieu liquide, montrent que les différentes souches testées présentent des degrés variables de sensibilités vis-à-vis des extraits. CMI plus de 3,125 mg/mL. Ce pendant, l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de *P.alba* s'est révélée fort vis-à-vis des souches de moisissures;

Le test hémolyse réalisée par la méthode spectrophotométrique on montré que l'extrait éthanolique de *P.alba* ne présentent aucun effet toxique à des concentrations inférieures à 2,5 mg/mL, l'accomplissement d'une étude toxicologique est une étape importante afin de pouvoir cerner tout effet indésirable et mieux identifier les sites d'action des substances actives.

Nous pouvons dire que les espèces *Mentha spicata* et *Populus alba*. peuvent être des sources gorgées de substances naturelles dotées de propriétés biologiques et thérapeutiques intéressantes.

Ce travail reste préliminaire et ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances responsables des activités biologiques, il est intéressant d'approfondie cette étude par purification des molécules phytochimiques responsables de ces activités et évaluer leurs effet anti cancéreux *in vivo*.

# *Références bibliographiques*



**-A-**

- **Abootalebian, M., Keramat, J., Kadivar, M., Ahmadi, F. and Abdinian, M. (2016).** Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different *Mentha spicata* and *M. longifolia* accessions. *Annals of Agricultural Science*, 61: 175-179.
- **Adam M., Berset C., Kessler M., Hamburger M., 2009.** Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders- A survey of European herbals from the 16th and 17th century. *J. Ethnopharmacol* 121(3): 343-359.
- **Alaee, S., Rezaee, S. and Ziaei, G. (2005).** Evaluation of the Effects of *Mentha Spicata* Extract on In- Vitro Maturation of Mouse Oocytes. *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies*, 2(2) : 200-203.
- **Alam P, Parvez M.K, Arbab A.H, Al-Dosari M.S. 2017.** Quantitative Analysis of Rutin, Quercetin, Naringenin, and Gallic Acid by Validated RP- and NP-HPTLC Methods for Quality Control of anti-HBV Active Extract of *Guiera Senegalensis*. *Pharmaceutical Biology*, 55: 1317-1323.
- **Almeida, P.P., Mezzomo, N. and Ferreira, R.S. (2012).** Extraction of *Mentha spicata* L. Volatile Compounds: Evaluation of Process Parameters and Extract Composition. *Food Bioprocess Technol*, 5: 548–559.
- **Alper GÖKBULUT, Engin ŞARE R.(2010).** Simultaneous determination of phenolic compounds in *Mentha spicata* L. SUBSP. *SPICATA* by RPHPLC, *Turk J. Pharm. Sci.* 7 (3), 249254,
- **Amrane, H & Babahani, M. (2017).** Recherche des extraits végétaux à activité Anti-hémolytique. Université de Bejaia.
- **Arumugam, P., Priya, N. G., Subathra, M. and Ramesh A., 2008.** Anti-inflammatory activity of four solvent fractions of ethanol extract of *Menthaspicata* L. investigated on acute and chronic inflammation induced rats. *Environ.Toxicol.Phar.*, 26(1): 92-95.

**-B-**

- **Bagheri, S., Ebrahimi, M. A., Davazdahemami, S. and Moghadam, J. M. (2014).** Terpenoids and Phenolic Compounds Production of Mint Genotypes in Response to Mycorrhizal Bio-Elicitors. *Technical Journal of Engineering and Applied L.* 339-348.
- **Barchan A., Bakkali M ., Arakrak A.,Laglaoui A (2015).** Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de *Mentha* : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. *Lavoisier SAS* :1-9

- **Barek S.(2021).** Etude phytochimique et biologique d'extraits de deux plantes médicinales *Genista sahara* et *Glycyrrhiza glabra*. THESE DOCTORAT En Biochimie. Université Aboubekr Belkaïd –Tlemcen.
- **Belkhodja H.,2016.** Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara : Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité biologique. Thèse de doctorat. Université Mustapha Stannouli-Mascara.p45.
- **Benabdallah H,(2015).** Techniques d'extraction, de purification et de conservation. Chap. 2: Types d'extraction solide-liquide. Université Ferhat Abbas de Sétif :13-20.
- **Benghanou M., (2012).** La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical Chettia (Alger) 56.
- **Benhelima A., (2021).** Genie Pharmaceutique. Chap I :Pharmacognosie Général: 1.
- **Bensaid,A., 2011.**Effet de quelques extraits végétaux sur une population de ecologie des communautés biologiques.Alger :ENSA.El Harrach ,71.
- **Benzie I.F.F.et Strain J.J.,(1996):** The ferric reducing ability of plasma as ameasure of "antioxidant power" the FRAP assay. Analytical Biochemistiy.
- **Bonhomme L., 2009.** Protéome Foliaire et Efficience d'Utilisation de l'Eau chez le Peuplier.Thèse doctorat.
- **Boudkhili.M, H. Greche, D. Boust, A. Farah, A. El Ouali Lalami, L. Aarab,(2011).** Antioxidant Activities of Some Moroccan's Plants. *International Review of Chemical Engineering (I.RE.CH.E.), Vol. 3, N. 5 ;p537-541.*
- **Bougandoura, N. and Bendimerad, N. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*, 9 : 14-19.
- **Boumediou A., Addoun S. (2017).** Étude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie) (Thèse de doctorat en Pharmacie). Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen, Algérie.p130
- **Boumghar N., Behidj N., Ksouri R ;2019.**Antimicrobial and antibiofilm activities of phenolic compounds extracted from *Populus nigra* and *populus alba* buds (Algeria) ; *Brazilian Journal of Pharmaceutical Science* 55 :1-10.
- **Bourguet E., Auge C.** Les techniques de laboratoire: Purification et analyse des composés organiques.Chap. 2:L'extraction. Ellipses Edition Marketing S.A.,2008: 19-27.
- **Bouزيد O, Ouamara L.,(2017).** Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits des feuilles de *Mentha spicata L*, Mémoire de master, Université A. Mira - Bejaia.

- **Brahmi .M· D.E.H. Adli · M.Y. Boufadi · W. Arabi · K. Kahloula · M. Slimani (2021).** Antimicrobial and Antiochratoxic Activities of *Mentha spicata* Essential Oil. *Phytothérapie* ;p1-7.
- **Brahmi M., 2019.** Evaluation des effets prophylactique de l'administration d'un extrait de *Mentha Spicata* (menthe verte) chez les ratswistar co-exposés au plomb et manganèse. Etude biochimique, histologique et neurocomportementale.,thèse de Doctorat en Biochimie Et Toxicologie Expérimentale, Universite Dr.Moulay Tahar -Saida ,p45-46.
- **Brahmi Fatiha, Madani Khodir, Dahmoune Farid, Rahmani Tiziri, Bousbaa Karima, Oukmanou Sonia, Chibane Mohamed,(2012).**Optimisation Of Solvent Extraction Of Antioxidants (Phenolic Compounds) From Algerian Mint (*Mentha spicata* L.), *Pharmacognosy communications.*; 2(4):72 - 86.
- **Brahmi, F. (2016).** Etude phytochimique et activités biologiques de quelque espèces du genre mentha : cas de *M.spicata* L., *M.puleguim* L. et *M.rotundifolia* L. huds. Thèse doctorat, Université Abderrahmane Mira Bejaia, p31-32.
- **Bruneton J (2009).** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales, 4ème édition de médicales internationales (Tec et Doc), Paris: 1288.

**-C-**

- **Chenni, A & Hachelaf, R. (2019).** Évaluation de l'activité antioxydante et anti inflammatoire (*in vitro*) de deux extraits des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. Et essai (*in vivo*) de la toxicité aigüe de l'un de ses extraits. Université de Biskra p :24-27.
- **Chung Y.C., Chang C.T., Chao W.W., Lin C.F., Chou S.T., (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMRNK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- **Copyright American Cancer Society. (2016).** Last Medical Review: 12/08/2015.

**-D-**

- **Das K, Tiwari R.K.S, Shrivastava D.K. 2010.** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4: 104-111.
- **Debaisieux F. et Polese J. (2009).** Plantes médicinales. Edit Debaisieux. France.
- **Dickmann D.I., Kuzovkina J., 2008.** Poplars and willow of the world, with emphasis on silviculturally important species. *In: Isebrands JG, Richardson J (eds) Poplars and*

willows in the world: meeting the needs of society and the environment. FAO/IPC, Rome, Italy, 135 p-Chap 2.

- **Dorman, H. J. D., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y. and Hiltunen, R. (2003).** Antioxydant properties and composition of aqueous extractes from mentha spicata,hybrids, varieties and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4563-4569.
- **Durand T., 2009.** Approche protéomique des stress abiotiques chez *Populus tremula* x *P. alba*. Thèse doctorat.

**-E-**

- **Euloge S. ADJOU et Mohamed M. SOUMANOU.(2013).** Efficacité des extraits de plantes dans la lutte contre les moisissures toxigènes isolées de l'arachide en post-récolte au Bénin. *Journal of Applied Biosciences* 70:5555– 5566.

**-F-**

- **Ferradji, A., (2011).** Activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcoolique et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*, Mémoire de magister, Université de Ferhat Abbas-Sétif, Alger.

**-G-**

- **Greenaway W., English S., May J., Whatley F. R., 1991.** Chemotaxonomy of section Leuce poplars by GC-MS of bud exudates. *Biochem. Syst. Ecol.* 19, 507-518.

**-H-**

- **Hajighasemi, F., Hashemi, V. and Khoshzaban., F. (2011).** Cytotoxic effect of Mentha spicata aqueous extract on cancerous cell lines in vitro. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(20) : 5142-5147.
- **Haraguchi H., Saito T., Ishikawa H., Date H., Kataoka S. Tamura Y., Mizutani K., (1996).** *Planta Med.*, , 62, 217.
- **Harborne J. B., Williams C. A., (2000).** Advances in flavonoids research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481–504.
- **Hélène Ilbert, Valter Hoxha, Lamia Sahi, Alix Courivaud et Claude Chailan, (2016).** Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché

mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. Série B : Etudes et Recherches Numéro 73

- **Heller W., Forkmann G, (1993).** Biosynthesis of flavonoids. Chapman and Hall,London: 499-535.
- **Hopkins W. G. (2003).** Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A,Paris: 514.

**-I-**

- **Isidorov, V. A., Vinogorova, V. T. (2003).** GC-MS Analysis of compounds Extracted from Buds of *Populus balsamifera* and *Populus nigra*. *Z. Natureforsch*, 58, 355-360.
- **Iserin P., Maasson M., Restellini J. P., Ybert E., De Lagge De Meux A. Moulard F., Zha E., De La Roque R., De La Roque O., Vican P. Deelesalle -Feat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J., Botrel A. (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong: 335.
- **Ismaili H., Tortora S., Sosa S., Fkih -Tetouani S., Ilidrissi A., Della Loggia R., Tubaro A., Aquino R., (2001).***J. Pharm. & Pharmacol.*, 53, 1645.
- **IPCC., 2007.** Climate change 2007: the physical science basis. Summary for policymakers. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.

**-J-**

- **Jean-Claude R., Dominique M., Gérard D., 2008.** Flore forestière française : Région méditerranéenne, Forêt privée française, p. 807.
- **Jean-Yves Chabrier. (2010)** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie .Sciences pharmaceutiques. fhal-01739123.
- **Julkunen-Tiitto R. 1985.** Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33: 213-217.
- **Jayanthi, P. and Lalitha, P. (2011).** Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia Crassipes* (Mart) Solms. *International Journal of Pharmacy and Pharemacetical sciences*, 3 (3): 126 – 128.
- **Jiri D, Ondrej Z, Jiri S, Branislav R.N, Petr B, Miroslava B, Jindrich K, Jaromir H, Borivoj K, Rene K, Vojtek A. 2013.** Electrochemical tools for determination of

phenolic compounds in plants. *International Journal of Electrochemical Science*, 8: 4520-4542.

**-K-**

- **Kalla. Ali. (2012).** Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*. Thèse de doctorat. Université Mentouri – Constantine.p155.
- **Kholkhal.Fatima.(2014).** Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp coloratus et ssp euciliatus (Thèse de doctorat en Biologie).Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen, Algérie.p101-105.
- **Kaloustian J, Hadji-Minaglou F. 2013.** La connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie : Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée : Springer
- **Kim D.O., Chun O.K., Kim Y. J., Moon H.Y., et Lee C.Y. (2003)** Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51(22), 6509-6515.
- **Karagozier, A.; Erdag, B.; Calmaz Emek, Y., (2008):** Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*, *Food Chemistry*, 111: 400.
- **Kuchukhidze J.,Jokhadze M.,Murtazashvili T .,Mshvildadze V(2011).**Antioxydant polyphenols from *Populus Alba* growing in Georgia.*Georgia medicinal news* ;N10(199).
- **Ksouri R, Megdiche W, Falleh H, Trabelsi N, Boulaaba M, Smaoui A, Abdelly C. 2008.** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus de Biologies*, 331: 865-873.
- **Karoussou R, Koureas DN, Kokkini S.(2005).** Essential oil composition is related to the natural habitats : *Corido Thymus capitatus* and *Satureja thymbra* in Natura 2000.*Phytochemistry* ;66 :2668-73.

**-L-**

- **Laggoune, S., Öztürk, M., Erol, E., Duru, M. E., Abaza, I., Kabouche, A. and Kabouche, Z. (2016).** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oil of *Mentha spicata* L. from Algeria. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7 (11): 4205-4213.

- **Larab., S & Makhlof., A. (2017).** Caractérisation phytochimique et activité antihémolytique des extraits de Citrus. Université de Bejaia.
- **Lardry J-M, Haberkorn V (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles. Kinesither Rev; 61: 14-7. Larousse médicale (2001). 3ème Ed Larousse, Boulogne.
- **Leila .L (2015).** Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*.
- **Li C., 2000.** Population differences in water-use efficiency of *Eucalyptus microtheca* seedlings under different watering regimes. *Physiol Plant* 108:134–139.
- **Ling W. H., Jones P. J. H. (1995).** Dietary phytosterols of metabolism benefits and side effects. *Review life science*, 57: 195-206.
- **Locatelli M., Travaglia F., Coisson J.D., Martelli A., Stevigny C., Arlorio M., (2010).** Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*.

### -M-

- **Marotti M, Poccaglia R, Giovanelli E, Deans SG, Eaglesham E.(1994).** Effects of planting time and mineral fertilization on peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil composition and its biological activity. *Flavour Fragr ;j.9(3),125-129*.
- **Mariod A.A., Ibrahim R.M., Ismail M., Ismail N., (2009).** Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*.
- **Moatti Roger. (1990).** La phytothérapie. *Revue des Deux Mondes*.p10.
- **Moon, H.K., Hong, S.P., Smets, E. and Huysmans, S. (2009).** Micromorphology and character Evolution of Nutlets in Tribe Mentheae (Nepetoideae, Lamiaceae). *Systematic Botany*, 34(4): 760-776.

### -N-

- **Nanekarani, S., Goodarzi, M. and Heidari, M. (2012).** The Effect of Different Levels of Spearmint (*Mentha Spicata*) Extract on Immune System and Blood Parameters of Broiler Chickens. *APCBEE Procedia*, 4: 135 – 139.
- **Ncube N.S, Afloyan A.J, Okoh A.I. 2008.** Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology*, 7: 1797-1806.

- **Nezla, S. (2018).** Optimisation de l'extraction et étude des activités antibactérienne et anti-hémolytique des protéines de l'ail: *Allium Sativum*.
- **Nickavar B., Alinaghi A., Kamalinejad M. (2008).** Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* Species. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 7 (3): 203-209.
- **Nogaret-Ehrhart A-S (2008).** La phytothérapie : se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles, Paris.

**-O-**

- **Orhan, I. E., Ozcelik, B., Kartal, M. and Kan, Y., 2012.** Antimicrobial and antiviral effects of essential oils from selected *Umbelliferae* and *Labiatae* plants and individual essential oil components. *Turk.J.Biol.*, 36: 239-246.
- **Osborn A. E., lanzotti V. (2009).** Plant-derived Naturels Products synthesis,function and application. Édition Springer, New York : 11-35.
- **Oyaizu, M. (1986)** Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44, 307–315.

**-P-**

- **Paolo,F,2015.**Définition des différents extraites des plantes.
- **Pelt J. (1980).** Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris: 221.
- **Pokorny J. et ai, (2001):**Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead
- **Ponce A.G., fritz R., DEL Valle C., roura S.I., (2003).** Antimicrobial activity of essentiel oils on the native microflora of organic Swiss chard. Libensmittel wissenschaftund technology
- **Priscilla P. Almeida & Natália Mezzomo & Sandra R. S. Ferreira.(2012).** Extraction of *Mentha spicata* L. Volatile Compounds:Evaluation of Process Parameters and Extract Composition .,Food Bioprocess Technol:548–559.

**-R-**

- **Raja .Se.,Beji .Wi .,Aidi. Wa Hamdi.Am.,Rabeb.Te .,Saidani To.,Mokhtar. La.,Karray.Bo (2017).**Antioxidant and hepatoprotective effects of *Asparagus albus* leaves in carbon tetrachloride-induced liver injury rats ;J Food Biochem.:p1-11.

- **Raynal N, Momparler L, Charbonneau M, Momparler R.L. 2008.** Antileukemic activity of genistein, a major isoflavone present in soy products. *Journal of Natural Product*, 71 ; 3-7.
- **Reema Al-Hussaini, and Adel M. Mahasneh.(2011).** Antibacterial and Antifungal Activity of Ethanol Extract of Different Parts of Medicinal Plants in Jordan., *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences* ;p57-69.
- **Ribéreau-Garyon.P, (1968)** : Les composés phénoliques des végétaux.Edition Dunod Paris.
- **Roiron P., Ali A.A., Guendon J.-L., Carcaillet C. et Terral J.F., 2004.** Preuve de l'indigénat de *Populus alba* L. dans le bassin méditerranéen. *C.R. Biologies* 327:125-132.

-S-

- **Sadique J, Al-Rqobahs WA, Bughaith, EIGindi Ar.(1989).**The bioactivity of certain medicinal plants on the stabilization of RBS membrane system. *Fitoterapia.*; 60:525-532.
- **Sakat S, Juvekar AR, Gambhire MN.(2010).** In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. *International Journal of Pharma and Pharmacological Sciences*; 2(1):146-155.
- **Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., et Saura-calixto F.(1998).** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal Science Technology International.* 8, 121-137.
- **Sevilay Gursul, Ihsan Karabulut, Gokhan Durmaz.2019.** Antioxidant efficacy of thymol and carvacrol in microencapsulated walnut oil triacylglycerols. *Food Chemistry* 278 ;p 805–810.
- **Sarni-Manchado P.Veronique C.(2006).** Les polyphénols en agroalimentaires. *Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France):* 398.
- **Schofield, P., Mbugua, D. M. and Pell, A. N. (2001).** Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 21-40.
- **Shinde UA, KR Kulkarni, A S Phadke, A M Nair, Dikshit V J Mungantiwar and M N Saraf. (1999).** Mast cell stabilizing and lipoxygenase inhibitory activity of *Cedrus deodara* (Roxb.) Loud. *Wood Oil. Indian J Exp Biol*; 37(3): 258-261.
- **Silva, L. F., das Graças Cardoso, M., Preté, P. S. C., Teixeira, M. L., Nelson, D. L., Magalhães, M. L., ... & Marcussi, S. (2017).** Essential Oils from *Mentha viridis* L and

*Mentha pulegium* L: Cytogenotoxic Effects on Human Cells. *American Journal of Plant Sciences*, 8(6), 1423-1437.

- **Singleton V.L. et Rossi J.A. (1965)** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. 16, 144-153.
- **Slimani.M .,(2020)**. Pharmacologie-Toxicologie.Chap I :Pharmacologie générale: p9-10.
- **Sofowara A. (1993)**.Medicinal Plants And traditional Medicine In Africa. 2e Edition. Spectrum Books Ltd, Ibadan, Nigeria.
- **Soysal, Y. (2005)**. Mathematical Modeling and Evaluation of Microwave drying Kinetics of mint (*Mentha spicata* L.). *Journal of Applied Sciences*, 5(7): 1266-1274.
- **Sun, B., Ricardo-DA-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998)**. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4267–4274.

**-I-**

- **Tarabet A.A., Toumi N. (2017)**. Contribution à l'étude ethnopharmacologique des plantes médicinales utilisées par voie externe en Kabylie (Thèse de doctorat en Pharmacie). Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, Algérie.
- **Tadesse M, Gulliksen B (2008)** .Screening for antibacterial and antifungal activities in marine benthic invertebrates from northern Norway. *J Invertebr Pathol* 99:286–93.
- **Talbi, H., Boumaza, K.M., Talbi, J. and Hilalai, A. (2015)**. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Mate-Environ. Sciences*, 6 (4): 1111-1117.
- **TELA BOTANICA., 2010**. Association « *Populus alba* L. », sur <http://www.tela-botanica.org>.
- **Tiwari P, Kumar B, Kumar M, Kaur G, Kaur H. 2011**. Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1: 98-106.
- **Tomás-Barberán F.A, Iniesta-Sanmartin E, Ferreres F, Tomás-Lorente F. 1990**. High Performance Liquid Chromatography, thin layer chromatography and ultraviolet behavior of flavones aglycone with unsubstituted B rings. *Phytochemical Analysis*, 1: 44-47.

**-W-**

- **Wamidh H., Talib A., Mahasneh M., 2010.** Antiproliferative Activity of Plant Extracts Used Against Cancer in Traditional Medicine. *Sci Pharm.*; 78: 33–45.
- **Wichtl M., Anton R., (2009).** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition Lavoisier, Paris : 38, 41.

**-Y-**

- **Yanishlieva N.V., Marinova E.M., Gordon M.H. & Raneva V.G., 1999.** Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chem.* 64: 59 66.

**-Z-**

- **Zekri, N., Elazzouzi, H., Driouche, A., Satrallah, A., Belghiti, M. A. and Zair, T. (2016).** Effect of Geographic Locations on Chemical Composition of *M. Spicata* L. Essential oils from Moroccan Middle-Atlas. *Der Pharmacia Lettre*, 8 (4):146-150.

# *Annexes*

**Annexes N°1 : La préparation des solutions****Solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe$  à 1 % :**

Mélanger 1ml de ferricyanure de potassium avec 100ml de l'eau distillée.

Donc : 2,5g 250ml de  $H_2O$ .

**Solution de TCA à 10% :**

Mélanger 10g de TCA dans 100 ml de l'eau distillée.

Donc : 25g 250ml de  $H_2O$ .

**Solution de  $FeCl_3$  à 0,1% :**

Mélanger 0,1ml de  $FeCl_3$  dans 100ml de l'eau distillée.

Donc : 0,4g 400 ml  $H_2O$ .

**Solution tampon phosphate à 0,2M et pH= 6,6 :**

**a. Solution 1 :**  $Na_2HPO_4 \rightarrow 28,4g + H_2O$  pour compléter 1L.

Donc : 28,4g  $\rightarrow$  1000ml

X= 7,1g  $\rightarrow$  250ml

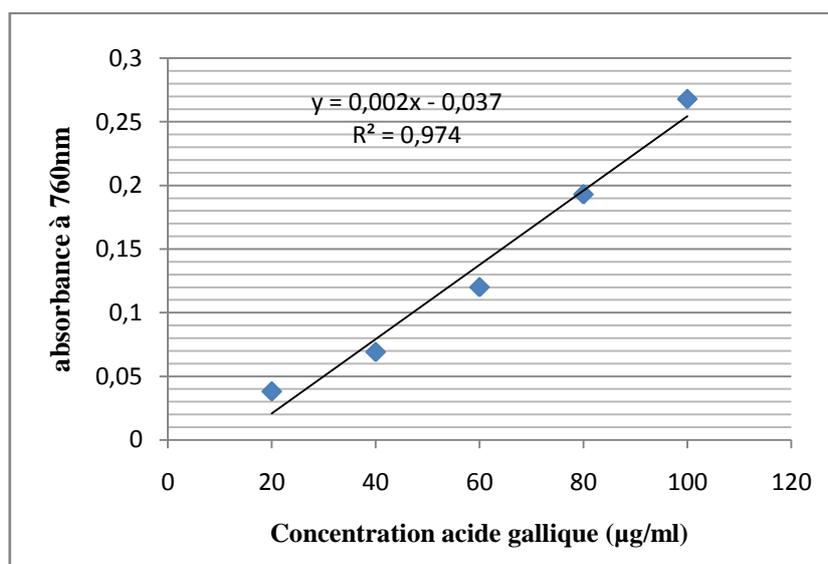
**b. Solution 2 :**  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O \rightarrow 31,21g + H_2O$  pour compléter 1L.

Donc : 31,21g  $\rightarrow$  1000ml

X= 7,8g  $\rightarrow$  250ml

En fin, Phosphate buffer à 0,2M et pH= 6,6 est un mélange de solution 1 et solution 2 dont le volume 37,5ml et 62,5ml respectivement.

**Annexes N°2 :** Courbes d'étalonnage utilisés pour le calcul des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.



**Figure 1 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

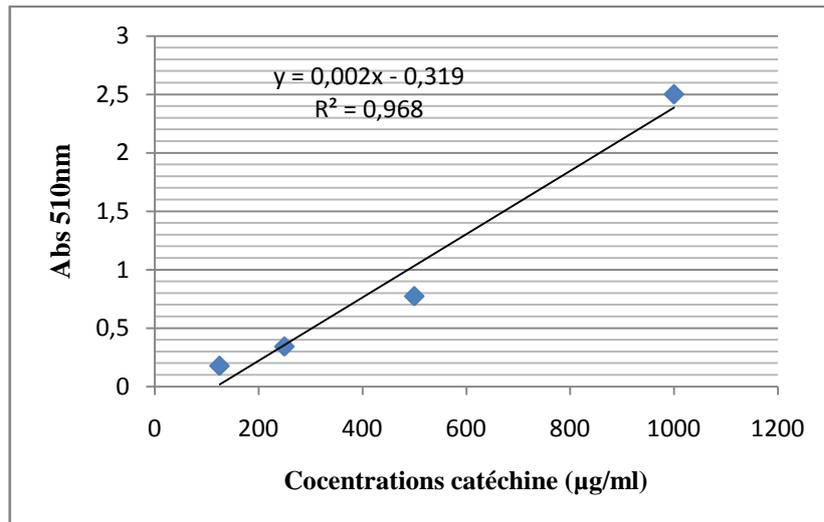


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

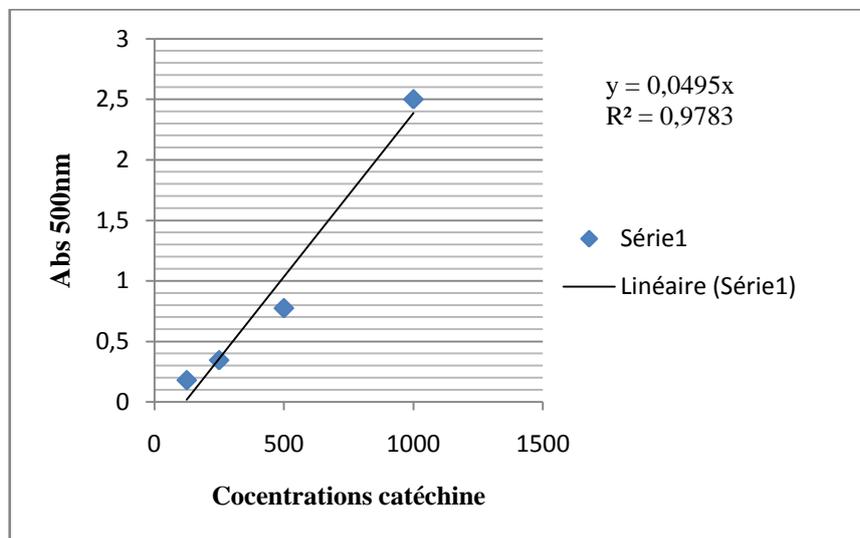


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins.

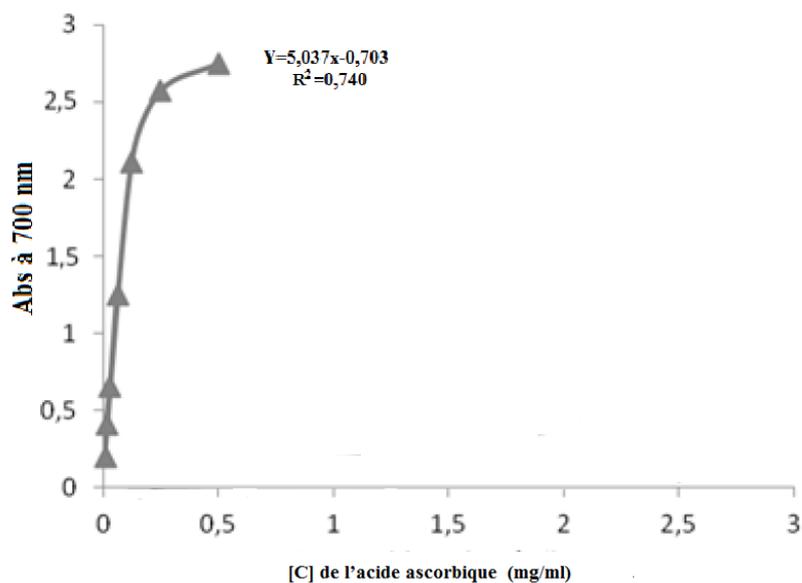
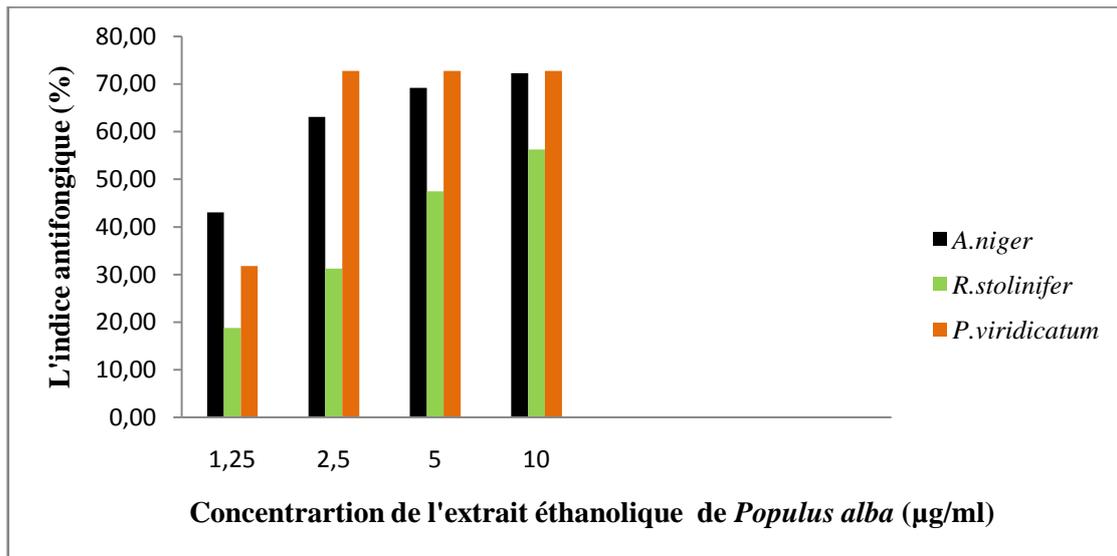


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le dosage de FRAP.

**Annexes N°3 : Préparation de milieu de culture**

Le milieu de culture PDA comporte :

- 200g Pomme de terre
- 20 g glucose
- 20g Agar
- 1L de L'eau distille



**Figure 5:** Inhibition des différentes souches en (%) à l'action de différentes concentrations de l'extrait éthanolique de *Populus alba*

**Annexes N°4 : Extraction de l'huile essentielle de *M.spicata* par entraînement à la vapeur d'eau**

**Figure 6:** Extraction de l'huile essentielle de *M.spicata* par entraînement à la vapeur d'eau