

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique
Université Chadli Bendjedid
El Tarf



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي جامعة
الشاذلي بن جديد
الطارف

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

جامعة الشاذلي بن جديد
UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID

كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم البيولوجيا



Mémoire de Fin d'Études

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2
Recherche

« Biotechnologie et valorisation des plantes »

THÈME

**Valorisation d'une espèce de la famille des scrofulariacées
« *Verbascum sinuatum. L* » dans la région d'el Tarf**

Présenté Par : BOUKOUCHE CHAIME ET BENNEMER GHOZLENNE

Devant le jury composé de :

Dr. Touil wided	MCB	Présidente	UCBET
Dr. Gheribe Imene	MCA	Examinatrice	UCBET
Dr. Fellah Imene	MCA	Promotrice	UCBET

Année universitaire 2022 - 2023

Remerciements

S'il faut beaucoup de motivation, de rigueur et d'enthousiasme pour mener à bien ce

Mémoire, alors, ce travail de recherche a eu besoin de la contribution de plusieurs

Personnes, que nous tient à remercier !

Nous premiers remerciements s'adressent à Dieu, créateur de toutes choses, pour son

Souffle et tous ses innombrables bienfaits.

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à Madame Fellah imene pour avoir

Dirigé ce mémoire. Nous avons eu le plaisir de travailler sous votre direction. Nous vous

Remercie pour votre gentillesse et spontanéité avec lesquelles vous avez dirigé ce travail,

Ainsi que pour votre disponibilité et vos conseils que grâce à eux nous avons pu améliorer

Notre travail. Nous n'espérons que votre confiance que vous vous nous accordez et que ce

Mémoire est à la hauteur de vos espérances.

Nous tenons à remercier les membres du jury Madame Touil wided . Et Madame Gherib
imene

Pour leur présence, pour leur lecture attentive de ce mémoire, ainsi que pour les remarques

Qu'ils m'adresseront lors de cette soutenance afin d'améliorer mon travail.

Nos remerciements le plus sympathique à tous nos collègues de promotion BTVP pour les

Bons moments que nous avons passés ensemble.

De peur d'en avoir oublié, nous souhaitons remercier tous ceux qui ont contribué de près où

Loin à l'élaboration de mémoire ainsi qu'à la réussite de parcours universitaire.

Dédicace


Je tiens à dédier cet humble travail à :


 *A ma tendre mère Jeannette et mon très cher père Abderrahmane*

 *A mes sœurs : Wahiba· Laila Que Dieu lui fasse miséricorde et lui pardonne ·*


Ilham



 *Mes frères : Rafik· Rida· Issam· Abderezzak*

 *A mon binôme : Ghozlenne Bennemer*

 *A mes meilleurs amis : Malek et Ghozlenne*

 *A mes petites : Aya· Kawther· Oumaima· Khadija· Rahma*

 *A : Ilyess· Hamza· Chamssou· Nidal· Abdou· Yahya et Minou*

 *A tout ceux qui m'aiment et que j'aimeBoukouche Chaima* 

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

- *A ma très chère maman **Djahida** qui a œuvré ma réussite, de par son amour, tous ses sacrifices et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Puisse Dieu le tout puissant, te préserver et d'accorder santé, langue vie et bonheur.*
- *A mon très cher papa **Mabrouk** qui peut être fier et trouver ici le résultat de longue années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Merci pour le soutien permanent venu de toi. Dieu tout puissant te farde et te procure santé.*
- *A mes belles sœurs : **Fairouz, Amel, Nadia, Fahima, Chaima** et mon cher frère : **Bilel** et sa femme : **jouna** dont la présence ma toujours donner la force d'avancer.*
- *A mes nièces et mes neveux : **Haithem, Sadjed, Lina, Ranime, Yasmine, Yanis, Yazan.***
- *A mes chères amies spécialement : **Malak, Chaima, Houyem.***
- *A ceux qui ont chers à mon cœur.*

Ghozlène

Résumé

Notre travail a été réalisé sur une plante médicinale *Verbascum sinuatum*, En arabe (Saleh el andar) fait partie de La famille des *Scrofulariaceae* est une plante herbacée bisannuelle très répandue dans la région d'El Tarf.

Ce travail a porté sur une étude de la région, une enquête ethnobotanique dans la région d'étude en vue d'évaluer l'intérêt et l'usage de cette plante chez la population ciblée, une étude histologique, un screening photochimique et enfin étude de l'activité antibactérienne.

Les résultats de l'enquête ethnobotanique ont enregistré une connaissance remarquable de la plante mais elle est peu utilisée par la population de cette région. L'étude histologique a montré une variation dans les tissus végétatifs. Les tests réalisés sur des différentes préparations de la partie aérienne et la partie souterraine de la plante ont révélé la richesse de cette dernière en métabolites secondaire qui montre une activité antibactérienne remarquable avec les 2 types de bactéries (*Escherichia coli* et *klebsiella pneumoniae*).

Mots clés : *Verbascum sinuatum*, *Screening photochimique*, *enquête ethnobotanique*, *Métabolites secondaire*, *activité antibactérienne*.

Summary

Our work was carried out on a medicinal plant *Verbascum sinuatum*, In Arabic (Saleh el andar) is part of the *Scrophulariaceae* family is a biennial herbaceous plant widespread in the region of El Taref.

This work focused on a study of the region, an ethno botanical survey in the study region to assess the interest and use of this plant in the target population, a histological study, photochemical screening and finally a study of the antibacterial activity.

The results of the ethno botanical survey recorded a remarkable knowledge of the plant but it is little used by the population of this region. The histological study showed a variation in the vegetative tissues. The tests carried out on various preparations of the aerial part and the underground part of the plant revealed the richness of the latter in secondary metabolites and also it shows a remarkable antibacterial activity with the 2 types of bacteria (*Escherichia coli* and *klebsiella pneumoniae*).

Keywords: *Verbascum sinuatum*, *Photochemical screening*, *ethnobotanical investigation*, *Secondary metabolites*, *antibacterial activity*.

ملخص

تم تنفيذ عملنا على نبات طبي *Verbascum sinuatum*، باللغة العربية (صالح لندار) هو جزء من عائلة *Scrophulariaceae* هو نبات عشبي منتشر في منطقة الطارف.

ركز هذا العمل على دراسة المنطقة، ومسح عرقي نباتي في منطقة الدراسة من أجل تقييم الفائدة من هذا النبات واستخدامه في السكان المستهدفين، ودراسة نسيجية، وفحص كيميائي ضوئي، وأخيراً دراسة النشاط المضاد للبكتيريا. سجلت نتائج الدراسات العرقية للنبات في منطقة الطارف انتشارها وشهرتها بين سكان المنطقة بنسبة 60 بالمئة نظراً لانتشار هذه النبتة.

حيث أظهرت الدراسة النسيجية وجود تباين في الأنسجة الخضرية وتنوعها.

وكشفت الاختبارات التي أجريت على المحلول المائي السائل من الجزء العلوي والجزء السفلي من النبات عن ثراء هذا

الأخير في نبات يحتوي على المركبات الفيتو كيميائية التالية المركبات الفينولية

الكومارينات، النينات، (الزيوت الطيارة، السكريات، القلويدات، الصابونيات) يحتوي أيضاً على المركبات الفيتو كيميائية

التالية المركبات الفينولية، الزيوت الطيارة، السكريات، القلويدات، مما يدل على نشاط مضاد للجراثيم مع نوعي البكتيريا

(*Escherichia coli* و *klebsiella pneumonia*)

الكلمات المفتاحية: *Verbascum sinuatum*، الفحص الكيميائي الضوئي، التحقيق العرقي، المستقلبات الثانوية، النشاط

المضاد للبكتيريا •

Liste des tableaux

N	Titre	Page
01	Classification systématique de <i>Verbascum sinuatum</i>	17
02	Les métabolites secondaires de <i>Verbascum sinuatum</i> et ses activités biologiques	23
03	Testes phytochimiques des extrait du <i>Verbascum sinuatum</i>	57
04	Degré de la sensibilité des souches bactériennes testée a l'extrait de <i>Verbascum sinuatum</i>	60

Liste des figures

N	Titre	Page
01	Planche botanique de la famille des <i>scrophulariaceae</i> selon la classification classique	13
02	Répartition mondiale de la famille des scrofulariacées	14
03	Les feuilles de <i>Verbascum sinuatum</i>	19
04	Les fleurs des <i>Verbascum sinuatum</i>	20
05	les trois principales classes de métabolites secondaires	22
06	Localisation géographique de la région d'el taraf	30
07	La récolte de la plante de <i>Verbascum sinuatum</i> a la région d'el taraf	32
08	Le séchage de la plante de <i>Verbascum sinuatum</i>	32
09	La conservation	33
10	La réalisation des coupes histologiques (feuilles et racines)	34
11	Coloration des parois	35
12	Observation des coupes histologiques sous microscope optique	36
13	L'extraction par hydro-distillation des feuilles de la verbascum sinuatum	37
14	Préparation de l'extrait aqueux (feuilles et racines)	38
15	Préparation de l'extrait méthanoïque (feuilles et racines)	38
16	Les différentes dilutions de l'activité anti bactérienne	42
17	Les souches bactériennes utiliser	43
18	Préparation du gélose nutritive et Mueller Hinton	45
19	Préparation des inoculum	46
20	Incubation à 37C°	47
21	Pourcentage de la connaissance de verbascum sinuatum dans la région Del Tarf	48
22	Pourcentage de l'utilisation de Verbascum sinuatum dans la région d'el Tarf selon les sexes	49
23	Pourcentage de l'utilisation de la plante selon le mode d'emploi	50
24	Pourcentage de l'utilisation de la plante selon partie utilisée	51
25	Pourcentage de voie de l'utilisation	52
26	Pourcentage de l'utilisation thérapeutique de <i>Verbascum sinuatum</i>	52
27	L'extrait aqueux des feuilles de <i>Verbascum sinuatum</i>	53
28	Coupe transversale de feuille de <i>Verbascum sinuatum</i>	54
29	Coupe transversale de la racine de <i>Verbascum sinuatum</i>	55
30	Coupe transversale de feuille de <i>Verbascum sinuatum</i> (GX 40)	56
31	Coupe transversale de la racine de <i>Verbascum sinuatum</i> (GX 40)	57
32	La variation de la zone d'inhibition de l'extrait avec les bactéries utilisées	60
33	Saponosidies	64
34	Tanins	65
35	Flavonoïdes	64
36	Terpènes et stérols	64
37	Cardénolides	64
38	Cardinolides cardiotiques	65
39	Glycosides cardiaques	65
40	Anthocyanes	65
41	Mucilage	66
42	Anthraquinones	66
43	Quinones libres	67
44	Alcaloïdes	67

45	Amidon	68
46	Polyphénols	68
47	Les huiles essentiels	69

Liste des abréviations

% : pourcentage

°C : Degré Celsius

MH : Muller Hinton

NaCl : chlorure de sodium

G : gramme

Mg : milligramme

Mm : millimètre

ml : millilitre

AFNOR : association française de normalisation

E. Coli : *Escherichia coli*

KPC : *klebsiella pneumoniae*

PAM : plantes médicinales et aromatiques

Sommaire

Première partie

Synthèse bibliographique

Introduction général	01
----------------------------	----

Chapitre1 : Généralité sur les plantes médicinales

I. Généralité sur les plantes médicinales	02
I.1. Origine des plantes médicinales	03
I.2. Parties utiliser des PLM	04
I.2.1. La cueillette La récolte et la conservation des plantes	05
I.3. Le mode de préparation de plantes médicinales	06
I.4. Métabolite primaire.....	07
I.4.1. Définition	07
I.4.2. Principe actif des plantes médicinales	07
a. Les phénols	07
b. Les flavonoïdes	08
c. Coumarines	08
d. Les tanins	09
e. Les terpènes	09
f. Saponines	10
g. Les alcaloïdes.....	10

Chapitre 2 : La famille des *scrophulariaceae*

II. Définition.....	11
---------------------	----

II.1. Identification	11
II.2. Répartition ou habitat	12
II.3. Usages généraux	13
II.4. Les espèces les plus connue de la famille	15

Chapitre 3 : le genre *Verbascum sinuatum* L

III. Les caractéristiques le genre <i>Verbascum</i> L	16
III.1. Histoire de la nomenclature	17
III.2. Définition.....	18
III.2.1 Classification systématique	19
III.2.2. Description et répartition botanique	20
III.2.3. Usage traditionnel.....	22
III.3. Activité biologique	23

Deuxième partie : matériel et méthodes

➤ **Matériels**

➤ **Méthodes**

IV. Enquête ethnobotanique	26
IV.1. Présentation du site d'étude	29
IV.1.1. Présentation géographique.....	30
IV.1.2. Les grands traits du cadre physique.....	30
IV.1.3. Couvert végétale.....	31
V. Récolte, séchage, conservation du <i>verbascum sinuatum</i> . L	31
V.1. Récolte	32
V.2.Séchage	32
V.3.Conservation.....	33
VI. Extraction par hydro-distillation	34
VII. Etude histologique	35

VIII. Screening photochimique	39
IX. L'activité antimicrobienne	42
Troisième partie : résultats et discussions	
I. Interprétation de l'enquête ethnobotanique	48
I.1. Connaissance de la plante	48
I.2. Utilisation selon les sexes	49
I.3. Utilisation selon le mode d'emploi.....	50
I.4. Utilisation selon la partie utilisée	51
I.5. Utilisation thérapeutique	52
II. Récupération de l'hydrolat	53
III. Interprétation des coupes histologiques.....	54
IV. Interprétation du screening photochimique	57
V. Résultats du test du pouvoir antibactérien.....	60
Conclusion	61
Référence bibliographique.....	63
Annexes	67

Introduction

INTRODUCTION GENERALE

De l'antiquité à nos jours, l'Homme s'est toujours donné les moyens de combattre la douleur ; ces moyens efficaces ou non lui sont souvent fournis par son environnement naturel et sont essentiellement à base de plantes. Les extraits des plantes étaient, déjà, connus et utilisés par les égyptiens, les romains et les grecs, pour leurs propriétés odorantes et médicinales (DIALLO et DIOUF, 2000). Face aux limites thérapeutiques des médicaments chimiques, le développement de la recherche sur les plantes médicinales a été orienté vers l'obtention de phyto-médicaments (MOHAMMEDI, 2013).

Les plantes médicinales constituent une source importante d'isolement de médicaments pour traiter de nombreuses maladies humaines (KUMAR *et al*, 2015). Les propriétés thérapeutiques de ces plantes sont dues à de molécules synthétisées par celles-ci, connues sous le nom de métabolites secondaires qui sont dotées de plusieurs activités biologiques (activité anti-oxydante, antiinflammatoire, anti-tumorale...) (BOURGAUD *et al*, 2001).

Près de 75 % des médicaments chimio-thérapeutiques dérivent de plantes médicinales (KUMAR *et al*, 2017).

Le recours à la médecine à base des plantes est profondément ancré dans notre culture, car l'Algérie est réputée par la richesse de sa flore médicinale qui comprend des centaines d'espèces végétales. Ainsi qu'elle a un savoir-faire testé de longue date par nos ancêtres. Parallèlement, toutes les cultures et les civilisations de l'Antiquité à nos jours dépendent entièrement ou partiellement de la phytothérapie en raison de leur efficacité, l'accessibilité, la disponibilité, faible toxicité et d'acceptabilité (Coolborn & Bolatito, 2010).

Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydants en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'Alzheimer en combattant le stress oxydant (Meddour *et al*, 2013).

Verbascum sinuatum L. communément appelée molène sinuée est parmi les plantes médicinales qui couvrent le territoire Algérien. A notre connaissance, les propriétés biologiques de cette plante ont été peu étudiées si bien que nous nous intéressons dans la

INTRODUCTION

présente étude à l'évaluation *in vitro* de l'effet antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles et des racines de *Verbascum sinuatum*.

Ce manuscrit est réparti comme suit :

- ❖ Un premier chapitre où nous évoquons un rappel bibliographique sur les plantes médicinales
- ❖ Le second chapitre est consacré à la famille des scrophulariaceae et sa répartition dans le monde
- ❖ Dans le troisième chapitre nous évoquons la plante de *Verbascum sinuatum* et ses propriétés
- ❖ Dans la seconde partie : le matériel et les méthodes nécessaires pour la réalisation de notre enquête ethnobotanique, screening photochimique, coupes histologiques, activité antibactérienne

Et dernièrement la troisième partie pour les résultats et les discussions

Premier partie
Etude bibliographique

Chapitre 1 : Les plantes médicinales

I. Généralités sur les plantes médicinales

Une plante médicinale est une plante exploitée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela désigne qu'une de ses parties (feuille, bulbe, racine, graines, fruits, fleurs) peut être employée dans le but de guérir. Leur utilisation remonte à des milliers d'années, où l'homme utilisait les plantes pour se soigner. À l'époque, la sélection des plantes était instinctive, permettant d'identifier progressivement celles qui pouvaient être utilisées et celles qui étaient toxique. Aujourd'hui, elles sont la base de la phytothérapie et de l'homéopathie. Il existerait plusieurs centaines de milliers d'espèces différentes, que l'on peut cueillir ou récolter.

En effet, les plantes médicinales étant issues de la nature, il est possible d'en croiser tous les jours. En outre, il existe une distinction entre les plantes médicinales utilisées de manière traditionnelle et les plantes qui sont la principale source de matériel pour l'industrie pharmaceutique. Enfin, il faut savoir que la matière principale de la pharmacopée est restée végétal (**Grancher, 2012**).

Selon **Iserin 2001**, L'être humain a toujours apprécié les propriétés apaisantes et analgésiques des plantes, et au fil des siècles, les traditions humaines ont contribué à développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales, les deux tiers de la pharmacopée s'appuyant sur leurs propriétés thérapeutiques.

De nombreux chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales en raison de leur vaste réservoir de composés potentiels et de molécules bioactives. Outre les métabolites primaires, ils accumulent fréquemment des métabolites secondaires, (**Kreif, 2003**) qui ont une grande variété de structures chimiques et une large gamme d'activités biologiques (**Wills et al, 2000**) et font l'objet de nombreuses études in vitro et in vivo.

Le médicament à base de plantes est un "complexe" de molécules, issu d'une ou plusieurs espèces végétales. De nombreuses formes galéniques sont aujourd'hui proposées, certaines plus innovantes que d'autres, laissant l'infusion originelle plus ou moins désuète. Pourtant ces changements de forme peuvent parfois cacher des modifications quant à l'action sur le métabolisme ou la biodisponibilité des principes actifs (**Boussouf et al, 2020**).

La valeur médicinale des plantes est due à la présence de substances chimiques spécifiques, qui lorsqu'elles sont consommées à petites doses, produisent une action physiologique dans le corps humain. Certains de ces composés importants comprennent les alcaloïdes, les glucosides, les résines, les gommés, les mucilages, les tanins, les huiles

essentielles et grasses, les composés du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène et de l'azote, ... Ces composés sont généralement présents dans les racines, les tiges, l'écorce, les feuilles, les graines. (Meriem REHAB, 2020).

I.1. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur (Dutertre, 2011).

Les plantes médicinales sont utilisées par l'homme depuis près de 7000 ans et que certains animaux les consomment aussi dans un but thérapeutique. Environ 35000 espèces de plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (Hordé, 2014). Malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne, les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important (Elqaj et al, 2007). Les espèces végétales d'intérêt médicinales sont impliquées dans différents secteurs à l'état brut ou sous formes d'huiles, extraits, solutions aqueuses ou organiques (Attijet, 1995). Leur préparation à base végétales contient un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques (Farnsworth et al, 1986).

I.1.1 Origines des plantes médicinales

Elle porte sur deux origines à la fois. En premier lieu, les plantes spontanées dites "sauvages" ou "de cueillette", puis en second, les plantes cultivées. (M. KABAHOUM *et al*, 2021.)

I.2.1. Partie utilisée

Les feuilles sont les parties les plus utilisées avec un taux de 23.7 %, suivies par les fruits (13.8 %), les racines (11.13 %), la partie aérienne (08.95 %) et la tige (07.05%). (Nabila TAHRI *et al*, 2012.)

Bien que l'utilisation des feuilles soit représentée par un pourcentage important, de multiples enquêtes ont remarqué que les utilisateurs ont tendance à arracher la plante entière au lieu de s'intéresser uniquement à la partie souhaitée (principalement les feuilles). D'autre part, il existe une relation manifeste entre la partie utilisée de la plante exploitée et les effets

obtenus ; ce mode de cueillette compromet sérieusement la durabilité des espèces médicinales surtout les bulbeuses. **(Nabila TAHRI et al, 2012.)**

Sachant que les feuilles sont le siège de la photosynthèse et parfois du stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés biologiques de la plante, l'aisance et la rapidité de la récolte peut être la cause du taux d'utilisation élevé du feuillage par la population de la région. **(Nabila TAHRI et al, 2012.)**

I.2.Cueillette, séchage et conservation des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont cueillies pour être utilisées comme médicament afin de soulager le patient. Les techniques de cueillette et conservation sont en étroite liaison avec le lieu et coutumes.

I.2.1. Cueillette

Les propriétés des plantes dépendent essentiellement de la région de production, période et techniques de cueillette. La cueillette est liée avec la variation climatique et saisonnière. Pour déterminer les propriétés d'une plante, il est nécessaire de prendre en considération la partie utilisée, morphologie, couleur, nature, saveur **(marschner, 1995)**.

Durant la récolte, il faut que la racine soit assez robuste et complètement développée à la fin du repos végétatif, l'écorce en acquérant une certaine épaisseur jusqu'à qu'elle se sépare facilement du corps, en hiver pour les arbres et arbrisseaux et au printemps pour les résineux. La partie aérienne soit en floraison, feuilles juste avant la floraison, fleurs au moment de l'épanouissement, graine et fruit à maturité. **(wichtl, 2003. Delille, 2013)**.

I.2.2. Séchage

Le séchage au soleil est la méthode la plus simple et économique, utilisé surtout pour les racines, tiges graines et fruits. Le séchage à l'ombre est indiqué pour les feuilles et fleurs, car les feuilles vertes séchées au soleil jaunissent les pétales de fleurs perdent leurs couleurs vives, ce qui peut altérer les propriétés médicinales de ces produits **(Djeddi, 2012)**. Le maximum de température admise pour une bonne dessiccation des contenants des huiles

essentielle est de 30°C, pour les autres cas, la température de dessiccation peut varier de 15 à 70°C (Delille, 2013).

I.2.3. Conservation et stockage

Les plantes médicinales sont conservées à l'abri de la lumière, air et au sec dans des récipients en porcelaine, faïence ou verre teinté, boîtes en fer blanc, sacs en papier ou des caisses. Cette technique est nécessaire pour les plantes qui subissent des transformations chimiques sous l'influence des ultraviolets. Les plantes riches en produits volatiles et qui s'oxydent rapidement sont conservées dans un milieu étanche (Delille, 2013).

I.3. Les modes de préparation des plantes médicinales

Globalement, trois modes de préparation ont été enregistrés : la décoction (62%), la macération (23,66%) et l'infusion (14, 34%). D'autres formes rarement utilisées peuvent être citées comme la teinture, la compresse. (Delphine N.D *et al*, 2018.)

L'analyse de la variance montre une différence très significative ($0,0035 < 0,01$) entre les trois modes de préparation des médicaments. L'infusion ne rentre pas dans les habitudes de préparation des médicaments chez les Arabes. Au niveau des ethnies, cette différence ne se remarque pas ($1,0000 > 0,05$). Les échanges culturels entre ces ethnies peuvent être l'un des facteurs ayant favorisé la vulgarisation des différents modes de préparation dans la localité. (Delphine N.D *et al*, 2018.)

- **La décoction**

Mettre la plante dans l'eau froide, puis bouillir cette eau entre 2 à 15 minutes (la durée pour bouillir les écorces et les racines est plus longue que la durée pour bouillir les tiges et les feuilles). (Chabira ZEYNEB *et al*, 2020.)

- **La macération**

C'est l'immersion d'une plante dans l'eau froide, du vin ou de l'alcool. Cette solution permet d'obtenir les principes solubles dans un temps plus ou moins long. (Chabira ZEYNEB *et al*, 2020.)

- **L'infusion**

On obtient une infusion en versant l'eau bouillante sur les plantes dans un récipient couvert, pour éviter toute perte d'essence volatile pendant une durée de 5 à 15 minutes (selon la plante), puis on filtre. (Chabira ZEYNEB *et al*, 2020).

I.4. Composantes des plantes médicinales

I.4.1. Définition des Principes actifs

Les principes actifs sont des molécules présentes dans un médicament végétal ou une préparation à base de plantes utilisée dans la fabrication de produits pharmaceutiques ; ils ont une activité thérapeutique ou préventive pour l'homme ou l'animal. Ces composés se trouvent fréquemment en très petites quantités dans les plantes, pourtant ils en sont le composant essentiel. Il est donc parfois important de réaliser une extraction qui va isoler la seule fraction intéressante de la plante (Vidal, 2018).

I.4.1.1. Composés du métabolisme primaire

Les premiers produits de photosynthèse sont des substances de bas poids moléculaires tels : les sucres ; les acides gras et les acides aminés.

a. Les lipides

Sont des substances naturelles, constituées d'esters, d'un alcool ou d'un polyol et d'acides gras. Ce sont des substances hydrophobes et parfois amphiphiles, solubles dans les solvants organiques polaires et apolaires et sont non volatils. Ils rentrent dans les constituants de structures cellulaires tels : les glycolipides, les phospholipides membranaires, ils savent aussi être des éléments de revêtement comme les cires ou les cutines, toutefois aussi des substances de réserves, sources d'énergies (Bruneton, 1999).

b. Les glucides

Ce sont des composés universels du monde vivant, chez les végétaux parfois appelés hydrates de Carbone (ce sont des composés organiques carbonylés poly hydroxylés). Ils représentent pour les végétaux : Un moyen de stockage de l'énergie solaire, ils forment le groupe le plus important, sous forme de polymères (amidon) ; Des éléments de soutien, ils

participent à la structure du végétal (cellulose...) ; constituants de métabolites (les enzymes, acides nucléiques ...) ; Des précurseurs des autres métabolites (**Bruneton, 1999**).

c. Les protéines

Constituées principalement d'acides aminés, elles jouent un rôle fonctionnel (les enzymes) et un rôle dans la structure du végétal. Le rôle diététique des protéines végétales est loin d'être négligeable mais également leur utilisation en pharmacie aussi bien dans le domaine médicale ou industriel (chimique ou agroalimentaire) (**Bruneton, 1993**)

I.4.1.2. Composés du métabolisme secondaire

En dehors des principes issus du métabolisme de base comme les glucides, les lipides, les protides et qui sont retrouvées de façon universelle chez tous les êtres vivants, d'autres principes sont retrouvés également et qui sont spécifiques d'une famille de plantes et parfois d'une seule plante. Ceci permet de dire que les plantes sont de véritables usines chimiques et dont les propriétés thérapeutiques sont liées à l'un des constituants ou parfois ou souvent à l'association de ceux-ci (**valnet.J 1983**)

a. Alcaloïdes

Initialement définis comme des substances naturelles azotées à réaction basique fréquente issus d'acides aminés. D'origine naturelle et de distribution restreinte, les alcaloïdes ont une structure complexe : leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative, pour certains auteurs, ils sont issus du seul règne végétal. En général, ils portent le nom du végétal qui les contient (**Kunkele et Lobmeyer, 2007**).

Tous les alcaloïdes ont une action physiologique intense, médicamenteuse ou toxique. Très actifs, les alcaloïdes ont donné naissance à de nombreux médicament (**AliDelille, 2013**).

b. Tanins

Beaucoup de plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à la plante. Les tanins sont des composés poly-phénoliques qui stabilisent les tissus en se liant aux protéines et en les précipitant, formant une couche protectrice. Les

plantes riches en tanin sont souvent utilisées pour traiter les troubles digestifs, notamment la diarrhée et les ulcères, ainsi que pour traiter les hémorroïdes, comme dans le bouillon blanc (**Grunwald et Janick, 2006**)

c. Flavonoïdes

Les pigments poly-phénoliques, qui contribuent à la coloration des fleurs et des fruits, sont très sensibles au règne végétal. Ils ont un important champ d'action. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation et le contrôle de processus de croissance. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, antivirales, antifongiques, spasmolytiques et des effets protecteurs sur le foie comme le chardon-marie (**Grunwald et Janick, 2006**).

d. Les phénols

Sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, ce sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (**Wichtl & Anton, 2003**). Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (**Iserin et al, 2001**)

e. Huiles essentielles

Ce sont des extraits végétaux volatils et odorants qui comptent parmi les principes actifs les plus importants, et ils sont fréquemment associés aux résines et gommes. Ces composés liquides extrêmement complexes contiennent une variété de constituants, dont des terpènes et des phénols. Les HE ont une variété de propriétés en usage interne, ils aident au refroidissement, et nombre d'entre eux ont des propriétés antispasmodiques, comme le basilic. En usage externe elles sont utilisées dans les douleurs rhumatismales par exemple. Les huiles essentielles sont à différencier des huiles fixes (**Iserin, 2001**).

f. Terpènes

Les terpènes présentent un vaste groupe de produits naturels largement répandu dans le règne végétal et animal, renfermant des molécules très volatiles. Les terpènes ont une structure de base non aromatique renfermant uniquement du carbone, De l'oxygène ainsi que de l'hydrogène. Les terpènes et stéroïdes ont une structure de base non aromatique, ils ont aussi

un point commun essentiel formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du 2-méthylbutadiène (**Bruneton, 1999**).

g. Saponosides

Principaux constituants de plusieurs plantes médicinales, ils sont très humides et de bons émulsifiants. Leur principale propriété c'est de pouvoir transformer des matières fermes en matières fluides. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et le tri trapézoïde. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines, alors que les saponines tri trapézoïdes, ont une activité hormonale moindre mais elles sont souvent expectorantes et favorisent la digestion (**Iserin, 2001**).

I.5. La phytothérapie

I.5.1. Définition

Le terme « phytothérapie » se décompose en deux termes distincts qui sont « phuton » et « therapeia » et qui signifient respectivement « plante » et « traitement » de par leur racine grecque. La phytothérapie est donc une thérapeutique destinée à traiter certains troubles fonctionnels et certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes et de préparations à base de plantes. C'est une thérapeutique inspirée de la médecine traditionnelle basée sur un savoir empirique enrichi au fil des générations. C'est ce qu'on appelle la « phytothérapie traditionnelle », qui est toujours grandement utilisée dans certains pays qui perpétuent les usages de leurs ancêtres. (**Gruffat X, 2017**)

Ensuite ce savoir empirique s'est transformé en analyse botanique pour déterminer par quel mécanisme d'action les plantes pouvaient agir, et quelles étaient les molécules ou les constituants responsables de cet effet thérapeutique. Les principes actifs des plantes n'ont commencé à être isolés qu'à partir du XX^{ème} siècle, et une fois ces extraits actifs isolés et standardisés, ont pu émerger les phyto-médicaments, produits soumis à une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), et à des réglementations sur les matières premières à usage pharmaceutique (MPUP) pour les préparations magistrales à base de plantes médicinales délivrées exclusivement en officine. C'est donc la pharmacognosie, c'est-à-dire l'étude botanique de la plante et de ses principes actifs, qui a permis de faire passer la phytothérapie d'une thérapie basée sur des connaissances empiriques à une thérapie à part entière, basée sur des données scientifiques vérifiées et contrôlées. (**Anne-Sophie Limonier, 2018**).

Alors qu'au départ les plantes étaient transformées grâce à des techniques plutôt rudimentaires (broyées, macérées ou infusées en entier), mais qui permettaient déjà d'extraire une bonne partie des substances actives, aujourd'hui la phytothérapie se décline sous plusieurs formes en fonction de la méthode d'extraction de la drogue végétale :

- Les tisanes

- Les formes sèches : gélules et comprimés à avaler

- Les formes liquides : sirops, macéras, teintures et extraits fluides

- Les pommades, crèmes et onguents

Selon **Anne-sophie Limonier, 2018** La phytothérapie est donc à proprement parler « la thérapie par les plantes ». Elle est devenue de plus en plus une médecine à part entière grâce au regain d'intérêt de la population pour la phytothérapie et qui nécessite donc un cadre réglementaire strict afin d'assurer une bonne dispensation et une bonne utilisation des différents produits disponibles.

Chapitre II : la famille des scrophulariaceae

II. La famille des *Scrophulariaceae*

La famille *Scrophulariaceae* est considérée comme la plus grande famille des Lamiales, comprenant 306 genres et plus de 5850 espèces (A. Sotoodeh *et al.* 2015).

Elle est dispersée dans un grand nombre de pays, en particulier dans les régions froides et tempérées. Les plantes de la famille des *Scrophulariaceae* sont annuelles, bisannuelles, ou arbustes d'herbes vivaces. Le concept « *Scrophulariae* » a existé depuis 1782, mais le nom de la famille est conservé comme *Scrophulariaceae* sensu lato (s.l) (B. Oxelman *et al.* 2005).

Elle se composait en sous-familles : *Rhinanthoideae*, et *Scrophulariaceae* sensu stricto (s.s.) (D. C. Tank *et al.* 2006).

Bref, les plantes de cette famille partagent beaucoup de traits en communs. Et parmi les différents critères d'identification, nous avons les éléments suivants :

II.1. Critères d'identifications

- **Plantes herbacées :**

La plupart des espèces sont des plantes herbacées. Mais dans la classification classique, certains auteurs classent des lianes et des arbres. Ainsi, en classification classique, les lianes du genre *Maurandya* et les arbres du genre *Paulownia* sont inscrits dans cette famille. Désormais, ils appartiennent respectivement à la famille des Plantaginacées et *Paulowniacées*. (Monde végétal, 2021)

- **Plantes vivaces ou annuelles :**

Mais il arrive aussi parfois que certaines espèces développent un cycle bisannuel. C'est notamment le cas de certaines espèces de Molènes (*Verbascum*).

- **Tige :**

Généralement, la tige est soit cylindrique, soit quadrangulaire, mais sans faisceaux bi collatéraux. Parfois avec duvet, parfois sans duvet.

- **Feuilles :**

Les feuilles des Scrofulariacées sont simples, entières, souvent opposées, mais parfois alternes, voire alternes ou verticillées. Mais elles sont généralement ex stipulées (sans stipule). Les feuilles peuvent être caduques ou persistantes.

- **Inflorescence :**

Ces plantes comportent des inflorescences terminales à bractées et spiciformes. Mais cette inflorescence peut aussi avoir une forme de panicule ou de grappe. Les fleurs sont hermaphrodites zygomorphes ou plus rarement actinomorphes.

- **La fleur :**

Les sépales au nombre de 4 à 5 sont normalement soudés plus ou moins entre eux. La corolle est caduque et formée, elle aussi, de 4 à 5 pétales. Elle est presque toujours zygomorphe et souvent bilabée, parfois actinomorphe. L'androcée des Scrofulariacées est dyade (2 étamines courtes et 2 étamines plus longues).

- **Fruit :**

Les fruits des Scrofulariacées sont des fruits de type capsule. Ils peuvent avoir une déhiscence pesticide, parfois loculée ou porcidé. Généralement ils comportent deux loges. Mais dans de rares cas, ces fruits peuvent être une baie ou un schizocarpe. Les graines sont anguleuses, avec un albumen charnu et succulent.

- **Parasites :**

Certains genres sont des hémiparasites, poussant sur les racines d'autres espèces végétales, dont souvent sur les Poacées (Graminées).

- **Risques de confusion :**

Certains genres de la famille des Scrofulariacées peuvent éventuellement se confondre avec des plantes de la famille des Lamiacées ou des Balsaminacées.

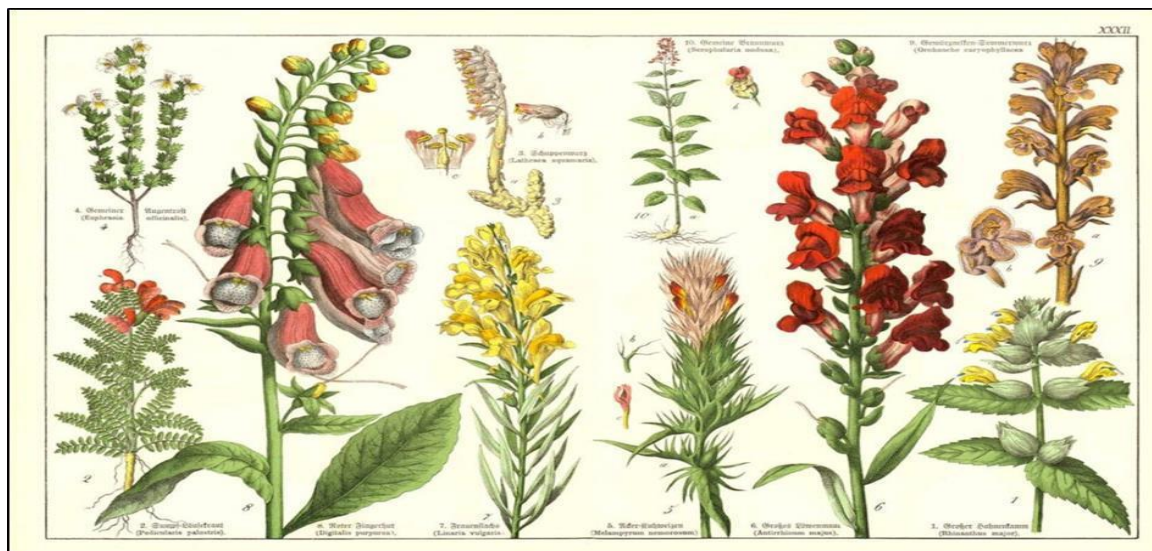


Figure 01 : Planche Botanique de la Famille des Scrofulariacées selon la classification classique (1869 Digitale Muflier Rhinanthé).

II.2. Répartition et Habitat

Puisque les *Scrophulariacées* comportent de nombreuses espèces, on les retrouve dans de nombreux habitats différents.

On trouve cette famille sur tous les continents habités. On parle alors de famille cosmopolite. Mais pour donner un peu plus de précisions, on remarque surtout que les Scrophulariacées sont présentes principalement en climats tempérés (climat océanique, méditerranéen, continental). Ainsi, on les trouve très facilement en Europe, mais aussi en Amérique du Nord. Dans ces zones, on retrouvera principalement les genres *Verbascum* et *Scrophularia*. (Monde végétal, 2021)

En Australie et Nouvelle-Zélande, de nombreuses espèces de cette famille y sont endémiques. Dans ses régions on y trouve des arbustes dont *Myoporum insulare*. Il y a aussi des espèces invasives de Scrophulariacées comme les *Verbascum* européennes. Puis nous avons les régions tropicales d’Afrique et d’Amérique du Sud. Que ce soit en climat tropical humide ou tropical sec, on retrouvera plutôt les genres *Nemesia*, *Capraria* ou encore *Eremogeton*.

Enfin, les Scrophulariacées poussent aussi dans les climats sub-tropicaux. Par exemple, en Afrique du Sud, nous allons plutôt retrouver les genres appartenant au tribut des Limoselles

(Limoselleae). Avec, presque dans la majeure partie des climats (sauf humides), des *Verbascum* invasives. Oui, les Molènes européennes sont un peu partout. (**Monde végétal, 2021**)

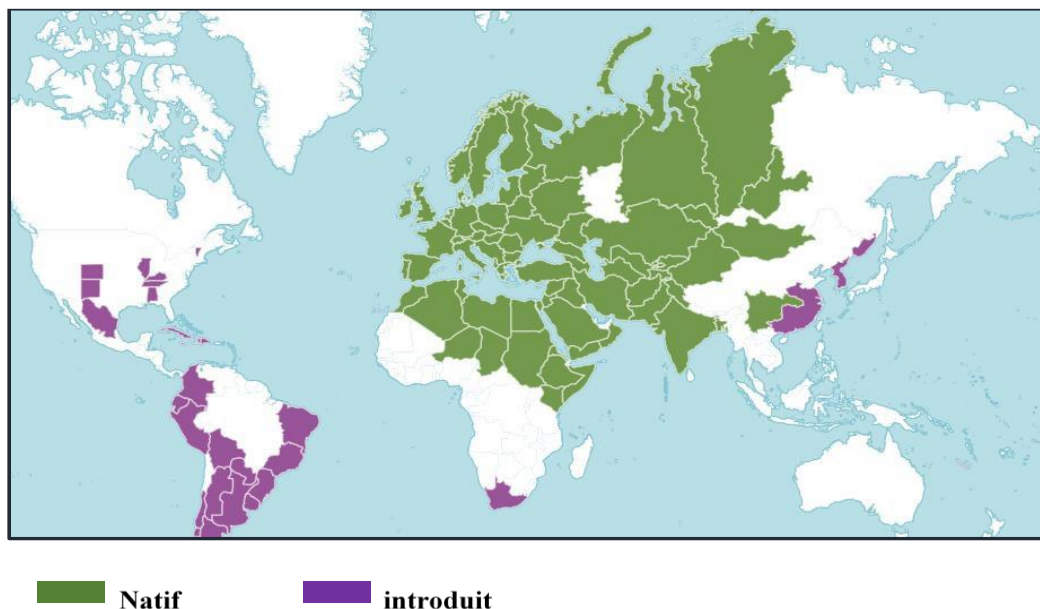


Figure 02 : Répartition Mondiale de la famille des *Scrophulariacées* (**monde-végétal, 2021**)

II.3. Usages Généraux

Dans cette famille, nous avons à la fois des espèces comestibles, médicinales, mais aussi toxiques.

➤ Plantes Comestibles

Dans la famille des *Scrophulariacées*, nous avons finalement, assez peu de plantes alimentaires. Mais on peut éventuellement le Muflier (*Antirrhinum majus*) qu'on retrouve surtout en Europe et en Amérique du Nord. Il y a aussi les Molènes (*Verbascum sp.*).

En théorie comestibles, elles restent difficiles à consommer en raison du duvet qu'elles possèdent. (**Monde végétal, 2021**)

➤ Plantes toxiques

Il y a aussi des plantes toxiques (anciennement la Digitale pourpre), mais on compte encore d'autres espèces toxiques. C'est par exemple le cas de certaines espèces de Scrophulaires.

Notamment la Scrofulaire Noueuse (*Scrophularia nodosa*). Utilisée à hautes doses, elle est émétique et peut provoquer nausées, Vomissements et tachycardie. (Monde végétal, 2021)

➤ Plantes médicinales

Enfin, on trouve aussi des plantes médicinales dans cette famille. Et parmi ces plantes médicinales, les plus connues sont sans doute les Bouillons Blancs (seulement certaines espèces de Molènes, pas toutes. D'ailleurs, j'ai même une recette de Bouillon Blanc contre la toux si ça vous intéresse. (Monde végétal, 2021)

II.3. Les espèces de Scrophulariacées les plus connues

Nous allons nous intéresser seulement aux espèces les plus intéressantes. Intéressantes d'un point de vue alimentaire ou médicinal, Parmi les espèces les plus intéressantes, nous parlerons essentiellement des Molènes (*Verbascum*) et Scrofulaires (*Scrophularia*).

II.3.1. Les molènes (*Verbascum*)

a. Molène à feuilles sinuées (*Verbascum sinuatum*)

La Molène à feuilles sinuées se reconnaît facilement avec ses feuilles sinuées. Mais elle n'a pas les propriétés du Bouillon Blanc.

b. Bouillon Blanc (*Verbascum thapsus*)

Le Bouillon Blanc est une des stars des plantes médicinales. Et il sert pour combattre les problèmes respiratoires et la toux. Abondant et facilement reconnaissable, je vous ai quand même fait un article pour éviter les confusions avec le Bouillon Blanc.

c. Faux Bouillon-Blanc (*Verbascum phomoides*)

On l'appelle aussi Molène Faux-Phlomis et il ressemble beaucoup au Bouillon Blanc. Mais par chance, il possède les mêmes propriétés médicinales.

d. Molène Lychnite (*Verbascum lychnitis*)

C'est une espèce très commune. La Molène Lychnite fait aussi des fleurs jaunes comme le Bouillon Blanc, mais elle n'a pas ses propriétés médicinales.

II .3.2. D'autres espèces de Molènes

Il existe d'autres espèces de Molènes. Au moins 350 espèces à travers le monde. Mais en Europe, on trouvera surtout la molène Noire (*Verbascum nigrum*), la Molène Blattaire (*Verbascum blattaria*), la Molène à Fleurs Denses (*Verbascum densiflorum*) ou encore la Molène Floconneuse (*Verbascum pulverulenteum*) ou la Molène de Phénicie (*Verbascum phoeniceum*).

Chapitre III : étude Phyto-chimique de la plante
« *Verbascum sinuatum* »

III. Les caractéristiques le genre *Verbascum L*

III.1. Histoire de la nomenclature

Le genre *Verbascum* fut considéré comme *Arcturus* par **Belli en 1601**. Il fut réduit à synonyme de *Blattaria* par **Morison en 1715**. En 1753, Linneaus nomma des spécimens à 4 étamines : *Celsia L.* et des spécimens à 5 étamines : *Verbascum L.*

En 1843, **Fischer et Meyer** ont séparé *Verbascum natolicum*, qui possède une capsule oblongue-cylindrique, et l'ont publié sous le genre *Staurophragma*.

En 1891, les genres *Celsia* et *Staurophragma* ont été combinés sous le genre *Verbascum* par **Kuntze**. Mais, ils ont été séparés à nouveau comme *Celsia* et *Verbascum* par **Murbeck** en 1925.

Le genre *Staurophragma* a été utilisé de nouveau par **Huber-Morath** (1971). Cependant, les genres *Celsia* et *Staurophragma* ont été combinés sous *Verbascum* par certains auteurs **Murbeck** en 1933 et **Huber-Morath** en 1971.

En 1978, les clés d'identification de *Staurophragma* et *Celsia*, sont acceptés comme des synonymes du genre *VerbascumL.* Par Huber-Morath (**F.A. Karaveliogullari et al. 2008**).

III.2. Définition

Verbascum sinuatum Est le plus grand genre de la famille des *Scrophulariacées*, avec environ 2500 espèces dans le monde entier (**TATLI I. et al, 2004**). Le genre *Verbascum*, communément appelé molène, Comprend environ 360 espèces à fleurs (**MIHAILAVIC Vladimir et al, 2016**).

III.3. Classification systématique

La principale classification botanique de l'espèce *Verbascum sinuatum* et celle de KERGUELIEN (1999), présentée dans le tableau 1

Super-Embranchement	Spermatophytes
Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotyledones
Sous-classe	Asteridées
Ordre	Lamiales
Famille	Scrophulariacées
Tribu	Verbascées
Genre	<i>Verbascum</i>
Espèce	<i>Verbascum sinuatum</i>

Tableau 01 : Classification systématique (VELA Errol *et al*, 2001)

III.4. Description et répartition botanique

Verbascum sinuatum, plus connue sous le nom de « Molène sinuée », en arabe sous celui de « Ouden el hmar, Mouçaleh el andar » et en kabyle sous le nom de « Thisisra, Thisraou ». (SERVAIS Pascal et SEBA Pierre., 2017).

Le nom *Verbascum* vient du mot *barbascum*, qui signifie barbu ; et *sinuatum* décrit les feuilles de la rosette qui sont dentées et ondulées. *Verbascum sinuatum* est une plante bisannuelle tomenteuse et par ailleurs facilement hybridable (RAVEN *et al*, 2017). Elle se rencontre particulièrement dans la région méditerranéenne et les terrains chauds, secs et bien exposés au soleil (GUY Nesom, 2012).

Elle est caractérisée par les critères botaniques suivants :

Chapitre III : Etude Phytochimique de la plante « *Verbascum sinuatum* »

- C'est une plante herbacée de 50 cm à 1 mètre, à grande tige robuste cylindrique d'environ 10 mm de diamètre, avec de nombreuses ramifications ascendantes.

- Les feuilles sont disposées en rosette basale ou alternées (figure 1), verdâtres, couvertes de poils étoilés. Les feuilles basales sont oblongues, sinuées, à bords lobés et ondulés, de 20 à 40 cm de longueur de 7 à 10 cm de largeur ; celles alternées sont caulinares oblongues, légèrement crénelées sessiles, embarrassantes et décurrentes, de 5 à 9 cm de longueur de 2 à 4 cm de largeur avec un pétiole de 5 à 25 mm de longueur (ANTOINE.P ; Nesom *et all*, 2012).



Figure 03 : Feuilles de *verbascum sinuatum* en rosette basale (SERVAIS Pascal et SEBA Pierre., 2017).

Les Fleurs planes pentamères ; gamopétales, velus à l'extérieur, soudés à la base asymétrie actinomorphe radiaire qui est une caractéristique rare chez les Scrofulariacées, jaune vif, assez petites de 15 à 30 mm de diamètre, réunies par 2 à 5 en plusieurs petits bouquets, espacés (figure2) ; la floraison se fait de juin à septembre (GUY Nesom., 2012).



Figure 4 : Fleur de *Verbascum sinuatum* (SERVAIS Pascal et SEBA Pierre., 2017).

Cinq étamines à filet orange velu, poils des filets violets. Les anthères sont toutes insérées transversalement à l'extrémité de file (GUY Nesom., 2012).

- L'ovaire est supère à deux loges avec un style solitaire donnant naissance à un fruit de type capsule à déhiscence septicidé (SERVAIS Pascal et SEBA Pierre., 2017).

- Calice persistant de 3 à 5 mm, pentamérique à poils étoilées ; gamosépale à la base avec cinq lobes imbriqués (GUY Nesom., 2012).

III.5. Usage traditionnel

Les espèces appartenant au genre *Verbascum* sont très utilisées en phytothérapie (POLLETI, 1988).

Les feuilles, les racines et les fleurs sont les parties de la plante les plus connues par leurs vertus thérapeutiques. Pour les feuilles : Usage externe, soulagement des douleurs rhumatismales et sciatiques. Et pour les racines et les fleurs : Action sur les maladies oculaires et activités antiseptiques, antispasmodiques et analgésiques et action sur les troubles hépatiques.

III.5.1 Principaux métabolites secondaires

Il est connu que les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires constitués de protéines, glucides et lipides. Ces composés, appartiennent à des groupes chimiques variés (Alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques...etc.) (MACHEIX *et al*, 2005).

Bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants. Les espèces du genre *Verbascum* renferment huit principaux groupes phytochimiques, tels que les saponines, les iridoïdes, les glucosides mono terpéniques, les glucosides, les flavonoïdes, les stéroïdes, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les acides gras et autres. Il ressort des études faites sur ces espèces que les métabolites secondaires sont constitués de saponosides et d'iridoïdes. **La figure 05** schématise ces principales classes du métabolite secondaire.

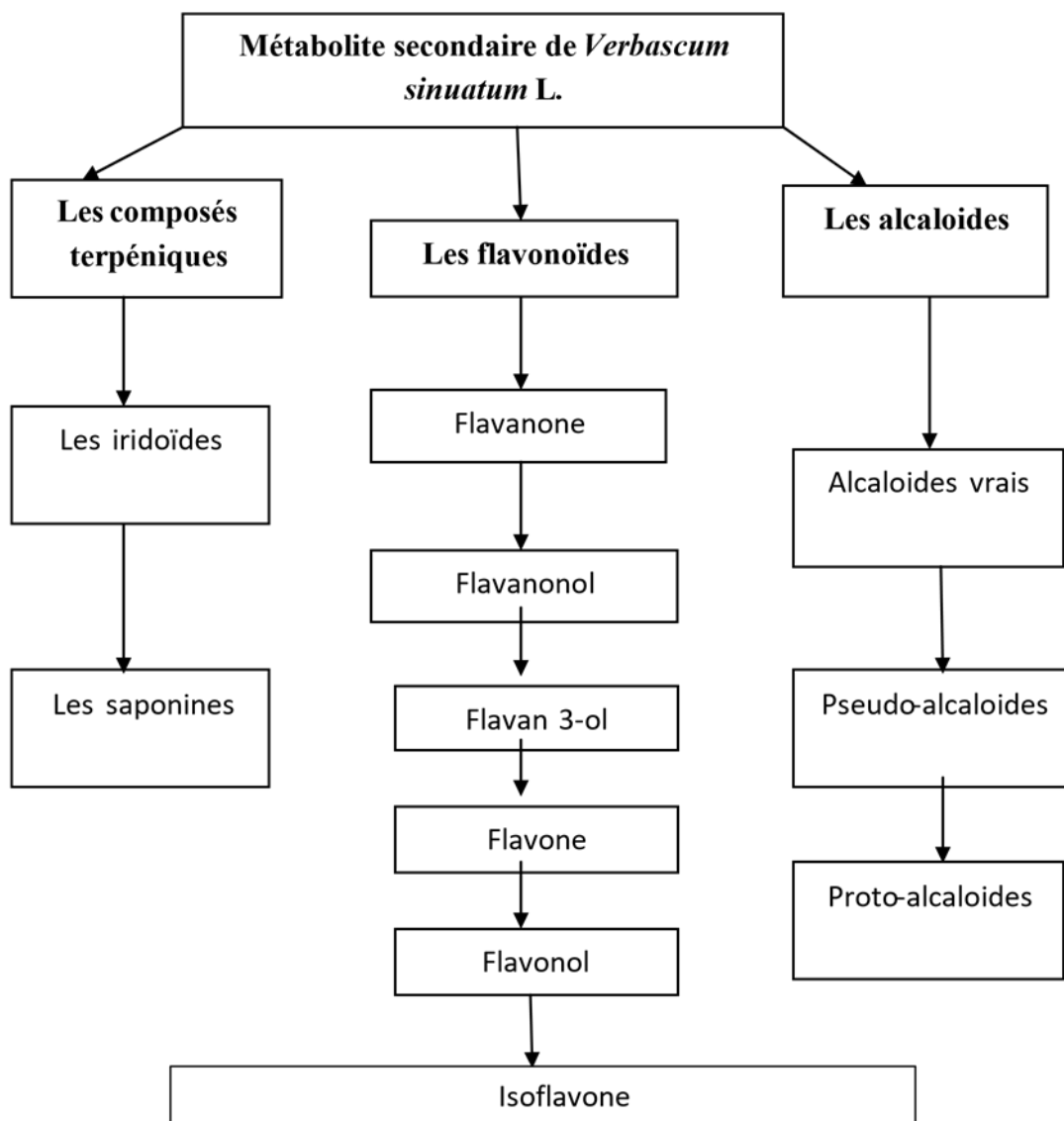


Figure 05 : les trois principales classes de métabolites secondaires.

III.6. Activités biologiques :

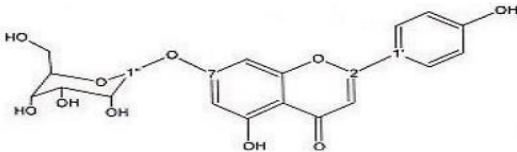
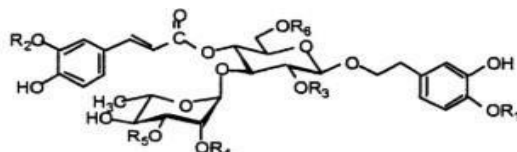
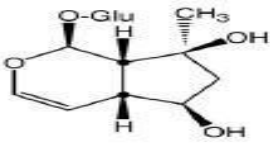
Les espèces du genre *Verbascum* ont fait l'objet de nombreuses études expérimentales. Diverses activités biologiques sont ainsi révélées, à savoir l'activité antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, antinociceptive, antitumorale, antispasmodique et cytotoxique. Ces dernières sont dues aux différentes molécules bioactives que contiennent ces plantes (**KÜÇÜK et al., 2016**). Le tableau II résume les métabolites secondaires du genre *Verbascum* et leurs activités biologiques.

Certaines activités ont été attribuées à l'espèce *Verbascum sinuatum*. En effet, la richesse de cette plante en composés phénoliques lui confère une capacité de chélation des radicaux libres élevée, par conséquent une activité antioxydante importante (**KARAMIAN et GHASEMLOU, 2013**).

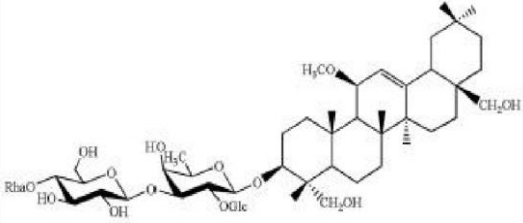
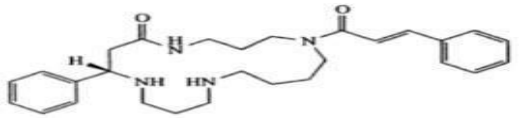
SENATORE et al 2006 Ont démontré que l'extrait méthanolique des parties aériennes de cette plante possède un effet inhibiteur vis-à-vis d'un certain nombre de bactéries à gram positif et à gram négatif et que ceci est dû à la présence des composés bioactifs : verbascoside, sinuatol, aucubine et ajugol. L'extrait éthanolique quant à lui a présenté dans une autre étude une activité antimicrobienne contre *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* et *Candida albicans* (**SENER et DULGER, 2009**).

D'après **KHALEELIAH (2001)**, l'extrait éthanolique des différentes parties (fleurs, feuilles, racines et jeunes branches) de *Verbascum sinuatum* L. a été testé in vitro sur des lignées cellulaires du cancer du sein et de la prostate. Les résultats obtenus ont montré une toxicité élevée sur les cellules ce qui suggère un effet anticancéreux.

Tableau 02 : Les métabolites secondaires du genre *Verbascum* et leurs activités biologiques.

Métabolites secondaires	Exemples de composés	Structure chimique	Activités biologiques	Références
Polyphénols : Flavonoïdes glycosylés Glucosides de phényléthanoïdes	- Luteolin 7-O-β-D-glucoside -Luteolin 3'-O-β-D-glucoside -Apigenin 7-O-β-D-glucoside	 <p>Apigenin 7-O-β-D-glucoside</p>	Antioxydante, antitumorale, antiinflammatoire et antinociceptive.	(KAHRAMAN <i>et al.</i> , 2012 ; MOUSAVI <i>et al.</i> , 2015) (JAMSHIDI-KIA <i>et al.</i> , 2018)
	-Verbascoside -Martynoside	 <p>Martynoside</p>	Antioxydante, antiinflammatoire, antinociceptive, cicatrisante Antimicrobienne, cytotoxique, neuroprotectrice.	(ÇALIS <i>et al.</i> , 2002 ; KAHRAMAN <i>et al.</i> , 2012 ; ALIPIEVA <i>et al.</i> , 2014)
Terpénoïdes : Iridoïdes	-Aucubine -Ajugol -Harpagoside	 <p>Ajugol</p>	Antibactérienne, antioxydante, antiinflammatoire, antinociceptive, cicatrisante.	(AKDEMIR <i>et al.</i> , 2004) (SENATORE <i>et al.</i> , 2006) (KUPELI <i>et al.</i> , 2007) (TATLI <i>et al.</i> , 2007)

Chapitre III : Etude Phytochimique de la plante « *Verbascum sinuatum* »

<p>Saponines</p>	<p>-Ilwensisaponine A -Ilwensisaponine C</p>	 <p>Ilwensisaponine C</p>	<p>Diurétique, laxative, expectorante, anti-inflammatoire, antinociceptive, antioxydante, antifongique et cytotoxique.</p>	<p>(KAHRAMAN <i>et al</i>, 2012) (ALIPIEVA <i>et al</i>, 2014)(STOODEH <i>et al.</i>, 2016)</p>
<p>Alcaloïdes</p>	<p>-Verbacine -Verballocine -Verbasitrine</p>	 <p>Verbacine</p>	<p>Anti-inflammatoire, antalgique, antimicrobienne, Antispasmodique et hypotensive.</p>	<p>(BIENZ <i>et al</i>, 2002) (ALIPIEVA <i>et al</i> 2014) (JAMSHIDIKIA <i>et al.</i>, 2018)</p>

Deuxième partie : matériels et méthodes

➤ **Matériels**• **Matériel végétale**

Plante *verbascum suniatum* de la région D'el Taref.

• **Matériel biologique**

• Souches bactériennes testées :

- E. coli
- Proteus mirabilis
- Staphylococcus aureus
- klebsiella pneumoniae

• **Matériels au laboratoire**

- *Microscope optique*
- *Plaques de CCM*
- *Cuve (chambre de migration)*
- *Extracteur*
- *Séccateur, papier absorbant, sachets en papier*
- *Micropipette*
- *Etuve*
- *Four*
- *Plaque chauffante*
- *Fiole*
- *Flacons en verre fumé et stérilisés*
- *Erlenmeyer*
- *Des lames*
- *Lamelles*
- *Balance*
- *Agitateur*
- *Tamis*
- *Des écouvillons*
- *Des boites a pétries*
- *Pipette pasteur*
- *Disque stérile*

- Pince stérile
- Emboutes
- **Réactifs**
- Eau distillé
- Eau de javel
- Acide acétique
- NaOH
- Vert de méthyle.
- Rouge congo
- HCL
- FeCL₃
- Acide sulfurique
- Ethanol a 75 %
- Méthanol
- Chloroforme
- Gélose Müller Hinton
- Gélose nutritive
- Diméthyle sulfoxyde (DMSO)
- Eau physiologique
- Solution KCL (1N)

➤ **Méthodes**

IV. Enquête ethnobotanique

Pour déterminer la place du *verbascum sinuatum* dans notre patrimoine culturel on a mené une enquête sous forme de questionnaire auprès de 100 personnes de la région d'el teref. L'enquête a été réalisée à l'aide d'une fiche sous forme de discussion avec des personnes prise au hasard.

Fiche d'enquête

Lieux de l'enquête :

N :

L'informateur :

Age :

Sexe :

La plante :

Connaissance :

Oui non

Utilisation :

.....
.....

Parties utiliser :

Feuilles	Fleurs	Racines	Plante entière

La forme

	Feuilles	Fleurs	Racines	Plante entière
Sec				
Frais				

Maladies traitées (cas d'utilisation) :

➤

Voie d'administration :

Interne

externe

La forme : - poudre : - décoction : - infusion : -
autres :

Posologie : (par jour) :

Durée de traitement :

Efficacité : oui

Non

IV.1. Présentation de site d'étude

II. 1.1. Situation géographique de la région d'étude

Notre zone d'étude Située à l'extrême nord-est de l'Algérie, la wilaya d'El Tarf est comprise entre les parallèles 36°23'25" et 36°57'7" de latitude Nord et 7°39'49" et 8°40'52" Est des longitudes. Issue du découpage administratif de 1984, elle s'étend sur une superficie de 2882,03 km² et comprend 24 communes. Elle est délimitée au nord par la mer Méditerranée, à l'est par la frontière algéro-tunisienne, à l'ouest par la wilaya d'Annaba, au sud-ouest par la wilaya de Guelma et au sud par la wilaya de Souk Ahras.

Le littoral s'ouvre sur une large façade maritime orientée est-ouest, rectiligne en général, mais sinueuse localement avec un linéaire d'environ 90 km

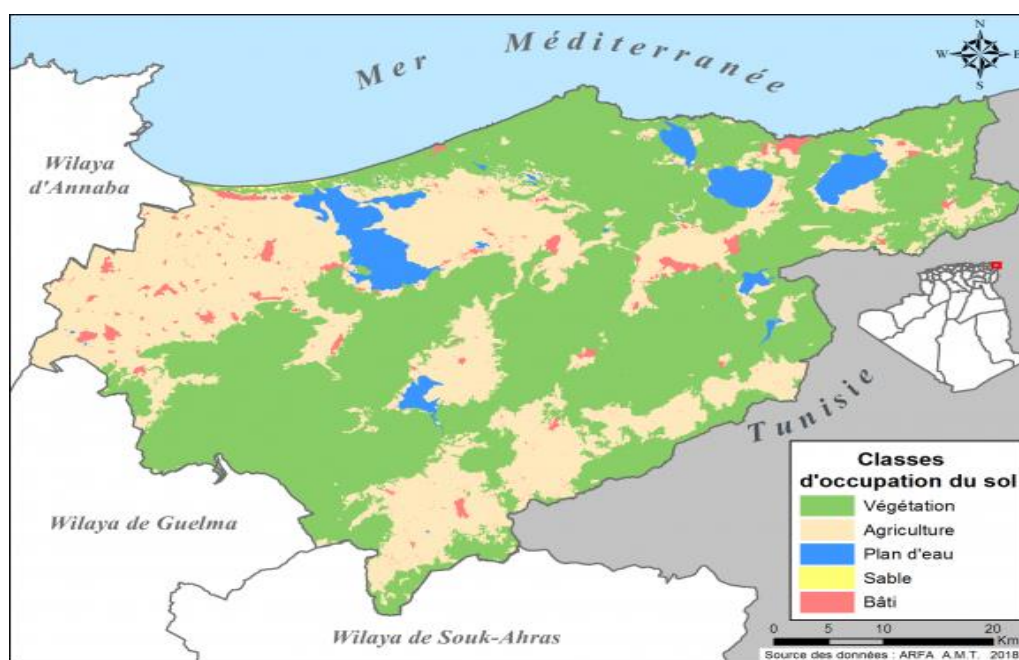


Figure 06 : localisation géographique de la région d'el Tarf : (Azzedine mohamed *et all* .2019)

IV.1.2. Les grands traits du cadre physique

IV.1.2.1. Topomorphologie

La topographie de la wilaya d'El Tarf s'intègre, globalement, dans les reliefs de l'extrémité nord-est de la chaîne tellienne algérienne.

Ce sont des reliefs qui s'organisent, généralement, suivant la direction NE-SO, comme il arrive de voir, secondairement et localement, des directions opposées. Le territoire de cette wilaya est caractérisé par un relief très accidenté dans sa plus grande partie au sud et par sa simplicité et sa platitude relative dans sa partie nord, à proximité de la mer.

Le caractère accidenté du domaine montagneux relève, en plus des altitudes absolues, qui, souvent dépassent les 500 m, aux fortes dénivellations et les fortes pentes.

Les dénivellations dans ce secteur sont généralement supérieures à 300 m entre les bas-fonds d'oueds et le haut des reliefs.

Les pentes sont très fortes au niveau de la montagne (>25%), moyennes sur les bas-reliefs, faibles au niveau de certaines collines et cordons dunaires littoraux (3-12,5%) et très faibles (<3%) au niveau des plaines et des vallées ouvertes vers la mer (M.A.T.E., 2010)

IV.1.2.2. Principaux ensembles topographiques

L'analyse détaillée des reliefs de cette wilaya permet de suivre les grands traits de leur

Organisation et d'identifier la présence de trois grands ensembles topographiques :

- L'ensemble de la plaine de Ben M'Hidi et de ses vallées.
- L'ensemble montagneux.
- L'ensemble collinaire et des bas-reliefs frontaliers.

IV.1.3 Le couvert végétal de la région

Les types de végétation forestière et la flore de la wilaya d'el tarf y varient beaucoup suivant les conditions climatiques et édaphiques. Les massifs forestiers occupent une superficie de plus de 165.828,31 ha représentant un taux de couverture de 57%.

V. Récolte. Séchage et conservation du *verbascum sinuatum*

V.1. Récolte

Une seule récolte on printemps dans la région d'el taref pendant le mois du mars (le 12 mars 2023) Le matin ou les conditions climatique sont favorable.



Figure 07 : la récolte du *verbascum suniatum* a la région d'el taref (cliché Boukouche. Bennemer, 2023)

V.2. Séchage

Les plante récoltées (partie aérienne les feuilles) et (les racines) séchés à l'ombre sur un papier absorbant et dans un molieu sec pendant 15 jours



Figure 08 : Le séchage de la plante (A : les feuilles - B : les racines) (cliché Boukouche. Bennemer ; 2023)

V.3. Conservation

Après le séchage les deux parties (feuilles et racines) sont bien conservées sur des papiers dans un milieu sec.

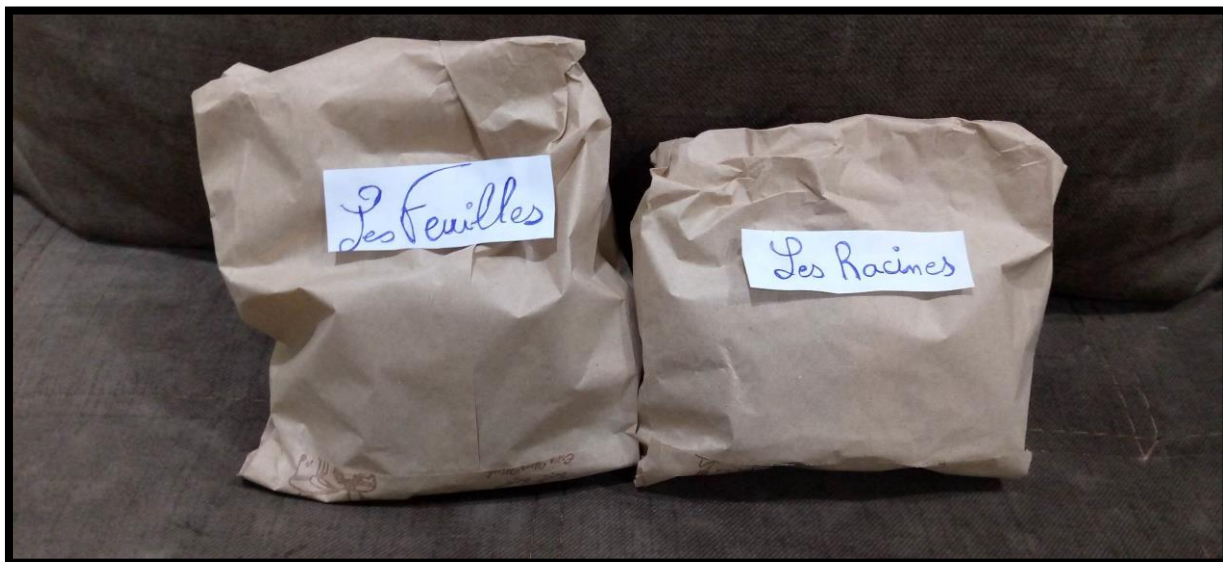


Figure 09 : Conservation des deux parties de la plante (feuilles et racines) séchées (**cliché Boukouche, bennemer ; 2023**)

VI. Extraction par hydro distillation

➤ Principe

L'entraînement à la vapeur d'eau consiste à récupérer l'huile essentielle contenue dans les cellules végétales au moyen de la vapeur d'eau

➤ Technique utilisée

L'extraction du *Verbascum sinuatum* a été effectuée par hydro distillation dans un appareil de type Clevenger

On prend 50g de la plante séchée de *verbascum sinuatum* avec 400 ml de l'eau est introduite

Dans une ballon (l'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures).la fiole ou le ballon avec son contenu mise sur le chauffe ballon

Les vapeurs d'eau sont entraînées et générées dans la fiole qui dirigée vers le col de cygne (le coude) qui relie la fiole avec le réfrigérant

Une fois arrivé dans le réfrigérant elles se condensent rapidement et tombent dans l'ampoule à décantation qui permet la séparation immédiate par la densité.

➤ **Récupération de l'hydrolat**

Le mélange Filtré successivement à travers une passoire puis un papier Wathman afin d'obtenir un liquide limpide et homogène qui s'appelle l'hydrolat

L'extrait aqueux récupéré a été bien conservé dans un flacon sombre (à l'abri de la lumière) pour éviter la contamination



Figure n 10 : extraction par hydro distillation des feuilles de la plante de *Verbascum Sinuatum* cliché par (Boukouche et Bennemer 2023)

VII. Les coupes histologiques

VII.1. Réalisation des coupes

A l'aide d'un bistouri on découpe les feuilles et les tiges et aussi la racine sélectionnée d'une manière à obtenir des tranches transversales très fines. Ces coupes sont déposées dans des receptions prêts à la coloration.



Figure 11 : La réalisation de la coupe des feuilles et des racines (cliché Boukouche ; Bennemer ; 2023)

VII.2. Coloration des parois

Les coupes réalisées sont immédiatement plongées dans des différentes solutions :

- Hypochlorite de sodium (eau de javel) pendant 15 min afin d'éliminer le contenu cellulaire et n'avoir que les parois squelettiques.
- Lavés soigneusement les échantillons à l'eau distillé pour enlever l'excès d'hypochlorite.
- Deuxième lavage a l'eau distillée.
- Vert de méthyle pendant 10 à 15 min qui colore les parois lignifiées et les tissus sclérifiés en vert, bleu ou violet (**Langeron, 1934**)
- Lavage et placer les coupes dans la solution de rouge du congo (8a10 min) pour colorer les tissus cellulosiques en rose.

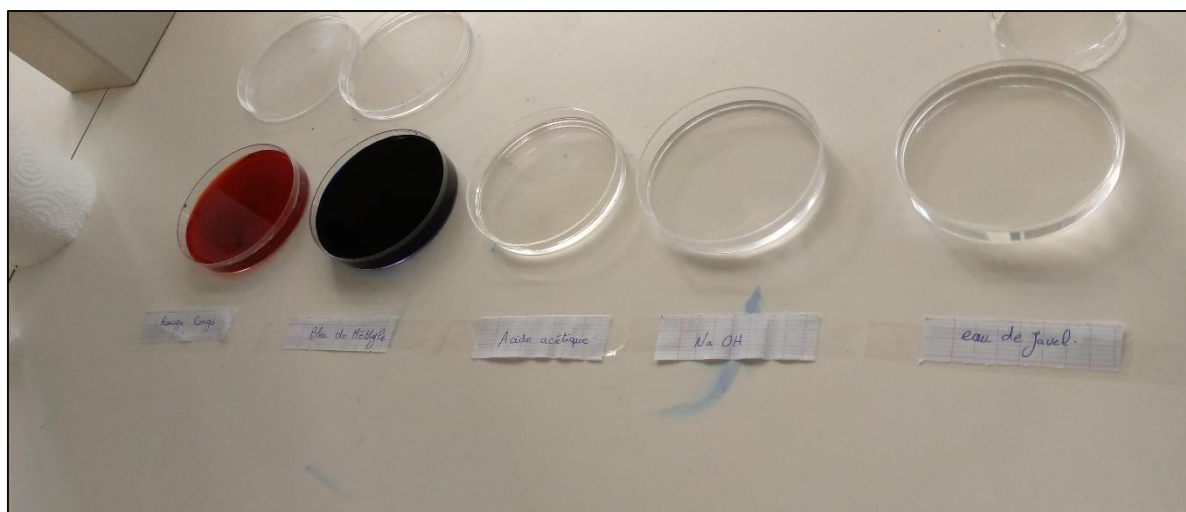


Figure 12 : La coloration des parois (cliché. Boukouche ; Bennemer ; 2023)

VII.3. Montage entre lame et lamelle

Les échantillons sont montés entre lame et lamelle à l'aide du baume de canada, ensuite nous avons procédé à l'observation microscopique au grossissement (X 10). Les meilleures coupes observées ont été prises en photo grâce à un système photographique monté sur le microscope optique.

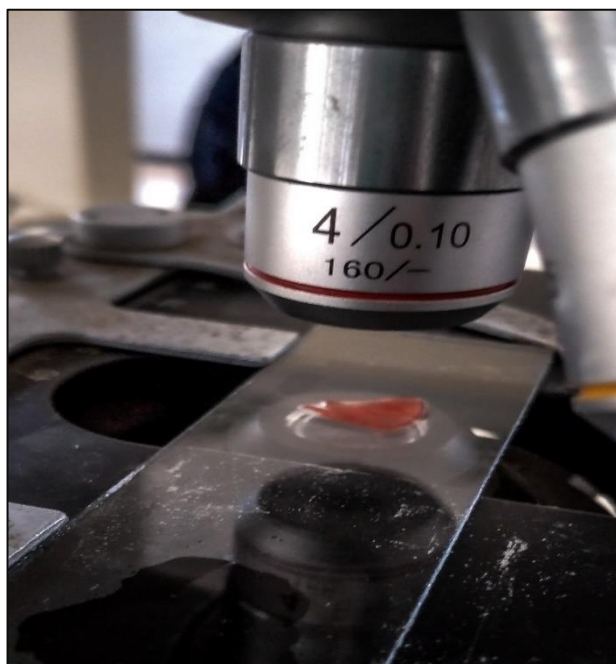


Figure 13 : Observation des coupes histologiques sous microscope optique (cliché Boukouche, Bennemer 2023)

➤ Préparation des extraits

• Extrait aqueux

- Préparer une infusion en portant à ébullition, pendant 15 min 1 g de la poudre (feuilles).
- On filtre le mélange, puis on rince avec de l'eau chaud jusqu'à obtenir 20 ml de filtrat.
- Le filtrat récupéré conservé à l'obscurité à 4 C.
- Le même protocole pour la poudre des racines.



Figure 14 : préparation de l'extrait aqueux (feuilles et racines) *Verbascum sinuatum* (cliché Boukouche ; Bennemer ; 2023)

- **Extrait méthanoïque**

Introduire 1 g de poudre végétale (feuilles / racines) dans 20 ml de méthanol C_2H_5OH , on le laisse macérer pendant 24h

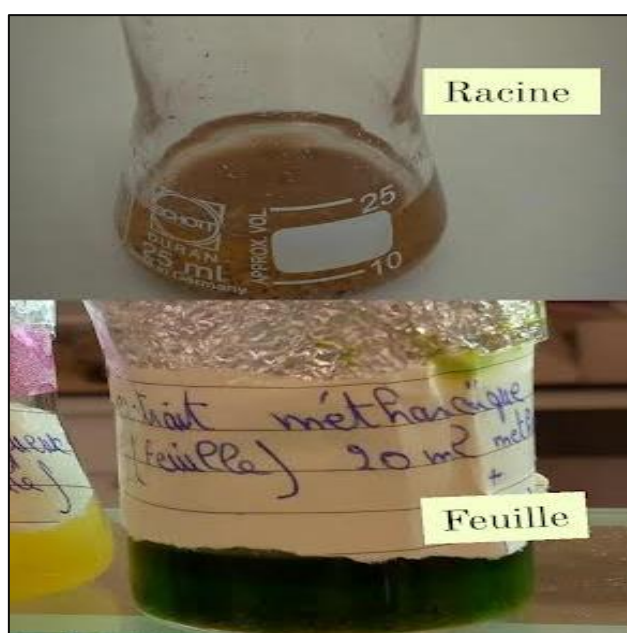


Figure 15 : extrait méthanoïque (feuilles / racine) de la plante *Verbascum sinuatum* (cliché. Boukouche : Bennemer ; 2023).

VIII. Screening photochimique

VIII.1. Définition

Ce test permet une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation en utilisant des réactifs spécifiques, en vue de mettre en évidence des substances chimiques contenues dans la plante de *Verbascum sinuatum*. Ce screening a été réalisé sur la poudre de la plante, son décoctât et sur son extrait méthanoïque.

Les résultats obtenus ont été évalués comme suit :

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + Faiblement positif ; - : Négatif ; ND : Non déterminé

a- Mise en évidence des saponosides

- 5 ml de la solution à tester sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillé pendant 2 min
La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides.
- Pas de mousse : test négatif
- Mousse moins de 1 cm : (test faiblement positif)
- Mousse de 1 – 2 cm : (test positif)
- Mousse plus de 2 cm : (test très positif) (**Trease E et Evans W C. 1987**)

b- Tanins

Dix grammes de la poudre sèche sont extraits avec une solution aqueuse de C₂H₅OH à 1 %. On filtre puis on ajoute au filtrat quelques gouttes d'une solution de FeCl₃. L'apparition d'une couleur verte foncée indique la présence des tanins (**Grunwald et Janick, 2006**)

c- Flavonoïdes

Dix grammes de la poudre sèche sont macérés dans 150 ml d'HCL pendant 24h. Ensuite, 10 ml du filtrat est mélangé avec du NH₄OH et mis au repos 3h. L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes (**Solfo RR, 1973 et Harborne J B, 1989**).

d- Stérols et terpènes

Macérer 5 g de poudre végétale dans 20 ml d'éther pendant 24 heures. Après filtration on évapore le filtrat. Puis on ajoute 0,5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml de chloroforme avec un

peu d'acide sulfurique ; on observe un anneau rouge-brunâtre ou marron foncé, alors qu'en présence de stérols et terpènes (**Trease E et Evans W C, 1987**).

e- Cardénolides cardiotoniques

Macérer 5 g de la poudre pulvérisées dans 40 ml d'eau distillée pendant 24h. Filtrer et prélever 10ml du filtrat, l'extraire avec un mélange de 10 ml de CHCL₃ et de C₂H₅OH. Évaporer la phase organique et dissoudre le précipité dans 3 ml de CH₃COOH. Ajouter quelques gouttes de FeCl₃ suivi de 1ml de H₂SO₄ concentré sur les parois du tube à essai. L'apparition d'une couleur vert bleu dans la phase d'acide indique la présence des cardénolides (**Harborne, J B, 1994**)

f- Composés réducteurs

Leur détection consiste à introduire 2ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, puis 2 ml du liquide de Fehling sont ajoutés. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8min l'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**Bentablet Lasgaa N, 2015**)

g- Alcaloïdes

Dans un bicher macéré 5 g de poudre végétal dans 25 ml de H₂SO₄ (10 %) 24h. après la filtration on ajoute à 1 ml de macéré quelques gouttes de réactif de Mayer ; L'apparition de précipité brun traduit la présence des alcaloïdes (**Kanoun,2011**).

h- Coumarines

A 10 g de la poudre végétale sont versées quelques gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier imité d'une solution de NaOH et porté dans un bain marie pendant quelques minutes. Puis 0,5 ml de NH₄OH dilué (10 %) sont ajoutés. Deux taches sont déposées sur un papier filtre puis examiné sous la lumière UV. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (**Solfo R R, 1973 et Harborne J B, 1989**)

i- Glycoside cardiaque :

Deux ml de chloroforme est ajouté à 1 ml de l'extrait ; l'apparition d'une coloration brun-rougeâtre après l'ajoute de H₂SO₄ indique la présence des glycosides cardiaques (**YaMF et al, 2009**).

j- Mucilage :

Introduire 1 ml de décoté dans tube à essai puis 5 ml d'alcool absolu est ajouté. L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence de mucilage. (**Awor Samseny R-R 2003**).

k- Anthraquinones :

A 1 ml de l'extrait est ajouté 1 ml de NH₄OH. Après agitation, leur présence est indiquée par une coloration violette. (**Olyede O I, 2005**).

l- Anthocyanes :

Infusion de 5g de poudre végétal dans 100ml d'eau bouillant (15min), après la filtration on mètre 2ml d'infusé et on ajoute 2ml HCL avec quelques gouttes d'ammoniac ; si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, conclure à la présence d'anthocyanes. (**Debray Y M et al, 1971**).

m- Quinones libres

A 1ml d'extrait est ajouté 0,1ml d'hydroxyde de sodium(NaOH) à 10%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libre. (**Oloyede OI, 2005**).

n- Amidon :

Un gramme de la poudre est macéré dans 30ml d'eau distillée chaude pendant 1h. Après filtration, des gouttes de liquide de Fehling sont ajoutées à la solution aqueuse. L'apparition d'une couleur bleue violacé indique la présence de l'amidon. (**Solfo, 1973 et Harborne,1989**).

o- Les polyphénols :

A 2ml d'extrait est ajoutée une goutte d'une solution éthanoïque de chlorure de fer (FeCl₃). La présence des phénols est mise en évidence par une coloration bleue noirâtre ou vert foncé. (**Koffi N et al, 2009**).

IX. L'activité antimicrobienne

Ce travail a eu lieu au niveau de laboratoire de polycliniques **Merzoug Ibrahim – el Tarf**

Deux méthodes ont été utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait de la plante *Verbascum sinuatum*. La première qualitative

➤ L'aromatogramme

Nous avons adopté la technique de diffusion sur milieu solide. Elle consiste à déposer des disques de papier buvard imprégnés d'extrait sur une gélose (Mueller Hinton) préalablement ensemencée avec la bactérie à étudier.

IX.1. Préparation des dilutions de l'extrait

Les différentes concentrations d'extrait ont été préparées avec l'eau physiologique stérile. On a préparé 5 dilutions de même volume :

- Dans le premier flacon, 10ml de l'extrait concentrée a été déposé.
- Dans le deuxième flacon, 5ml d'extrait + 5ml de l'eau physiologique stérile (dilution à $\frac{1}{2}$).

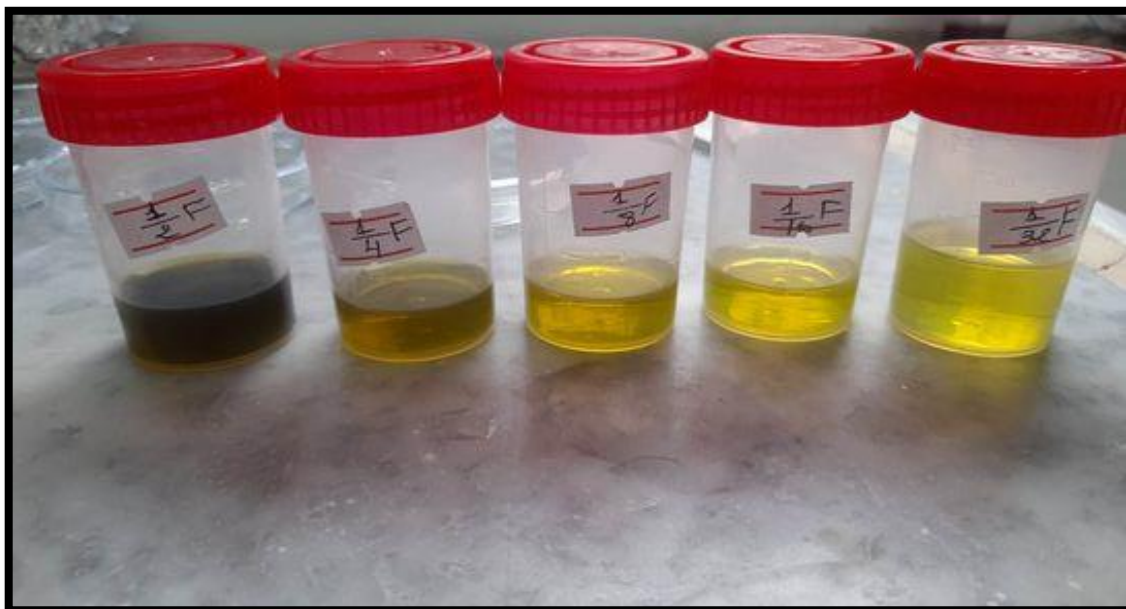


Figure 16 : Les différentes dilutions (cliché **Bennemer, Boukouche ; 2023**)

IX.2. Souches bactériennes testée

Les souches bactériennes utilisées dans cette recherche pour l'activité antibactérienne sont des souches référencées un gram + c'est : staphylococcus aureus et une souche gram – : Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae.



Figure 17 : Les souches bactériennes utilisées (cliché par Benemer, Boukouche ; 2023)

IX.3. Description des bactéries étudiées

- **Klebsiella pneumoniae**

Est une espèce pathogène opportuniste (**Brisse, 2004**). Elle est fréquemment rencontrée dans la nature : eaux de surface, du sol, du bois et des végétaux (**El Fertas et al ; 2012**).

Elle est présente dans le tube digestif de l'homme et des animaux, et elle commensale des voies respiratoires (**Joly et Reynaud, 2002**). Est un agent classique et majeur d'infections nosocomiales particulièrement (**Boukadida et al ; 2002**).

Elle est l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections urinaires (**Ben Haj et al ; 2010**). *Klebsiella pneumoniae* sont à l'origine d'infections survenant dans les unités de soins intensifs (**Carpentier et al ; 2012**).

Elles peuvent également causer des bactériémies, d'abcès cérébral et des maladies chroniques comme la méningite (**Botelho, 2007**).

L'ozène (une rhinite atrophique). Elle est responsable d'infections variées de l'arbre respiratoire et au niveau cérébral (méningites et abcès) (**Joly et Reynaud, 2002**).

Elles peuvent aussi, provoquer une infection granulomateuse chronique des voies respiratoires supérieures (cavité nasale). (**Botelho, 2007**).

- **Escherichia coli**

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (**Nauciel, 2000**).

- **Proteus mirabilis**

Les proteus sont un genre de bactéries Uropathogènes majeures (c'est à dire responsables d'infections urinaires) qui peuvent également infecter la peau et les tissus (plaies, abcès divers). Ces bactéries sont souvent impliquées dans des infections nosocomiales (deux tiers des infections à *Proteus* sont d'origine hospitalière, les infections urinaires étant les plus fréquentes). En laboratoire, les bactéries *Proteus mirabilis* dégagent une forte odeur qui rappelle celle du poisson pourri (**Peggy Cardin, 2021**).

- **Staphylococcus aureus**

Le staphylococcus aureus est une bactérie que l'on peut trouver normalement sur la peau et les muqueuses. Certains staphylococcus aureus produisent des toxines et peuvent être responsables de divers syndromes, par exemple des intoxications alimentaires.

IX.4. Milieu

- Gélose Mueller Hinton(MH) coulée en boites de pétri à une épaisseur de 4mm.

- Les géloses sont séchées avant l'emploi.

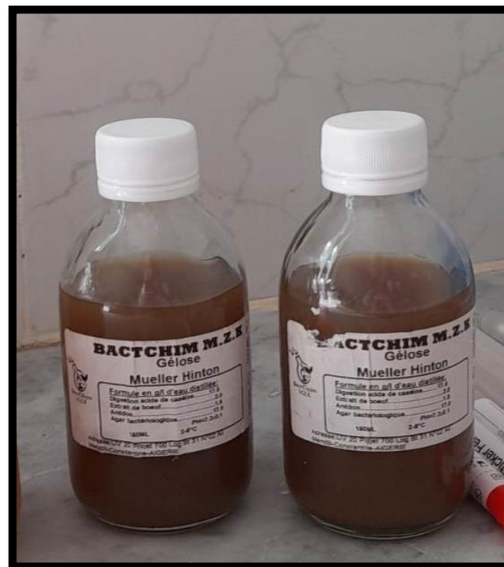


Figure 18 : Préparation du gélose nutritive et Mueller Hinton **cliché par (boukouche et bnnemer ; 2023)**

- **Préparation de l'inoculum**

- A l'aide d'une pipette pasteur, on prélève quelques colonies pures et bien isolées qu'on décharge dans un tube contenant 5 à 10ml d'eau physiologique stérile.

- Bien Homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5Mc Ferland ou à une D.O de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm.

- L'inoculum peut être ajusté et ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

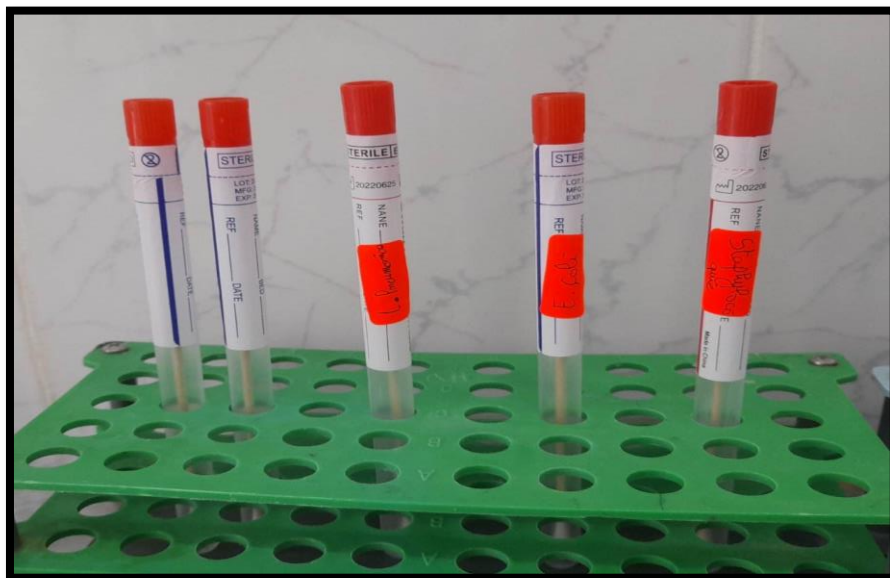


Figure 19 : Préparation des inoculum cliché par (Boukouche et Bennemer ; 2023)

- L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

- **L'ensemencement**

- Après la solidification du milieu de culture (MH), tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.

- Essorer en le pressant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

- Frotter l'écouvillon sur la surface gélosée, de haut vers le bas, en stries serrées.

- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum.

- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

- **Application des disques**

- Déposer des disques de papier buvard stérile préalablement imprégnés de l'extrait de la molène sinuée aux différentes concentrations.

- Il faut prendre soin d'égoutter délicatement les disques imprégnés avant de les déposer.

- Presser chaque disque à l'aide d'une pince stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliquée, le ne doit pas être déplacé.

▪ **Incubation**

Les boites ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h.



Figure 20 : Incubation à 37°C (cliché par Bennemer, Boukouche ; 2023)

▪ **Lecture**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque. 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 de l'extrait de la molène sinuée :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 et 14mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19mm.
- Extrêmement sensible (++++): diamètre 20mm.

On à mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'extérieur de la boite fermée. Le classement des bactéries se fait dans l'une des catégories : sensible ou résistante.

Troisième partie : résultat et discussion

I. Interprétation de l'enquête ethnobotanique :

A partir des données des fiches de l'enquête ethnobotanique nous avons calculé les différentes fréquences ou pourcentage de l'utilisation du *verbascum sinuatum* dans la région d'étude (El Tarf)

I.1. Connaissance de la plante :

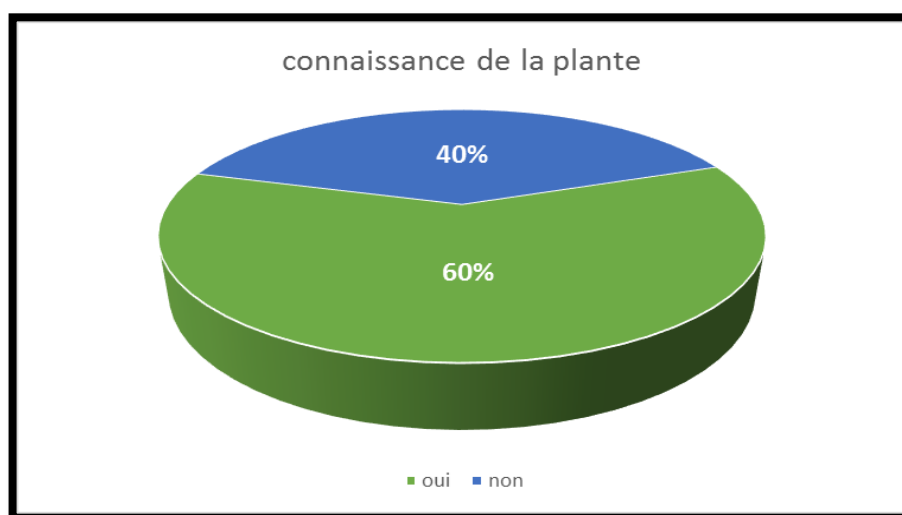


Figure n 21 : pourcentage de la connaissance du *verbascum sinuatum* dans la région D'el taraf

D'après les résultats obtenus, nous remarquons une bonne connaissance 60 % de la plante et cela peut être dû à l'abondance de l'espèce dans la région.

De même, **Benzaoui dallal (2021)**, a trouvé une connaissance moyenne de l'espèce dans la région de Ain el Baida (52%) de la population qui l'utilisent généralement.

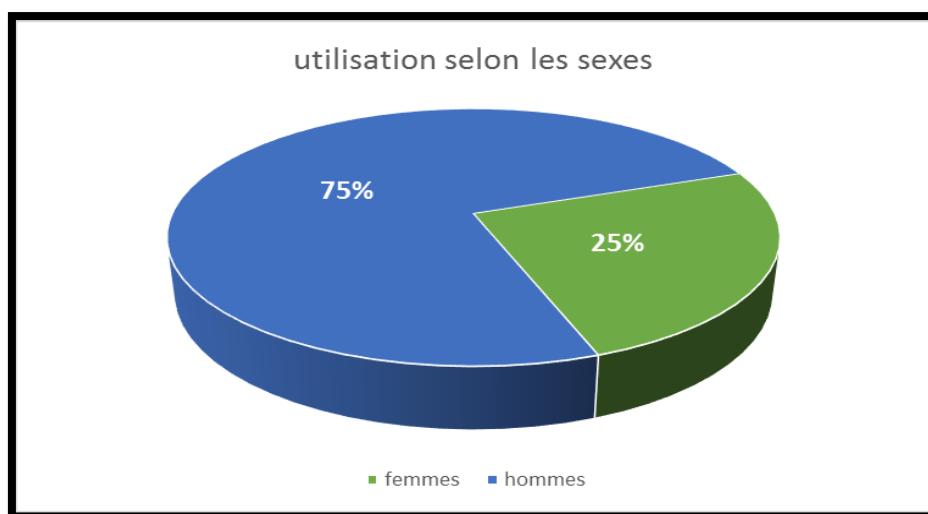
I.2. Utilisation du *verbascum sinuatum* selon les sexes :

Figure n 22 : pourcentage d'utilisation du *verbascum sinuatum* dans la région d'étude selon les sexes

Les résultats obtenus montrent que La plante est plus utilisée par les hommes avec un pourcentage de 75 %.

Par contre **Benzaoui dallal (2021)** dans la région de Aien el Baida , le sexe féminin prédomine avec un pourcentage de 62 %. Par ailleurs, un pourcentage de 38 % chez le sexe masculin. Ce qui explique le fait que les femmes sont plus concernées par le traitement phytothérapeutique et préparation des recettes à base de plantes médicinales.

I.3. Utilisation selon le mode d'emploi

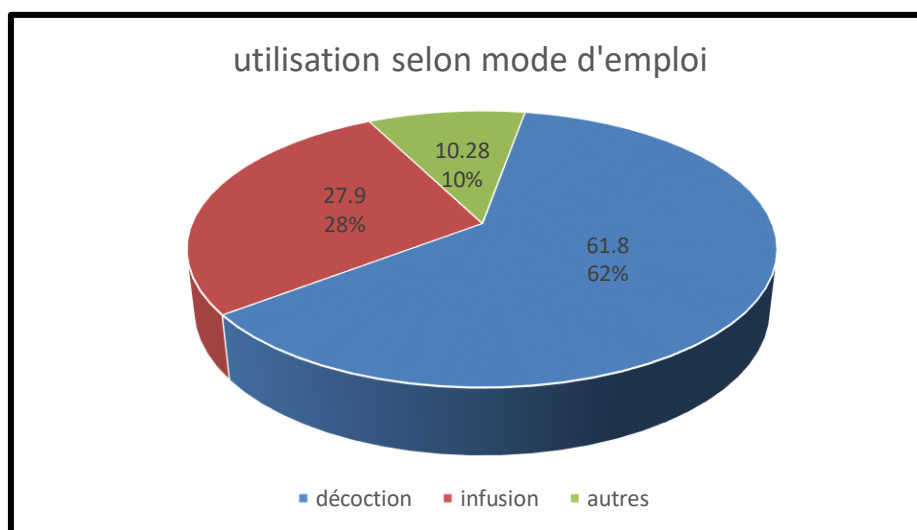


Figure n 23 : pourcentage de l'utilisation de verbascum sinuatum selon le mode d'emploi

Les résultats montrent que la décoction est la méthode la plus utilisée à 61.8 % par rapport aux autres modes d'emploi. 27.9 % de la population utilisent l'infusion et 10.28 autres méthodes

Par contre madame **Benzaoui Dallal (2021)** a trouvé que La décoction constitue le mode d'emploi le plus fréquent (40%). Elle est suivie par la préparation par l'infusion et en cru avec respectivement 32% et 9%. Les autres modes d'emplois (poudre, cataplasme, macération, cuit, bain) représentent respectivement 7%, 5%, 3%, 3%, 1%.)

I.4. Utilisation selon la partie utilisée

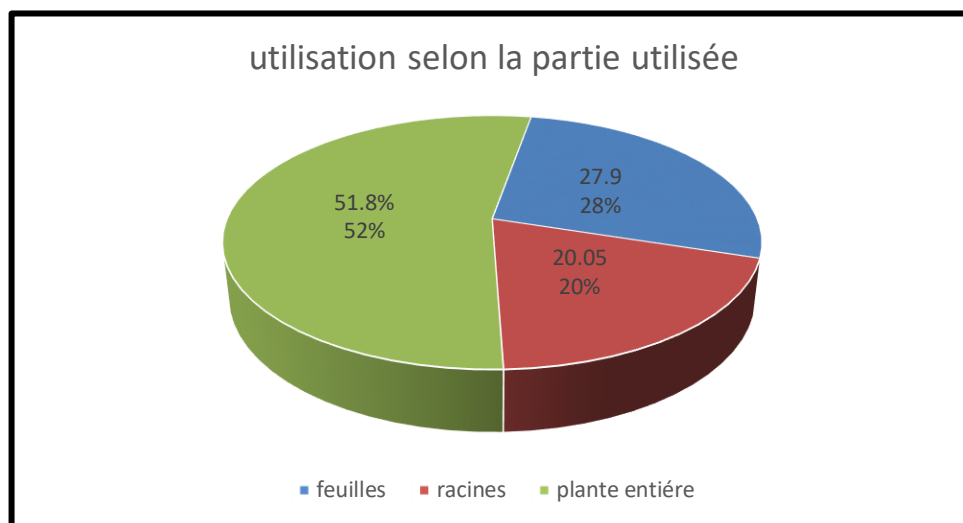


Figure n 24 : pourcentage d'utilisation de *verbascum sinuatum* selon la partie utilisée

A la lumière des résultats obtenus la plante *verbascum sinuatum* serait utilisé comme plante entière à 52 %, les feuilles 28 %. Et les racines 20%. Ceci peut s'expliquer par le fait que toutes les parties de la plante et surtout les feuilles ont un effet thérapeutique très remarquable. Selon les résultats de **Benzaoui dallal (2021)** la plupart des personnes interrogées utilisent les parties aériennes les feuilles.

I.5. Voie d'utilisation

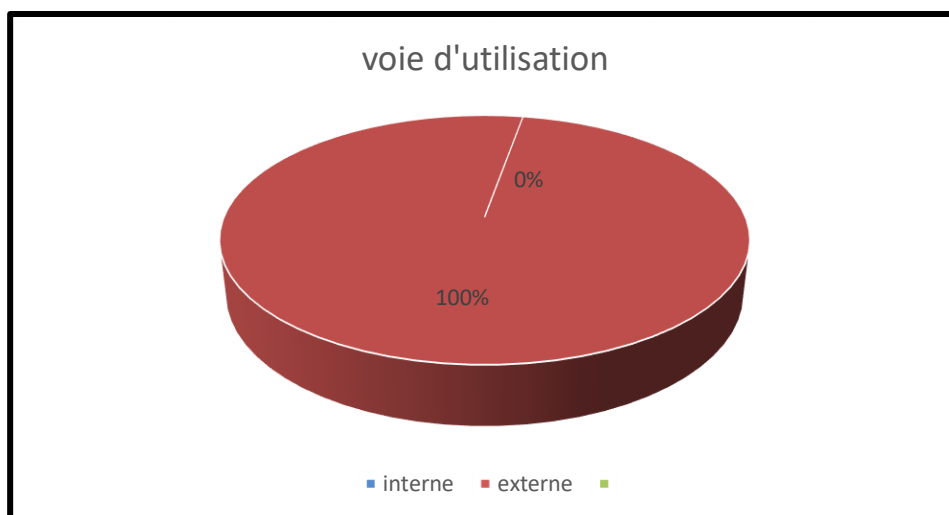


Figure n 25 : pourcentage de le voie d'utilisation de *verbascum sinuatum*

D'après les résultats obtenus on a trouvé que l'utilisation de cette plante quel que soit la partie utilisée est une utilisation externe avec un pourcentage de 100 %.

I.6. Utilisation thérapeutique de la plante *verbascum sinuatum*

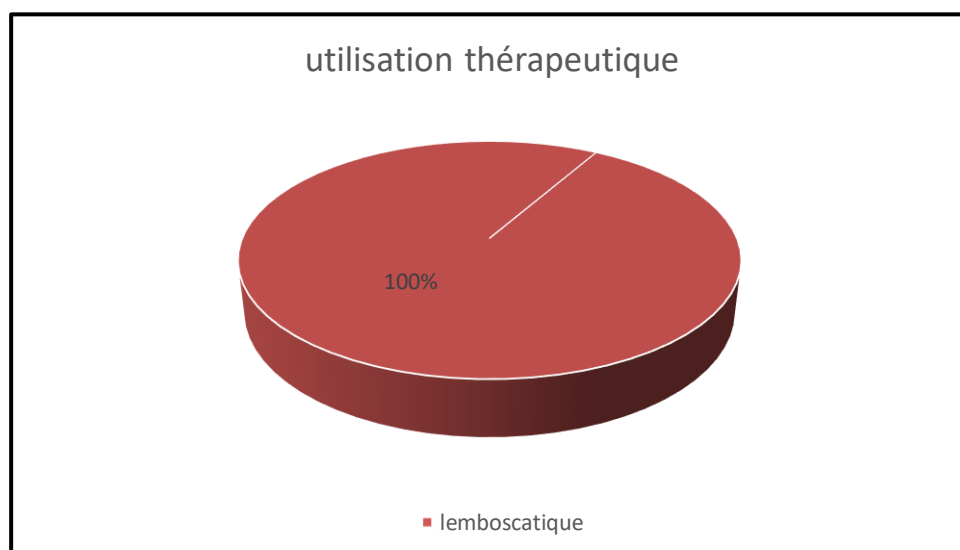


Figure n 26 : pourcentage de l'utilisation thérapeutique de la plante de *Verbascum sinuatum*

Les résultats montrés par la figure on peut dire que la pathologie la plus traitée est les maladies de Lemboscatique (عرق النسا) avec un pourcentage de 100 %.

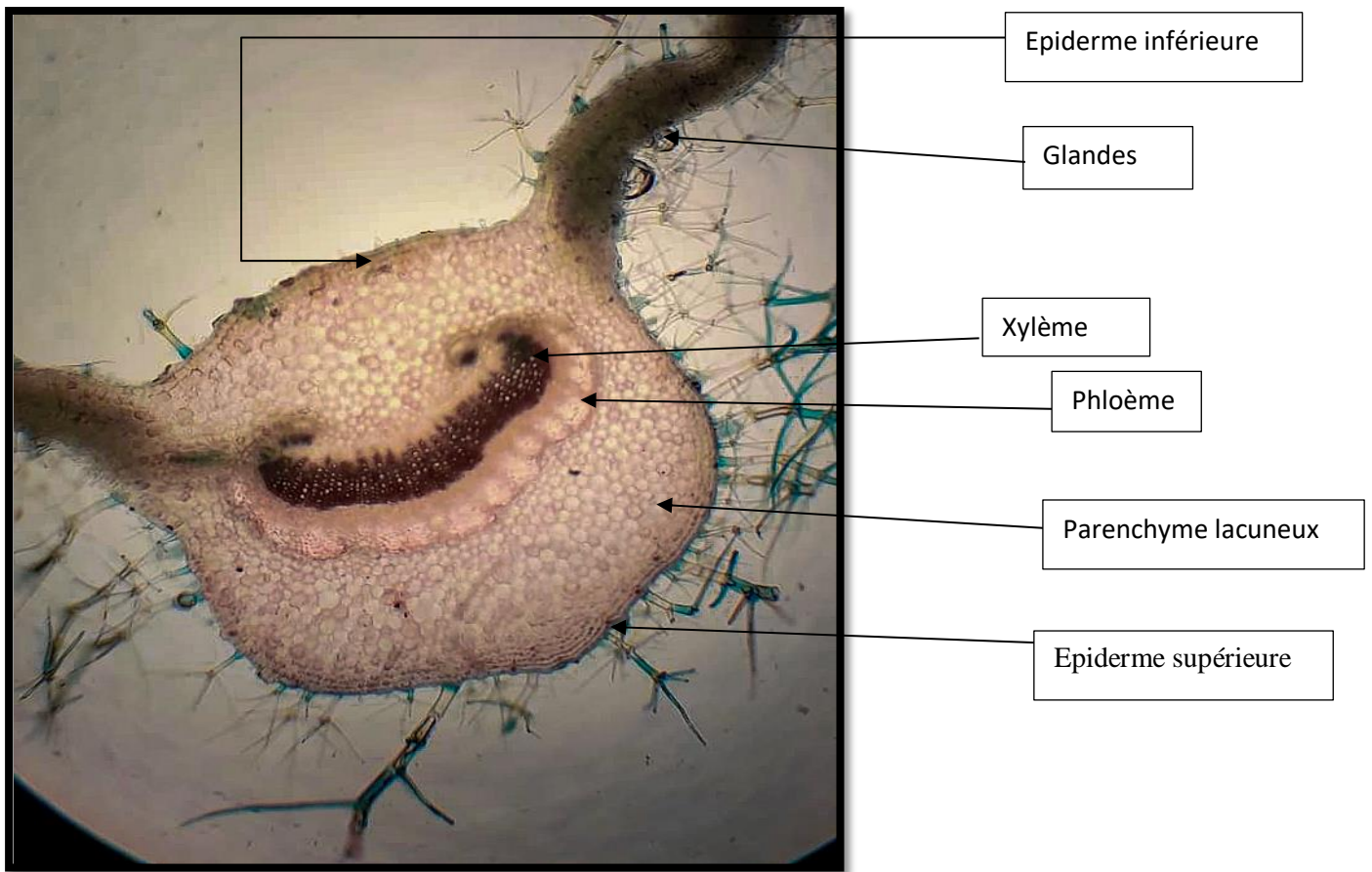
II. Récupération de l'extrait aqueux :

- L'hydrolat de la *Verbascum sinuatum* est extraire par technique de l'hydro distillation, il est un liquide mobile, d'une coloration vert foncé et a odeur très forte et camphrée près de thé.
- L'extrait récupéré est conserver dans un flacon on vert sombre.



Figure 27 : l'hydrolat de la plante *Verbascum sinuatum* cliché (**Boukouche et Bennemer ; 2023**)

III. L'interprétation des coupes histologiques



GX 40

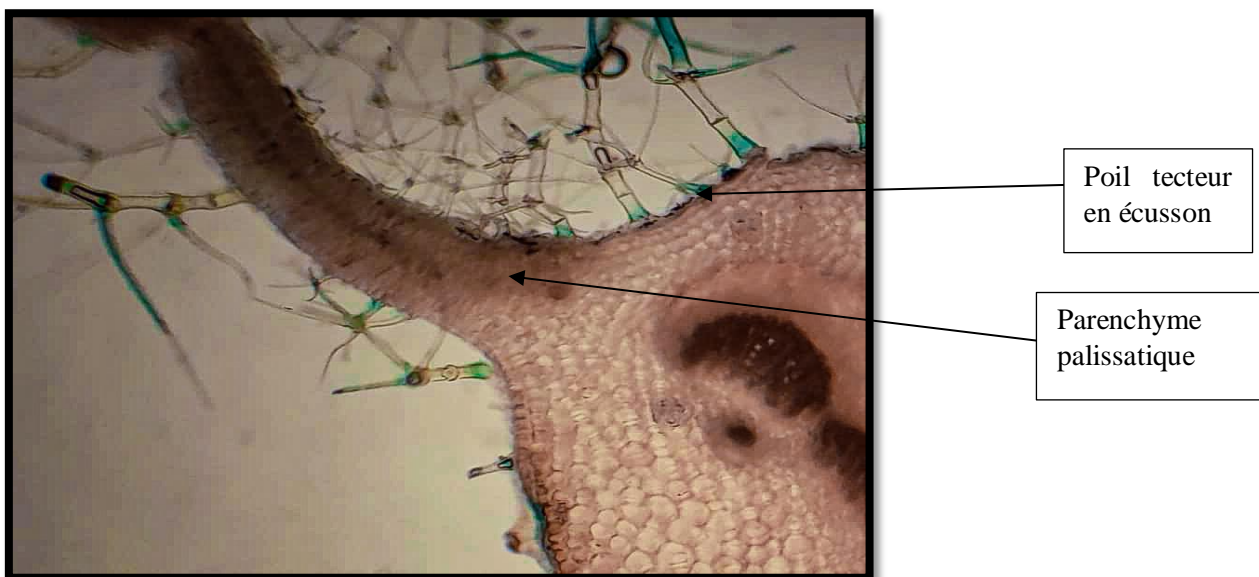


Figure 28 : coupe transversale de la feuille de *Verbascum sinuatum* (GX 40)

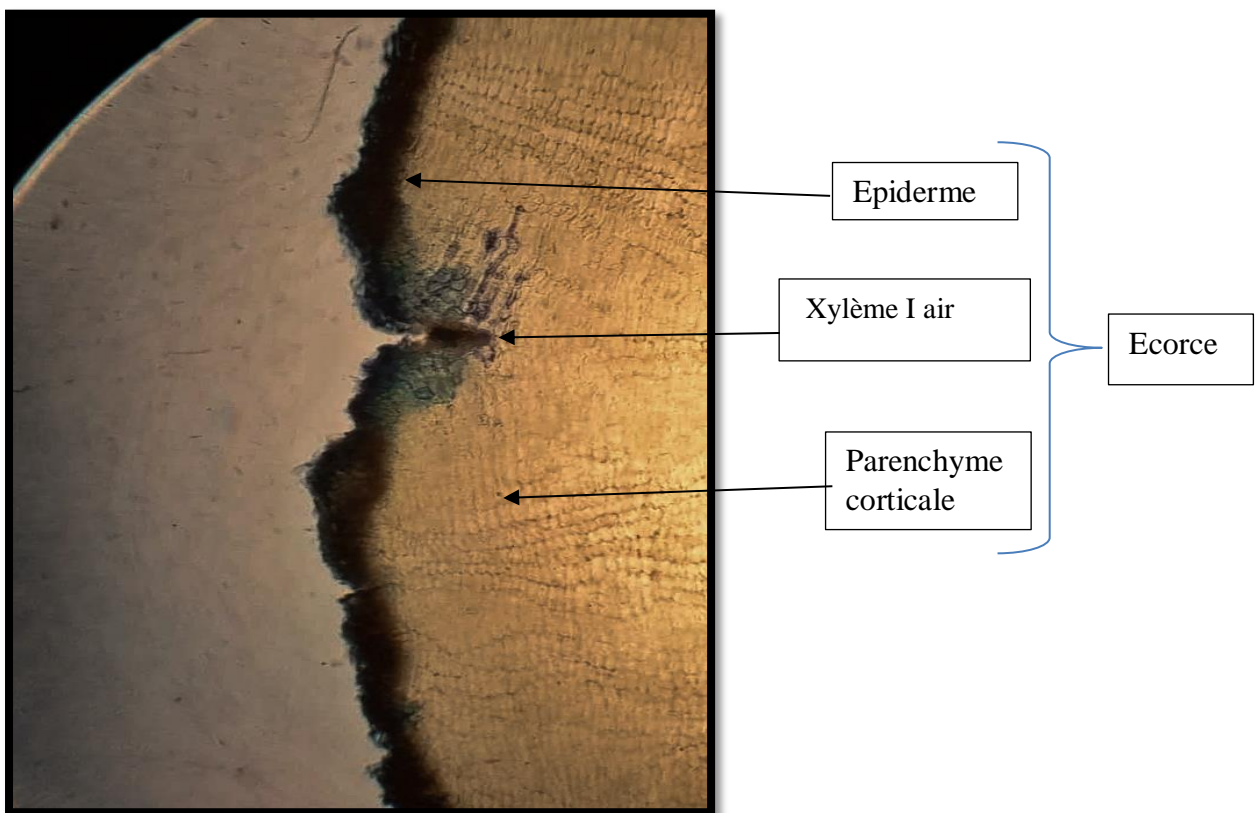
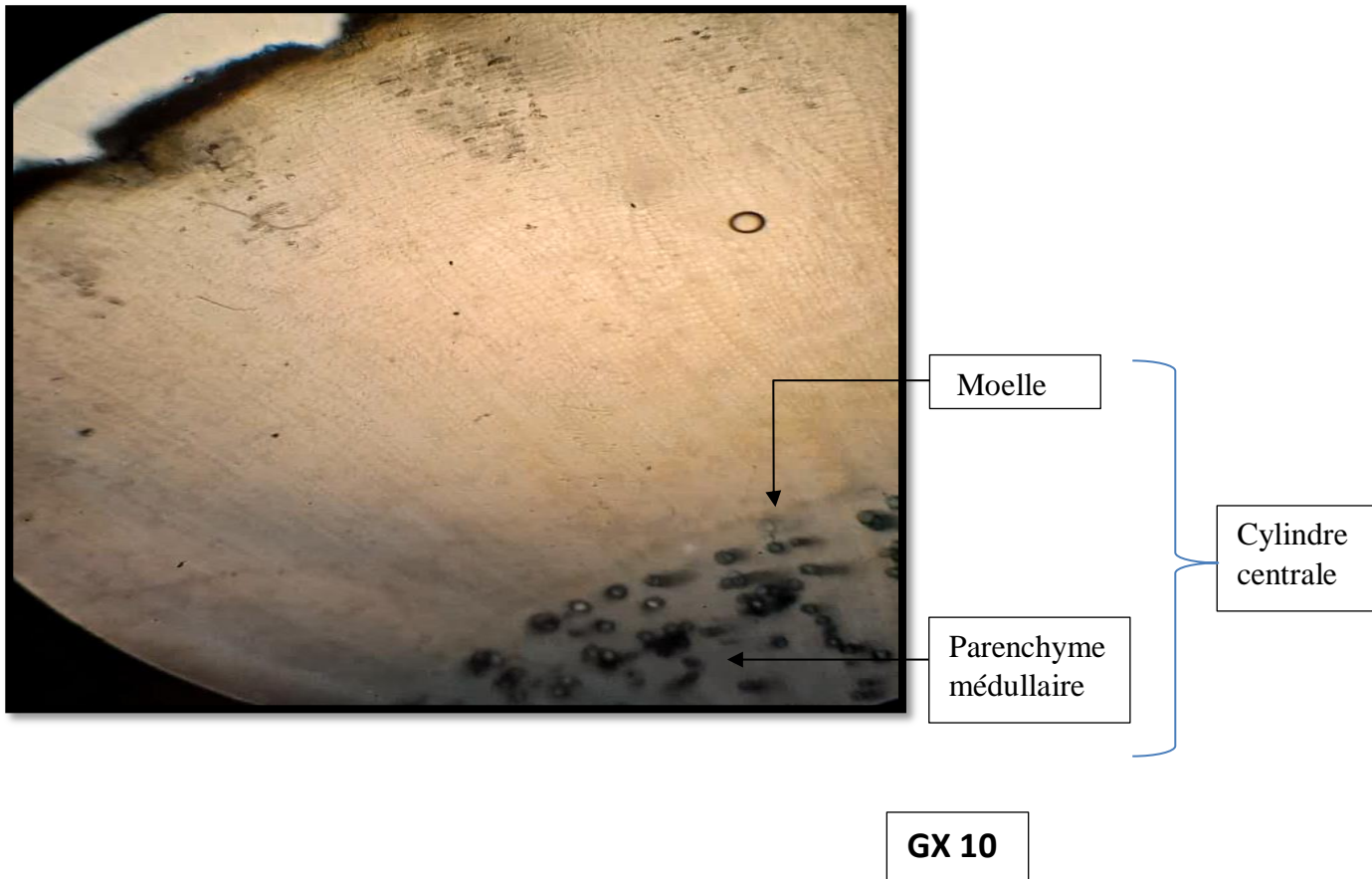


Figure 29 : coupe transversale d'une jeune racine de *Verbascum sinuatum* (GX 10)

IV. Interprétation des coupes histologique :

Des coupes histologiques ont été réalisées au niveau des organes végétatifs (feuilles tige et racine) de *verbascum sinuatum*. Ces coupes nous permettent d'établir les différentes structures histologiques existantes, ainsi que l'identification des structures caractéristique de la famille des scrofulariacées.

- **La feuille** : la figure représente une coupe transversale sur une feuille du *Verbascum sinuatum* qui montre la forme générale de celle-ci, longue à l'extrémité des deux cotés



Figure 30 : coupe transversale de la feuille de *Verbascum sinuatum*(GX10)

Au grossissement GX 40 nous observons les tissus suivants

Epiderme inferieure : apparue comme une assise superficielle constituées par une couche unique des cellules et des poiles

Parenchyme lacuneux : situé à la face supérieure de la feuille, formé de cellules très régulière et clair. Ces cellules forment un siège d'une circulation intense entre le tissu palissadique et les ramifications des faisceaux libéro-ligneux

Parenchyme palissadique : est une collaboration des cellules allongées collées les unes aux autres perpendiculairement à l'épiderme.

Epiderme supérieure : constituée par une couche unique des cellules de revêtements, riche en poils et en glandes, elle est aussi identique à l'épiderme inférieure.

- Au grossissement GX100, il a été bien déterminé la présence de deux types de poils :

Poils tecteurs : de types unicellulaire ramifiés comme des hyphes. Leur origine est les cellules épidermiques qui s'allongent sans se diviser. Leur rôle est la protection contre la chaleur

Poils sécréteurs : des émergences de l'épidermique dont les cellules terminales secrètent une essence.

- **La racine** : cette figure représente une coupe transversale d'une jeune racine de la plante de *Verbascum sinuatum* et qui montre cette forme

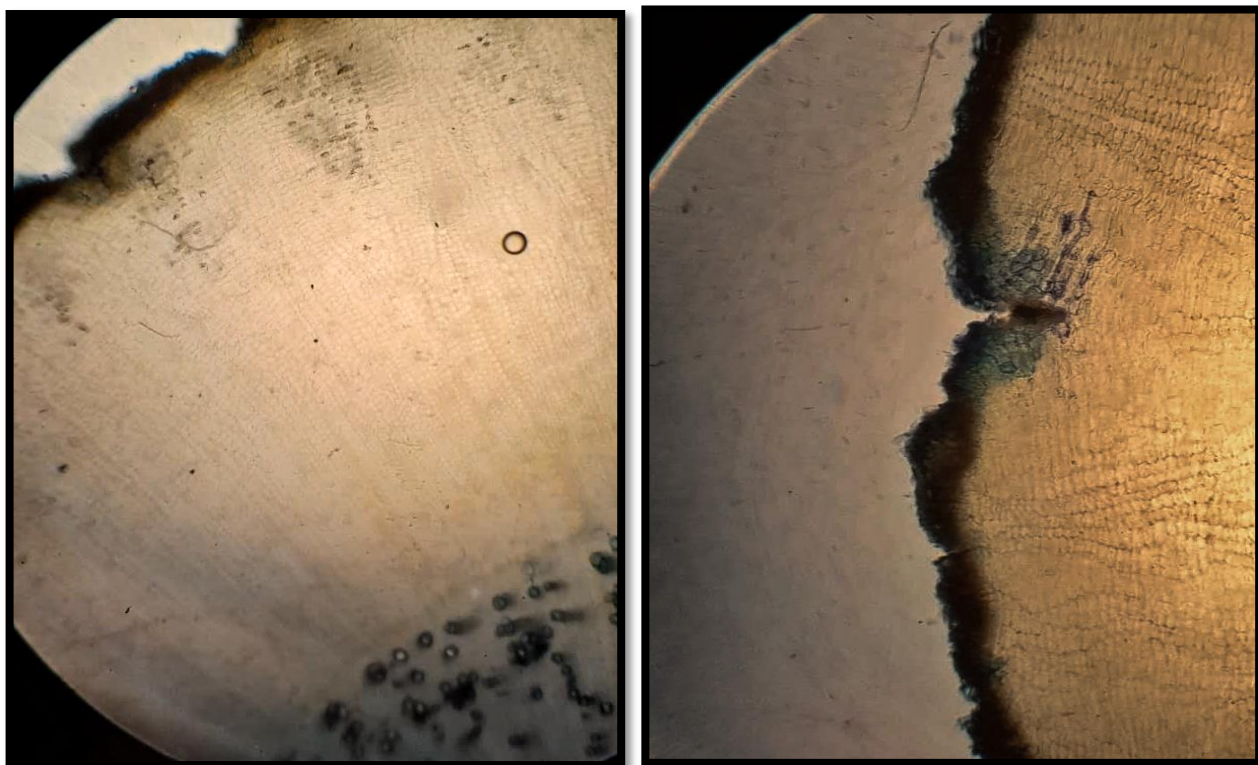


Figure 31 : une coupe transversale d'une jeune tige de la plante de *Verbascum sinuatum* (GX40)

Moelle : située au centre de la racine, composée de parenchyme médullaire elle a un rôle de réserve.

Epiderme : une couche assise de cellules allongés parallèlement à l'axe de la tige ou on a remarqué un début de formation de xylème.

Parenchyme corticale : formé de cellules à paroi mince et cellulosique allongées et séparées.

V. Interprétation de screening phytochimique

Tableau 3 : tests phytochimiques des extraits du *Verbascum sinuatum* (feuille et racine) préparés par macération.

Les tests phytochimiques	Partie aérienne	Partie souterraine	Apparition
Métabolites secondaires			
Saponosides	+++	++	Hauteur de mousse persistante
Tanins	+++	+	couleur vert foncé
Flavonoïdes	++	++	Jaune claire dans la partie supérieure du tube à essai
Stérols et terpènes	+	++	un anneau rouge brunâtre ou marron foncé
Cardénolides cardiotoniques	-	-	Vert bleu dans la phase d'acide
Glycosides cardiaques	+++	+++	Brun rougeâtre
Anthocyanes	++	++	bleu violacé en milieu basique
Coumarines	++	++	Florescence des taches
Mucilage	++	++	précipité floconneux
Anthraquinones	-	-	Coloration violette
Quinone libre	++	++	Couleur jaune, rouge ou violet
Alcaloïdes	+++	+++	Précipité brun
Amidon	-	-	Couleur bleu violacé

➤ **Test de polyphénols**

Test	Réactif	Résultats		Apparition
		Partie aérienne souterraine	partie	
Polyphénol	chlorure de fer (FeCL ₃)	+++	++	Bleu noirâtre ou vert foncé

- De même screening phytochimique **Benzzaoui Dallal,2021** a trouvé que *Verbascum sinuatum* est une plante médicinale très importante obtenu plusieurs principes actifs elle a le rôle d'antioxydant, anticancéreux, antiinflammatoire, antidouleur, comme les alcaloïdes, les polyphénols, les glycosides, les huiles essentielles. »

VI. Résultats du test du pouvoir antibactérien

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien de l'extrait de molène sinuée par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Mueller Hinton). L'activité antibactérienne de notre extrait est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant le produit à tester vis-à-vis de quatre germes pathogènes d'origine hospitalière (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*) après 24h d'incubation à une température de 37°C.

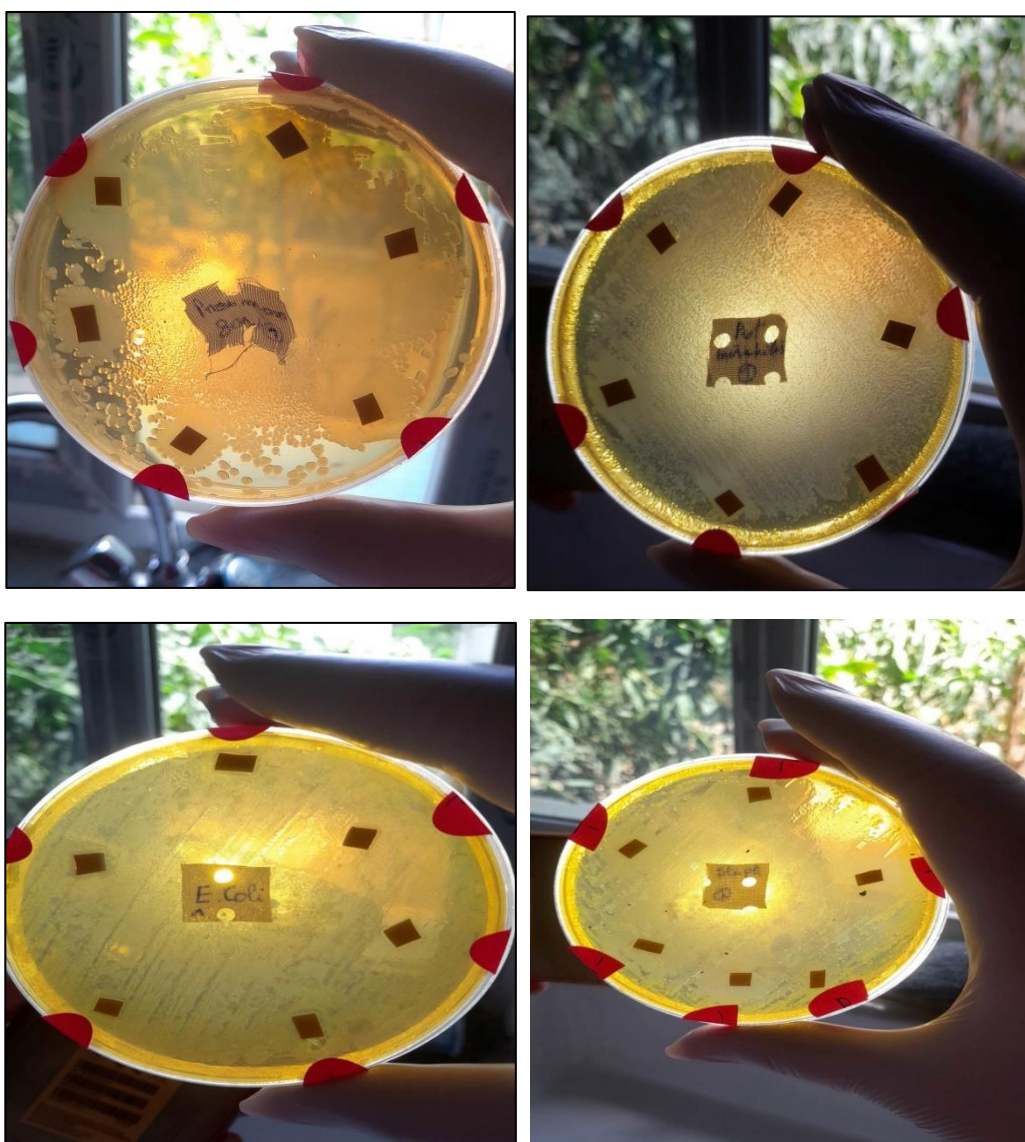


Figure 32 : La variation de la zone d'inhibition de l'extrait du *Verbascum sinuatum* avec les bactéries utilisées (cliché Bennemer, Boukouche ;2023)

Souches bactériennes	La sensibilité des souches bactériennes					
	Pure	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
E.coli	++++	+++	++	+	+	-
Proteus mirabilis	-	-	-	-	-	-
Klebsiella pneumoniae	+++	+++	+++	++	+	-
Staph.aureus	-	-	-	-	-	-

Tableau 4 : Le degré de la sensibilité des souches bactériennes testées à l'extrait de *verbascum sinuatum*

Les résultats obtenus par l'aromatogramme sont illustrés dans le tableau comme suite :

- La souche bactérienne *E.coli* on note une extrême sensibilité à l'extrait de notre molène sinuée, enregistré avec la concentration 100% d'extrait qui pousse une zone d'inhibition (21mm). Cette extrait montre une sensibilité avec les concentrations suivantes (1/2, 1/4, 1/8, 1/16) des zones d'inhibition (19mm, 13mm, 12,5mm). En revanche, la souche n'aucune sensibilité pour la concentration 1/32) avec une zone d'inhibition (6mm).

- Les résultats obtenus avec *Proteus mirabilis* et *Staphylococcus aureus* montrent que les deux souches bactériennes n'aucune sensibilité à l'extrait testé avec des zones d'inhibition (<7mm).

- Les résultats obtenus avec la souche bactérienne *klebsiella pneumoniae* on note une extrême sensibilité à l'extrait de notre molène sinuée avec les concentrations (pure 100%, 1/2, 1/4) qui pousse une zone d'inhibition (21mm, 20mm, 20mm) successivement. Cette souche

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

note aussi une bonne sensibilité avec la concentration (1/8, 1/16) a des zones d'inhibition (15mm, 10mm), et n'aucune sensibilité d'extrait testé avec la concentration (1/32).

Conclusion générale

Conclusion

A travers ce travail on a tentées de faire une Valorisation d'une espèce de la Famille des Scrophulariaceae *Verbascum Sinuatum. L* dans la région D'el Tarf, Cette étude consiste à l'importance de la médecine traditionnelle et l'utilisation des plantes médicinales dans la région d'étude malgré la révolution de la technologie médicale

Selon le questionnaire effectué sur 200 personnes., nous avons constaté que la plante de *Verbascum sinuatum* est relativement connue dans la région Del Taraf 60%, et cela est dû à son abondance dans la région. Alors que 75% des hommes l'utilisent, et cela est dû à la diffusion de l'idée de la médecine traditionnelle spécifiquement les maladies rhumatismales (لعمساقا ءا ءا ءا ءا). Ce qui signifier l'importance de cette plante et son efficacité.

Les coupes transversales montrent le tissu responsable a la sécrétion des huiles essentielles chez notre plante.

Tissus de revêtements représenté par l'épiderme dans la feuille et la tige. Il est constitué d'une couche cellulaire très clair dans les coupes. La feuille de *Verbascum sinuatum* possède un feutrage dense plein des poils tecteurs et sécréteurs aussi des glandes sur la face supérieure de l'épiderme pour réserver ou libérer les essences volatiles. Aussi limiter la perte d'eau par évaporation.

Tissus sécréteurs : assurent principalement le stockage et le réserve des huiles essentielles

Alors que Nos tests de screening photochimiques montrent la richesse de cette plante par diverses molécules actives telles que les alcaloïdes (+++), les polyphénols (+++), les glycosides (++) , mucilage (+++), les tanins (+++). Dans les deux parties aérienne et souterraine aussi la présence des huiles essentielles.

On peut dire que la plante de *Verbascum sinuatum* riche en activités biologiques antiinflammatoire, antidouleur

Nous avons trouvé que le pouvoir antibactérien de l'extrait de la plante varie d'une souche à une autre, cette variation est remarquée avec les diamètres des zones d'inhibition qui montre que certaines souches sont sensibles et les autres non.

Plus l'extrait n'est pas concentré, plus la zone d'inhibition est étendue ce qui indique la diminution de la croissance bactérienne.

CONCLUSION GENERALE

Les diamètres d'inhibition pour l'extrait de la plante sont variantes entre bactéries de gram + et bactéries de gram –.

Le diamètre le plus élevé est obtenue avec *E.Coli* et *klebsiella pneumoniae* (bactérie qui provoque des infections cutanées) voir l'Annexeet le plus faible ou absente avec *staphylococcus aureus* et *proteus mirabilis*.

A la fin, on peut conclure *Verbascum sinuatum L*, représente une source naturelle prometteuse de molécules chimiques bioactives, notamment les alcaloïdes fournissant des activités biologiques importantes multiples et activité antibactérienne aussi importante

Ces caractéristiques importantes de *Verbascum sinuatum L*. Font de cette plante un patrimoine riche à préserver et à valoriser.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

A

- **Amine Bestani et Monsieur Djamel Eddine Haddalene (2021)** (mémoire de fin d'étude) Enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales utilisées par les patients atteints du cancer de la prostate dans l'ouest de l'Algérie page 35 – 36
- **ABDALLAH Katia CHERFI Dalila** - Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques evaluation in vitro de l'effet antiproliférative des flavonoïdes des feuilles de *Verbascum sinuatum l.* Page 2-3
- **ALILOU H., BENCHARKI B., HASSANI L.M.I. et BARKA N. (2014).** Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens* subsp. *Olorus*. *Afrique Science*, page 316-320
- **ARRIF S. (2008).** Etude des métabolites secondaires de deux scrophulariacées du genre *Verbascum* : *V. ballii* et *V. dentifolium*. Thèse de Doctorat. Université El Hadj Lakhder, Batna, Algérie, 172p.

B

- **BIANCO A., GUISO M., IAVARONE C., PASSACANTILI P. and TROGOLO C. (1980).** 6-O- β -D-xylopyranosyl aucubin from *Verbascum sinuatum*. *Phytochemistry*, 19 (4), 571-573.
- **BENKHNIGUE O., ZIDANE L., FADLI M., ELYACOUBI H., ROCHDI A. et DOUIRA (2010).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta Botanica Barcinonensia*, 53,191-216.

C

- **COLOMBEL V. (2011).** Synthèse et étude de l'activité biologique de nouveaux analogues du N-acétylcolchicol. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France, 243p

D

- **DA SILVA P.P.J., BENDJEDDOU L.Z. et MEIJER L. (2014).** Recherche de substances naturelles à activité thérapeutique (2). *Medecine Sciences*, 30 (3), 319-328.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **DANE F. and YILMAZ G. (2009).** A new natural hybrid of *Verbascum* (*Scrophulariaceae*) from European Turkey. *Phytologia Balcanica*, 15 (2), 181-184.

F

- **FAVRO C. et NICOLLE F. (2011).** Biologie cellulaire. Hachette Education, Paris, page 65
- **FEKNOUS S., SAIDI F. et MOHAMED SAID R. (2014).** Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). *Nature et Technologie*, 11, 7-13.
- **Fleuriet. A, Uhel.C, Dédaldéchamp.F, 1996-**Les composés phénoliques et la qualité des produits d'origine végétale consommés par l'homme, Laboratoire de Biotechnologie et Physiologie végétales appliquées, Université Montpellier, 493-500p

H

- **HUBER-MORATH A. (1978).** *Verbascum* L. ; in « Flora of Turkey and the East Aegean Islands » ed. DAVIS P. H., Vol. 6, Edinburgh University Press, Edinburgh
- **Harkati.B, 2011-**valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille : *Scorzonera Undulata*, Université Mentouri Constantine, faculté des sciences, département de chimie, 6-22p.
- **Hopkins.W. G, (2003)-**Physiologie végétale. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier SA. Paris, 514p.
- **Hostettmann.K, Marston.A, 1995-**Saponins, (Chemistry pharmacology of natural products). Cambridge: Cambridge University Press, 326-327p.

I

- **Irem.T, Zeliha.A, 2004-**Chemical constituents of verbascum L. Species, *FABAD J. Pharm. Sci*, 29-93-107p.
- **Isabelle Fouraste, 2006-** Règlement des produits à base de plantes. IRD édition 125p

K

- **Kalla.A, 2012-** Etude et valorisation des principes actifs de quelques Plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum* l'université Mentouri Constantine, 119p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

L

- **Lazli.A, Beldi.M, Ghouri.L, Nouri.N, 2018-** Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala,- Nord-est algérien) Laboratoire d'écologie fonctionnelle et évolutive, Université Chadli Bendjedid d'El Tarf. Algérie, Université Chadli Bendjedid d'El Tarf, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 23p.

M

- **MEIJER L., KNOCKAERT M.et DAMIENS E. (2001).** Prévention par un inhibiteur de kinases cyclines-dépendantes, de l'alopécie induite par la chimiothérapie. Bulletin du cancer, 88(4), 347-350.
- **MOHAMMEDI Z. (2013).** Etude phytochimique et activités biologique de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat : biologie. Université Aboubakr Belkaid. Tlemcen. 32 p
- **Macheix.J.J, 2013-** Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle ? University of Stellenbosch, Laboratoire de Biotechnologie et Physiologie végétales appliquées, EA 728, Université Montpellier, place E. Bataillon, F-34095 Montpellier Cedex 5p .
- **Madi.A, 2018-** Caractérisation photochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica*- Université des frères Mentouri Constantine 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie et Ecologie Végétale p 36

S

- **SENATORE F., RIGAND D., FORMISANO C., GRASSIA A., BASIL F, A. et SORDO S. (2007).** **Phytogroth-** inhibitory and antibacterial activity of *Verbascum sinuatum*, Fit.78 : (3) : 244-247.
- **SENER A et DULGER B : 2009.**Antimicrobial activity of the leaves of *Verbascum sinuatum* L. on microorganisms isolated from urinary tract infection. African Journal of Microbiology Research 3(11) :778-781.
- **SHWETA S, KHADABADI S. et TAPADIYA GANESH G. (2012).** In *vitro* evaluation of antimitotic, antiproliferative, DNA fragmentation and anticancer activity

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

of chloroform and ethanol extracts of *Revia hypocrateriforis*. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2 (1), S503-S508.

W

- **Wichtl.M, Anton.R, 2009**-Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris, 291-293p.

Z

- **Zeguerrou.R, Guesmia.H, Lahmadi.S, 2010**-Recueil des plantes médicinales dans la région des Ziban, Centre de recherche scientifique et technique les régions arides Omar el Barnaoui, 30-40p.

Les sites web :

- www.phytomania.com
- www.couvertvegetale.com

Les annexes

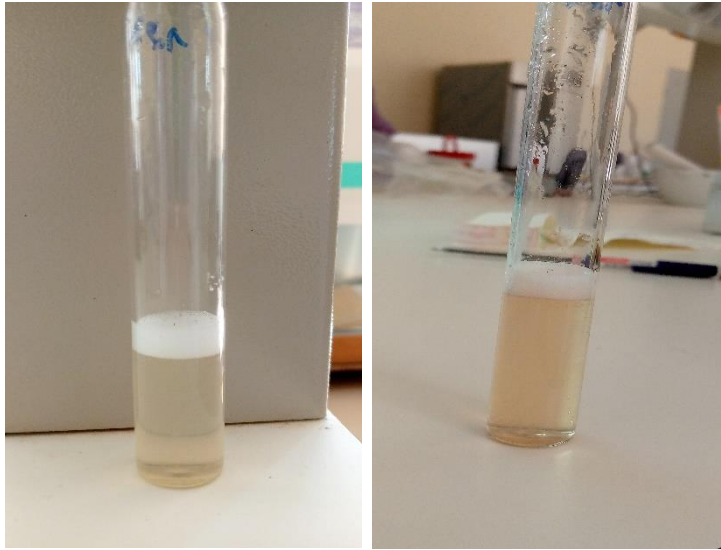


Figure 33 : teste des saponosides cliché par (Boukouche, Bennemer ; 2023)



Figure 34 : teste des tanins clichés par (Boukouche ; Bennemer ; 2023)

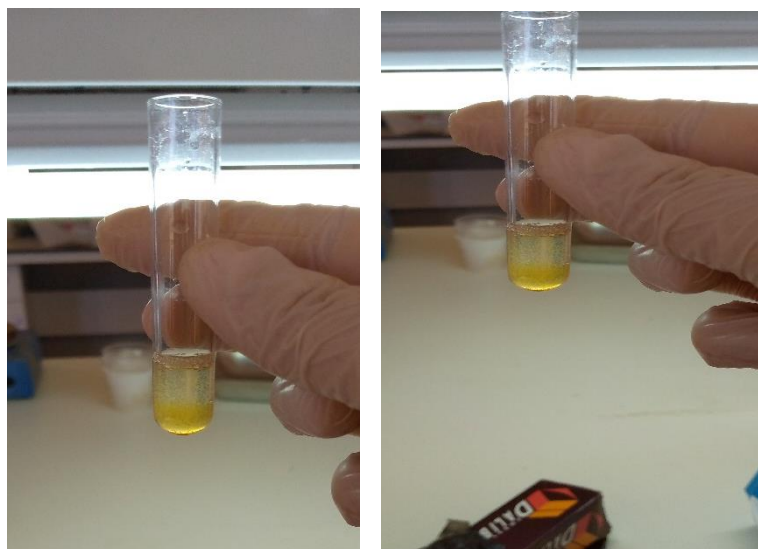


Figure 35 : Teste des flavonoïdes clichés par (Boukouche ; Bennemer ; 2023)



Figure 36 : teste des terpènes et stérols cliché par (Boukouche ; Bennemer ; 2023)

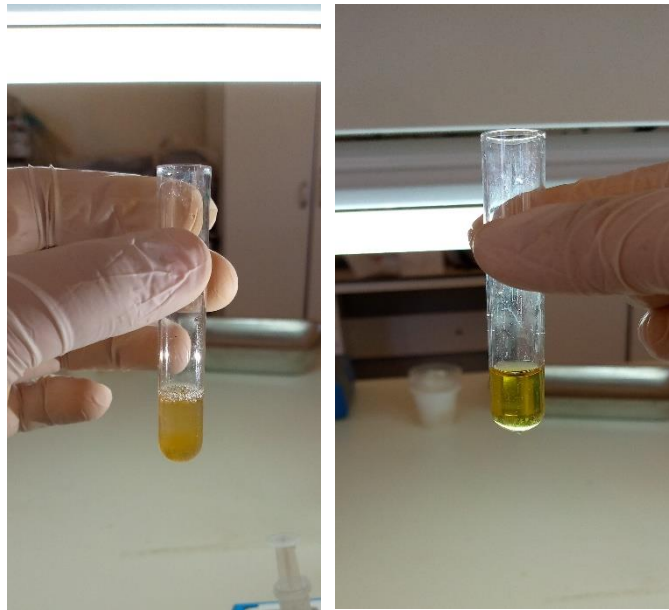


Figure 37 : teste des cardénolides cardiotonique cliché par (Boukouche ; Bennemer ; 2023)

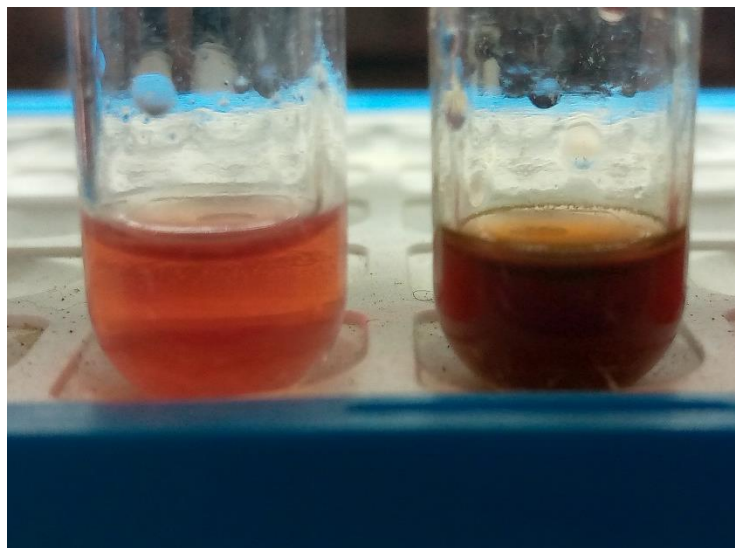


Figure 38 : teste des glycosides cardiaque cliché par (Boukouche ; Bennemer ; 2023)



Figure 39 : teste des anthocyanes clichés par (Boukouche et Bennemer ;2023)



Figure 40 : teste des coumarines clichées par (Boukouche et Bennemer ; 2023)



Figure 41 : teste des mucilages clichés par (Boukouche et Bennemer ; 2023)

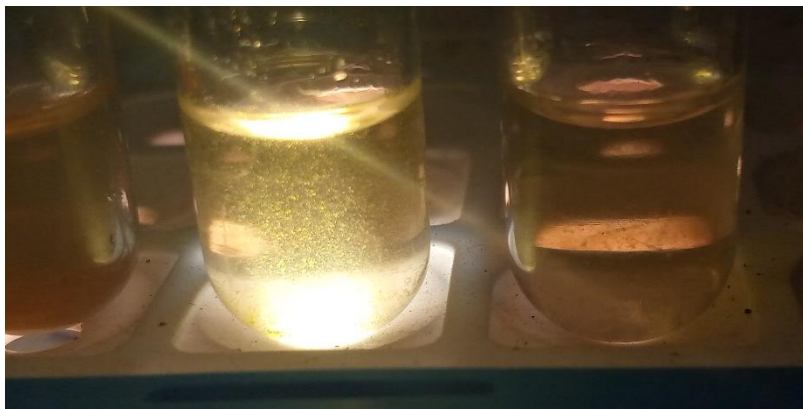


Figure 42 : teste des anthraquinones clichées par (Boukouche et Bennemer ; 2023)



Figure 43 : teste des quinones libres cliché par (Boukouche et Bennemer ; 2023)



Figure 44 : teste des alcaloïdes clichés par (Boukouche et Bennemer ; 2023)

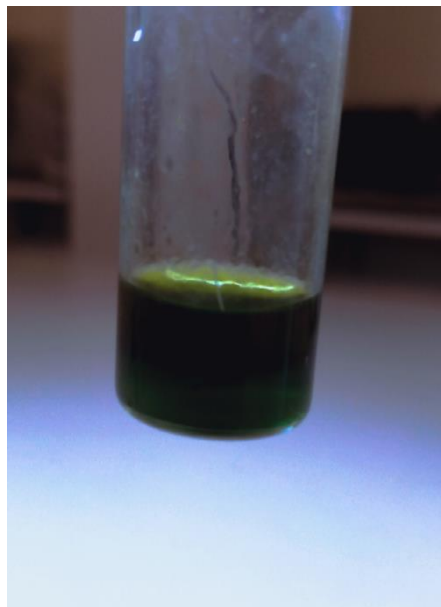


Figure 45 : teste des polyphénols clichés par (Boukouche et Bennemer ;2023)

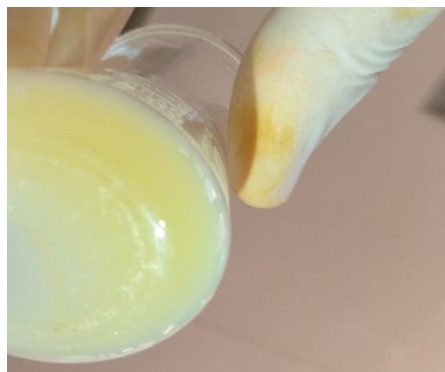


Figure 46 : teste des huiles essentielles cliché par (Boukouche et Bennemer ;2023)