

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : 110/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

Ghali Assia & Rafed Souad

Thème

**Screening phytochimiques et activité anti-hémolytique de
deux plantes médicinales : *Allium ursinum* et *Allium
porrum***

Soutenu le : 06 / 07 / 2019

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M. LAKEBAL Farouk</i>	<i>MAA.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M. CHERGUI Achour</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mme. BENBARA Tassadit</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2018/2019

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, je tiens à remercier tout d'abord le Bon Dieu le tout puissant, qui ma donné la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Je tiens à remercier chaleureusement et très particulièrement mon promoteur M .CHERGUI A, de m'avoir donné l'honneur de m'encadrer et pour son aide, ses conseils précieux, son orientation et sa grande disponibilité à toute épreuve.

Je remercie également, M.LAKEBAL F maitre de conférence classe A, pour avoir accepté de présider le jury Mes sincères remerciements vont également à Mme. BENBARA T, maitre assistante classe B, d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je remercie également Mlle MAAMRI .A et les autres doctorantes pour leurs disponibilités et leurs soutiens.

Mes remerciements les plus sincères aux ingénieurs de laboratoires :
Biochimie et microbiologie.

Sans oublier mes amies qui ont su créer un esprit d'équipe et de collaboration très bénéfique.

Je tien à remercié toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à :
Qui son cœur m'a vu avant ses yeux et ces entrailles m'ont
embrassé avant ses mains.
La source de la tendresse: Ma mère, ma mère et puis ma
mère.*

*A la source de la puissance et du sérieux Celui qui m'a
donné l'amour, le respect et le bon caractère Mon père.*

A Ma grand-mère.

*A Mes frères et mes sœurs :Mohamed, Ahmed, Hamid, Aymen,
Nassima et Djamila*

*A mes amies
(Souad, Fouzia, Imane, yasmina, Nadia, Amina, khalissa,
Fatima).*

A toute ma famille.

*Et enfin je dédie à toutes les personnes qui m'aiment et que
j'aime.*

Ghali Assia

Dédicace

A la mémoire de mon père,

Que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

A ma mère en reconnaissance de sa patience et de son sacrifice.

A tous mes frères et mes sœurs

A toute ma famille.

A tous mes amis.

A tous ceux qui m'ont enseigné.

A toutes personnes qui m'ont aidé de près ou de loin.

Je dédie ce modeste travail.

RAFED Souad

Liste des abréviations

Ac : Ail des ourses à chaud

AEG : Equivalent of gallic acid / Equivalent d'acide gallique

APGIII: Angiosperm phylogeny group/ Classification botanique des angiospermes

Af : Ail des ourses à froid

AlCl₃ : chlorure d'aluminium

Ap : *Allium porrum*

Au : *Allium ursinum*

DO : Densité optique

EBSA : Equivalent of bovine serum albumin / Equivalent de albumine sérique bovine

EQ : Equivalent of quercetin / Equivalent de Quercétine

FeCl₃ : Chlorure ferrique

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

M : mol/l

Pc : Poireau à chaud

Pf : Poireau à froid

Tris/Hcl : Tris (hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride

UV-Vis : ultra violet- visible

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
01	Photo montrant la structure de la plante <i>Allium ursinum</i>	2
02	Photo montrant la Répartition de genre <i>Allium</i> dans l'Europe	4
03	Structure chimique des certains composés d' <i>Allium ursinum</i> détecté par GC-MS 1, methyl 2-propenyl sulfide; 2, propylthiol; 3:dimethylthiophene....	5
04	Photo montrant la structure de la plante « <i>Allium porrum</i> »	8
05	Image montrant la structure chimique des deux composés de Flavonoïques (A) ; Isoquercétine (B) ; Estragalin	11
06	Photographie d'ail des ours « <i>Allium ursinum</i> », B : Photographie de poireau « <i>Allium porrum</i> »	13
07	photographe représentes les extraits aqueux des deux plante « <i>Allium ursinum</i> et <i>Allium porrum</i> »	20
08	Histogramme représente la comparaison de taux des phénols totaux entre les quatre extraits.	22
09	Histogramme représente la comparaison de la teneur en protéines entre les quatre extraits.	24
10	Histogramme représente la comparaison de la teneur en protéines entre les quatre extraits.	25
11	Histogramme représente l'effet des extraits d' <i>Allium</i> sur l'activité anti-hémolytique.	27
12	Histogramme représente l'effet des extraits d' <i>Allium</i> sur l'activité anti-hémolytique.	28
13	Histogramme représente l'effet de la combinaison des extraits d' <i>Allium</i> sur l'activité anti-hémolytique.	30
14	Histogramme représente l'effet des extraits en synergique sur l'activité anti-hémolytique.	31
15	Histogramme représente l'effet des extraits en synergique sur l'activité anti-hémolytique.	32

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
01	Résultat de criblage phytochimique des extraits d' <i>A. ursinum</i> et <i>A. porrum</i> .	21
02	Teneur en polyphénols totaux des extraits.	22
03	Teneur en flavonoïdes dans les quatre extraits.	24
04	Teneur en protéine des différents extraits aqueux.	25

Introduction

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Etude bibliographique

Chapitre I : Monographie des deux plantes

I-1 Généralité sur le genre *Allium* 2

I-2 Systématiques 3

I-3 Etymologie 3

I-4 Description botanique..... 3

I-5 Origine..... 4

I-6 Composition biochimique d'*Allium ursinum* 5

I-7 Utilisations de l'ail des ours 6

I-7-1 En alimentation humaine..... 6

I-7-2 En alimentation animale..... 6

I-7-3 Thérapeutique 6

I-8 Propriétés de l'ail des ours 7

Chapitre II : *Allium porrum*

II-1 Généralité sur *Allium Porrum* 8

II-2 Systématiques 9

II-3 Etymologie..... 9

II-4 Description botanique du poireau 10

II-5 Origine..... 10

III-6 Composition biochimique du poireau 10

II-7 Propriétés de l'*Allium porrum*..... 11

II-7-1 Protection des vaisseaux sanguins 11

II-7-2 Richesse en antioxydants 12

II-7-3 Efficace pour la perte de poids..... 12

II-7-4 Anti-inflammatoire naturel..... 12

II-7-5 Protection contre les maladies cardiovasculaires	12
---	----

Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I-1 Objectifs.....	13
I-1-1 Objectif de travail	13
I-2 Matériel.....	13
I-2-1 Matériel végétale	13
I-2-2 Equipements et solvants.....	14
II-Méthodes	14
II-1 Échantillonnage des espèces végétales	14
II-2 Obtention de l'extrait aqueuse	14
II-3 Etude phytochimique des extraits	15
II-3-1 Polyphénols	15
II-3-2 Flavonoïdes	15
II-3-3 protéines.....	15
III- Dosage biochimique	15
III-1 Dosage des polyphénols	15
Principe.....	15
Mode opératoire	15
III-2 Dosage des flavonoïdes	16
Principe.....	16
Mode opératoire	16
III-3 Dosage des protéines.....	17
Principe.....	17
Mode opératoire	17
IV- Evaluation de l'activité anti hémolytique des extraits.....	17
Principe.....	17
Préparation des érythrocytes.....	18
La mise en évidence de l'activité anti-hémolytique	18
Etude synergique	19

Chapitre II : Résultat et discussion

II-1 Rendement d'extraction.....	20
II-2 Etude phytochimique des extraits	20
II-3 Taux des phénols totaux	22
II-4 Taux des flavonoïdes.....	23
II-5 Taux des protéines	25
III- Activité anti-hémolytique	27
IV- Recherche de l'effet synergique	29
Conclusion et perspectives	33

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction

Les plantes médicinales constituant une alternative idéale au médicament chimique ayant des effets secondaires trop important qui sont trop chères à fabriquer pour les pays en voie de développement. Certaines espèces possèdent des propriétés pharmacologiques qui leur confèrent un intérêt médicinal, ces plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreuses composés appelés métabolites secondaires et constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimiques possèdent un large éventail d'activités biologiques, c'est le cas des polyphénols qui sont largement utilisés en thérapie comme anti-oxydantes et/ou anti-hémolytiques (**Ouedraogo et al., 2015**).

L'anémie hémolytique demeure un problème majeur de la santé publique à travers le monde pour combattre cette anémie qui due à une hyper-hémolyse implique une diminution des globules rouges ou de taux d'hémoglobine, la recherche des plantes médicinales ayant des antioxydants naturels reste l'une des meilleures investigations (**Haddouchi et al., 2015**).

Dans cet axe de recherche globale sur les plantes médicinales données de propriétés thérapeutiques s'insère l'objectif de notre travail dont le but est l'évaluation de pouvoir anti-hémolytique des plantes de genre *Allium* récoltées dans les régions de Bouira.

La présente étude a deux objectifs principaux ; le premier est de comparer l'apport en quelques antioxydants (polyphénols, flavonoïdes et protéines), des deux plantes poireau et l'ail des ours et d'évaluer leurs activités anti-hémolytiques. Le deuxième est de déterminer l'effet de condition d'extraction sur les teneurs en antioxydant ainsi que sur l'activité anti-hémolytiques de ces Alliées.

Le présent manuscrit comportant l'étude théorique et l'étude pratique réalisées et structurées comme suit :

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur les deux plantes.

Dans la partie expérimentale nous développerons dans le premier chapitre ; le matériel et les méthodes utilisés pour l'extraction, le screening, le dosage colorimétrique et enfin l'activité anti-hémolytique. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude.

A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherche seront évoquées.

Etude bibliographique

I-*Allium ursinum*

I-1 Généralité sur le genre *Allium*

Le genre *Allium* regroupe des plantes monocotylédones de la famille Amaryllidacées (ou liliacées) (Tomsik *et al.*, 2015), qui comporte environ 700 espèces connues. Parmi les espèces sauvages on peut citer l'ail des ours *Allium ursinum* des sous bois frais (Niko *et al.*, 2015). C'est un genre important dans l'alimentation humaine qui comprend de nombreuses plantes alimentaires, condimentaires et médicinales (figure1). C'est à ce genre qu'appartiennent l'oignon, l'ail et plus particulièrement l'ail des champs qui comporte l'ail des ours (*Allium ursinum*) (Balamanikandan *et al.*, 2015).



Figure 1 : Image montre la structure de la plante *Allium ursinum* (Hirschegger *et al.*, 2010).

I-2 Systématiques

Règne : **Plantae**

Sous-règne : **Tracheobionta**

Embranchement : **Magnoliophyta**

Sous-embranchement : **Magnoliophytina**

Classe : **Liliopsida**

Sous-classe : **Liliidae**

Ordre : **Liliales**

Famille : **Liliaceae**

Genre : *Allium*

Espèce : *Allium ursinum*

(D'après **Cronquist, 1981**).

Ordre : **Asparagales**

Famille : **Amaryllidaceae**

Selon la classification de (**APGIII, 2009**).

I-3 Etymologie

Le genre *Allium* tire son nom directement d'un nom latin de l'ail. Le nom scientifique vient de latin *Allium*, ail et ursus « ours », cette plantes est appelée « bärlauch » en allemand et « daslook » en néerlandais.

Synonymes : Ail de bois, ail sauvage, ail pétiolé, ramsons, wild garlic, beer leek, wood garlic et buckrams (**Auger, 2014**).

I-4 Description botanique

L'ail des ours est une plante herbacé vivace et bulbulaire de sous bois frais et ombragé à fleurs blanche de 20 à 50 cm de hauteur. Lorsque sont feuillage est légèrement froissé elle dégage une forte odeur. Elle est considérée comme une plante sociale qui forme généralement des tapis très recouvre, floraison d'Avril à Juin (**Sobolewska et al., 2013**).

Les Feuille sont de formes ovales (large de 2 à 5 cm), longuement pétiolées, molles, pleines, lancéoléés et aigues au sommet ; le pétiole est plat d'un coté et arrondie de l'autre,

Monographie des deux plantes

ces feuilles ressemblent à celles du muguet, sauf qu'elles ne sont pas toxiques. Les feuilles peuvent être confondues aussi avec celle des colchiques ou de l'arum lorsqu'elles sont toutes jeunes (**Kalmouni, 2010**).

La tige est presque triangulaire, et comporte deux angles saillants nettes, lisse, plate, elliptique-lancéolée avec une lame distincte bien développée, aiguisée au sommet et progressivement rétréci en pétiole à la base, avec des fleurs blanches et étoilées apparaissant à la fin de printemps, elles forment une boule dressée au sommet de la tige (**Niko et al., 2015**). Les graines de l'*Allium ursinum* se régénèrent principalement par graine, la régénération alternative à une importance mineure, elles sont noires, sub-globuleuses de 1 à 3 mm de diamètre réunies en capsule trichotomique, elles sont versées en juin et juillet et le temps de la perte peut être retardé par les conditions météorologiques, la plus part de celle-ci tombent sur le sol directement sous la capsule et sont transportées par le vent au niveau du sol, la plus part du temps restent en sommeil 1 ou 2 ans puis germent (**Najjaa, 2007**).

I-5 Origine

L'ail des ours est présent dans une grande moitié du nord de la France, en Corse et dans les Pyrénées. Assez commun dans presque toute la France, à l'exception du Sud-Ouest et de la région méditerranéenne, où elle est pratiquement presque absente (figure 2), on le trouve aussi en Algérie centrale (**Auger, 2014**).

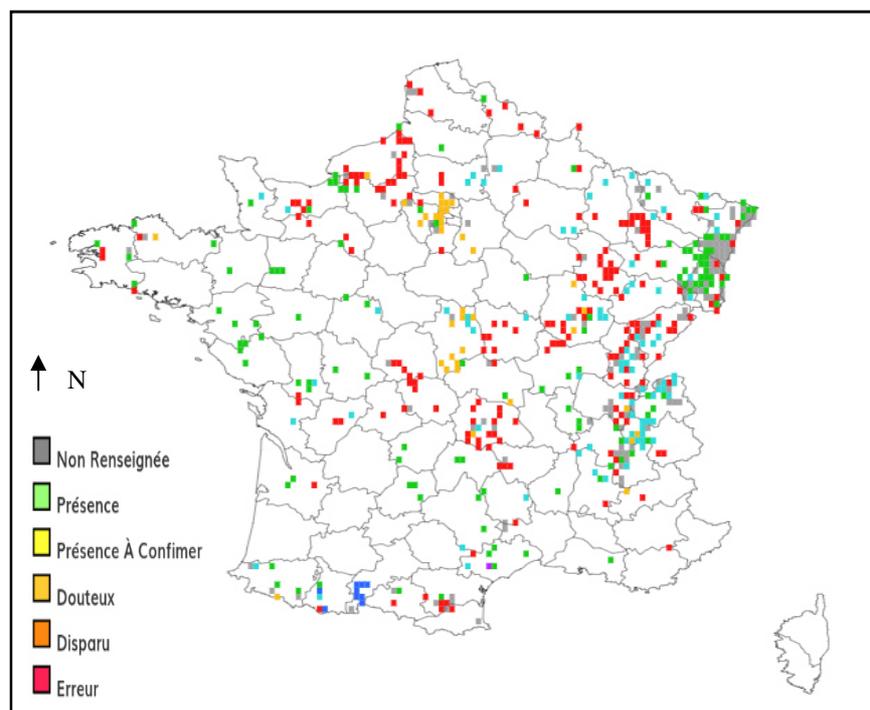


Figure 2 : Photo montre la répartition de genre *Allium* dans l'Europe (**Sobolewska et al., 2013**).

I-6 Composition biochimique d'*Allium ursinum*

La composition biochimique de l'ail des ours est proche de celle de l'ail cultivé (*Allium sativum*) mais les principes actifs sont les plus concentrés (Colin, 2016). Elle est très riche en ; vitamine C (pouvoir antioxydant), sélénium (antitoxique), huiles essentielles (source de ces principaux bienfait), elle contient une grande quantité de flavonoïdes (Auger, 2014), de caroténoïdes, et de chlorophylles (Ghesquiere, 2017), vitamine B et une teneur importante en allin, allicine et d'autre composés sulfuriques (méthyle, allyle, propyle et propényle), des composée soufrés et même un taux élevé en vitamine E, fer, protéines (peptide de glutamyle), zinc et magnésium (Saffedine, 2015).

L'importance thérapeutique et alimentaire de l'*Allium ursinum*, due à leur propriétés antiparasitaire, fongicides, antibactérienne et antioxydant (Bianchini et al., 2001).

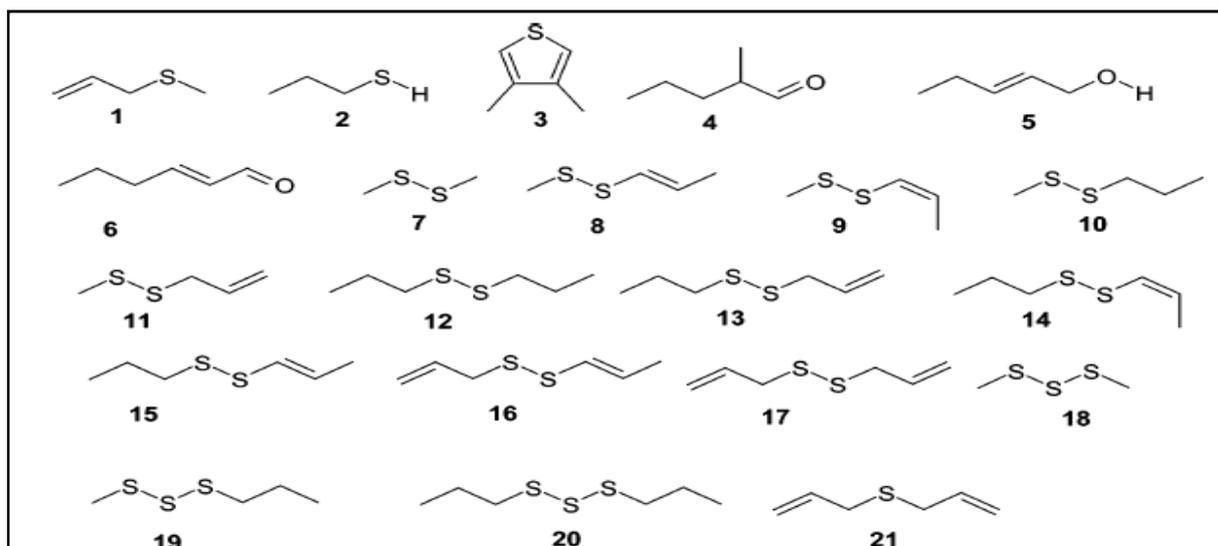


Figure 3 : Structure chimique des certains composés d'*Allium ursinum* détecté par GC-MS 1, methyl 2-propenyl sulfide; 2, propylthiol; 3, dimethylthiophene 4, 2-methylpentanal; 5, hex-3-en-1-ol; 6, 2-hexenal; 7, dimethyl disulfide; 8, (E)-methyl 1-propenyl; 9, (Z)-methyl 1-propenyl disulfide ; 10, methyl propyl disulfide; 11, methyl 2-propenyl disulfide ; 12, dipropyl disulfide; 13, 2-propenyl propyl disulfide ; 14, (Z)-1-propenyl propyl disulfide ; 15, (E)-1-propenyl propyl disulfide ; 16, (E)-1-propenyl 2-propenyl disulfide ; 17, di-2-propenyl disulfide ; 18, dimethyl trisulfide ; 19, methyl propyl trisulfide ; 20, dipropyl trisulfide ; 21, di-2-propenyl sulfide (Schmitt et al., 2005).

I-7 Utilisations de l'ail des ours

Actuellement, de nombreux médicaments tirent leur origine de plantes médicinales. Cette forme de médecine ne se pose pas aux autres thérapies elle augmente l'efficacité d'un traitement ou atténue ces effets secondaires, *l'Allium ursinum* exploitée comme plante médicinale avant de devenir un condiment ou légume (Sobolewska *et al.*, 2013).

Les études scientifiques sur ces compositions et ces activités pharmacologiques confirment les propriétés empiriques de cette plante sauvage (Štajner *et al.*, 2008).

I-7-1 En alimentation humaine

Elle a été très utilisée en Europe et en Asie. On peut manger son bulbe et ses feuilles comme légume ou condiment, elle est excellente crue dans les salades, ses feuilles ont été préparées sous forme de pesto et soupe ou comme épice dans les salades (Pierron, 2014), les tisanes ou cuites comme des épinards, consommées sur des tartines ou encore dans du yaourt nature (Ghesquiere, 2017).

I-7-2 En alimentation animale

Durant les quelques semaines de floraison qui ont lieu d'avril à juin, l'ail des ours constitue une source de nourriture importante pour de nombreux insectes pollinisateurs riches en nectar et en pollen. Cette plante mellifère présente un intérêt apical non négligeable (Bagiu *et al.*, 2012).

I-7-3 Thérapeutique

C'est une plante médicinale très anciennement utilisée pour le traitement des pathologies cardiovasculaires, des diarrhées et contre les virus intestinaux. L'ail des ours est utilisé pour faire baisser la pression artérielle, stimuler la circulation sanguine, pour la lutte contre la grippe et contre certaines pathologies virales ou les pathologies du foie et spécifiquement contre les cancers à cause de leur composition en soufre (Štajner *et al.*, 2008).

I-8 Propriétés biologiques de l'ail des ours

A part son utilisation alimentaire, l'ail des ours a aussi des propriétés médicinales. Il est considéré comme un excellent antiseptique digestif pour désinfecter l'intestin, soulager les maux d'estomac, les ballonnements et les diarrhées (**Pierron, 2014**).

L'ail des ours constitue un excellent chélateur des métaux lourds, en partie grâce à sa teneur en sélénium qui se lie fortement au métal et l'empêche d'agir ; d'après **Gay Trédaniel, 2006**.

Par ailleurs cette plante est utilisée également en tant qu'antibiotique naturel pour soulager les infections virales et respiratoires grâce à leur composition en allicine qui contient non seulement une forte odeur et aussi de nombreux bienfaits pour la santé (1mg d'allicine est 15 fois plus puissante que la péniciline) ce qui permet de protéger contre de nombreuses bactéries, virus et parasites (**Ghourri M et al., 2014**).

Elle présente un effet protecteur vis-à-vis de divers cancers ; estomac, colorectale, œsophage et les poumons grâce aux composés organo-sulfurés. Modulent l'activité de diverses enzymes qui activent les cytochromes, détoxifient les carcinogènes (glutathion S-transférase) et inhibent la formation d'adduits d'ADN (**Godevac, 2008**).

II-*Allium porrum*

II-1 Généralité sur *Allium Porrum*

Le genre *Allium* est le plus important représentant de la famille des Alliacées, il forme une grande famille de monocotylédones (Derridj *et al.*, 1996). Elle englobe environ 600 espèces réparties en 30 genres, ces espèces de ce genre sont répandues généralement pendant les saisons sèches. Tubéreuses, bulbeuses et ayant généralement des fleurs, plusieurs autres espèces sont largement cultivées pour usage culinaire comme le poireau (*Allium porrum*) (figure 4) et l'ail des ours (*Allium ursinum*) (Bouabbache et khouchane, 2018).

Le poireau fait partie de la famille botanique des Alliacées qui compte plusieurs plantes d'intérêt économique, ces espèces sont consommées pour leur bulbe ou pour leur partie végétative. L'origine du poireau est incertaine, sa domestication proviendrait du Moyen-Orient, en Égypte antique des traces prouvent que le poireau était déjà cultivé. Les feuilles du poireau sont plates, opposées et de couleur vert sombre (Karić *et al.*, 2005), elles sont imbriquées les unes dans les autres et leur base engainante forme une pseudo-tige (Mokrani, 2009), cette partie est la plus appréciée et constitue la partie comestible, elle est de couleur blanche, c'est le « blanc » de poireau. Les racines sont issues de la base du fût, cette zone constitue le plateau racinaire (Boursicaud, 2017).

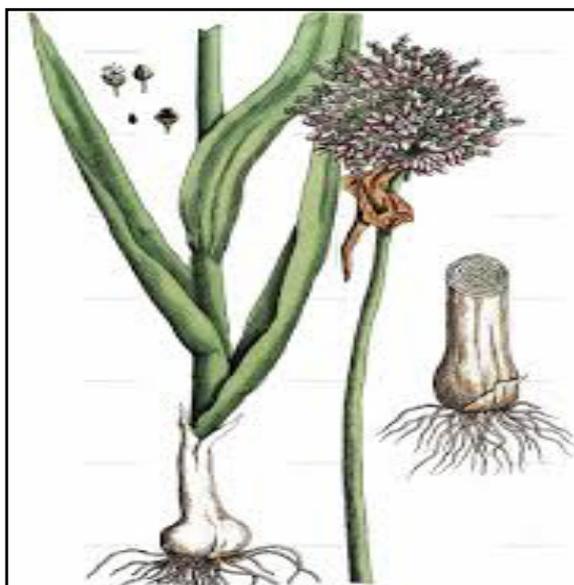


Figure 4 : Image montre la structure de la plante « *Allium porrum* »

II-2 Systématiques

Règne : **Plantae**

Sous-règne : **Tracheobionta**

Embranchement : **Magnoliophyta**

Sous-embranchement : **Magnoliophytina**

Classe : **Liliopsida**

Sous-classe : **Liliidae**

Ordre : **Liliales**

Famille : **Laliaceae**

Genre : *Allium*

Espèce : *Allium porrum*

(D'après **Cronquist, 1981**).

II-3 Etymologie

Anciennement por puis poireau, du latin porrum. Le poireau s'est d'abord produit dans la région parisienne probablement sous l'influence du mot poir ; En fonction de la période de récolte, les poireaux sont dits d'été, d'automne, d'hiver, ou « baguette » ; les variétés sont à choisir selon la saison de culture. Généralement elle subdivise en deux variétés : *A. porrum* L. *Var. porrum* et *A. porrum* L. *Var. sectivum* (**Derridj et al., 1996**).

Synonymes : poireau, porreau, poirée, poirette, asperge du pauvre, *Allium ampelopasum*, poireau d'été, ail des cheveux. **Français** : poireau sauvage, poireau des vignes, poireau perpétuel. **Kabyle**: tharnasth. **Anglais**: leek, com non leek, purret.

II-4 Description botanique du poireau

Le poireau est une plante vivace herbacée à tige cylindrique de 30 cm, épaisse recouverte par des feuilles engainant, pliées en deux de couleur vert bleutée qui se diffère par la taille. Elles sont lancéolées en forme de bande ou ruban constitué par des longs nervures parallèles à un tronc cylindrique appelé fût de couleur blanche, ce pied se termine par un bulbe peu développé parfois des bulbes secondaires (**Benmeddour et al., 2015**).

Elle est caractérisée par une odeur piquante et pousse dans un sol fertile léger et humide et en plein soleil (**Boursicaud, 2017**).

L'inflorescence est formée d'une ombelle multiflore, d'où les fleurs comportant un périanthe qui constitué de trois sépales et trois pétales, pourpre claire à blanchâtre et rayé de vert ou de rose, six étamines et un ovaire tri-carpellaire, avec un fruit formé d'une capsule à trois cotés et divisé en trois loges chacun d'entre elle renferme deux grains (**Bouabbache, 2018**).

Il existe plusieurs variétés de poireaux et chacune d'entre elles a une période de culture d'où le poireau d'été semé en Janvier, les jeunes pousses sont repiqués à partir d'Avril en plan champ ou en terre, celui d'automne est semé en Mars ou Avril puis repiqués en Mai ou Juin, une autre variété d'hiver est semé que à la fin de Mai.

II-5 Origine

Le poireau est généralement trouvé en Asie centrale, il est inconnu à l'état sauvage probablement originaire de l'Est du bassin méditerranéen et vraisemblablement issu de l'espèce *Allium ampeloprasum*, il existe depuis le début de l'antiquité. A cette époque, il était déjà au menu des Egyptiens plus tard ; les Romains au Moyen Age. La culture du poireau fut introduit en Europe où il est demeuré un légume très prisé jusqu'à aujourd'hui (**Hirschegger et al., 2010**).

III-6 Composition biochimique du poireau

La majorité des plantes sont généralement composées par des métabolites primaires et secondaires. Les métabolites primaires de l'*Allium porrum* ; qui sont apportés par la plante par la photosynthèse et la nutrition; sont les protéines (1,6g), les glucides (2,9g), les oligo-éléments (fer, iode, zinc, sodium et sélénium), les minéraux (potassium, phosphore et

calcium), les fibres, ainsi que les vitamines (vitamines B, C et E) (**Moumene, 2016**). Les constituants représentant l'odeur ainsi que le goût d'*Allium ampelopasum* sont alcényl-oligosulfides avec méthylpente-2-énal, l'ex-2-enal, propane thiolces, S-alkyl-cysteine sulfoxyde et les dérivés propyl et méthyl d'où ces deux derniers sont transformés en composés volatiles soufrés quand on découpe le poireau (**Douiri et al., 2013**).

L'*Allium porrum* est caractérisé aussi par sa composition en flavonoïdes qui sont : isoquercétine (quercétine-2-glucoside) et estragaline (kaempférol-3-glucoside) (**Kratchanov et al., 2010 ; Fattorusso et al., 2001**).

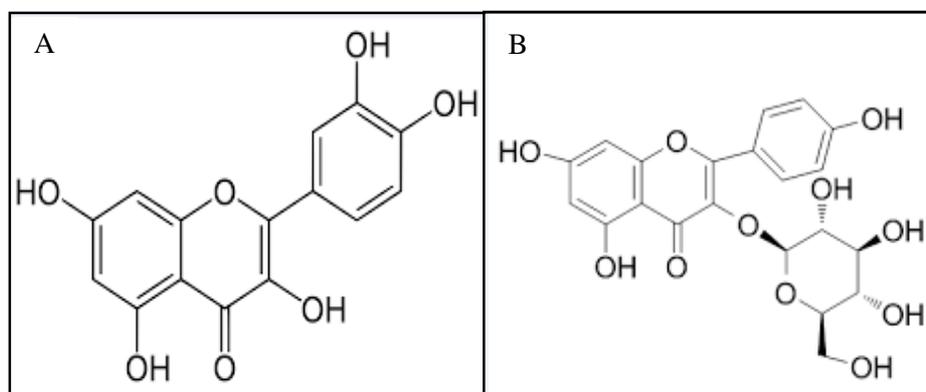


Figure 4 : Image montre la structure chimique des deux composés de Flavonoïques (A) ; Isoquercétine (B) ; Estragaline (**Fattorusso et al., 2001**).

II-7 Propriétés biologique de l'*Allium porrum*

II-7-1 Protection des vaisseaux sanguins

Les flavonoïdes, que l'on retrouve en quantités importantes dans ce légume, renforcent la paroi des vaisseaux sanguins, en particulier contre les dommages causés par les radicaux libres. Ces flavonoïdes stimulent aussi la production d'oxyde nitrique. Il s'agit d'une substance qui améliore l'élasticité des vaisseaux sanguins et qui diminue les risques d'hypertension (**Moumene, 2016**).

II-7-2 Richesse en antioxydants

Ce légume contient de puissants antioxydants appelés polyphénols, qui évacuent les radicaux libres hors de l'organisme, ces radicaux libres peuvent causer plusieurs maladies chroniques ainsi qu'un vieillissement prématuré de nos cellules. Manger régulièrement des poireaux apportera également une meilleure protection contre diverses formes de cancer (Mokrani, 2009).

II-7-3 Efficace pour la perte de poids

Ce savoureux légume fait aussi partie des meilleurs aliments à consommer lorsqu'on souhaite perdre du poids. En effet, le poireau possède peu de calories et est dépourvu en matières grasses. Par ailleurs, il s'agit d'un légume particulièrement riche en fibres ce qui permet de profiter d'une sensation de satiété, tout en ayant un métabolisme actif (Birlouez *et al.*, 2016).

II-7-4 Anti-inflammatoire naturel

La consommation régulière du poireau permet de soulager les personnes souffrant de maladies inflammatoires y compris le diabète, l'arthrite rhumatoïde ou encore les douleurs causées par une obésité, ce sont les flavonoïdes et polyphénols que l'on retrouve dans ce légume qui agissent en tant qu'anti-inflammatoire (Alghazeer *et al.*, 2012).

II-7-5 Protection contre les maladies cardiovasculaires

Le poireau diminue naturellement la pression artérielle. Manger ce légume réduit aussi les risques de formation de caillots de sang qui pourraient provoquer une crise cardiaque, cet aliment participe aussi à l'élimination de l'homocystéine, qui est une molécule nuisant à notre santé cardiovasculaire (Osama *et al.*, 2013).

Matériel et Méthode

Matériels et méthodes

I-1 Objectifs

I-1-1 Objectif de travail

Notre étude rentre dans le cadre de tester l'effet des extraits des deux plantes *Allium ursinum* et *Allium porrum* sur l'activité anti hémolytique, ainsi que l'effet de leurs associations sur la même activité. On doit d'abord obtenir les extraits aqueux, de faire un screening phytochimique de l'extrait aqueux et de doser les polyphénols, les protéines et les flavonoïdes, et enfin de déterminer l'activité anti hémolytique et recherche de l'effet synergique entre les deux extraites.

I-2 Matériel

I-2-1 Matériel végétale

Deux plantes médicinales ont été utilisées, il s'agit de *Allium ursinum* et *Allium porrum* (figure 6).

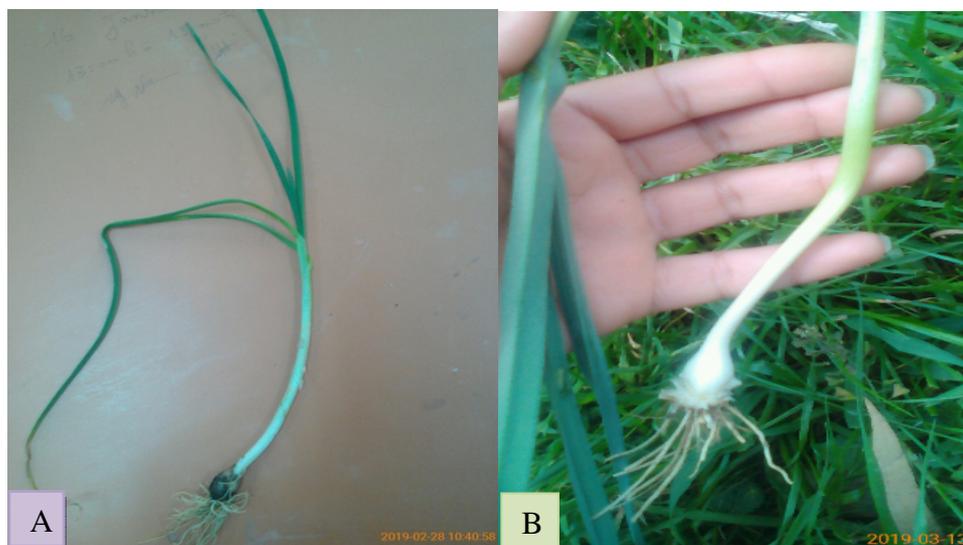


Figure 6: A : Photographie d'ail des ours «*Allium ursinum* », B : Photographie de poireau «*Allium porrum* »

I-2-2 Equipements et solvants

L'ensemble du matériel utiliser pour réaliser cette étude est résumé dans (Annexe 1).

II-Méthodes

II-1 Échantillonnage des espèces végétales

Les deux plantes ont été récoltées durant le mois de Mars 2019 dans la région d'Ain Bessame et de Kadiria. Les deux plantes ont été nettoyées pour éliminer les impuretés, puis conservées à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.

II-2 Obtention de l'extrait aqueuse

Deux types d'extraits aqueux sont réalisés, soit avec de l'eau chaude ou avec de l'eau froide (**Gatsing *et al.*, 2005**). 50g de poireau et de l'ail des ourses découpés en petits morceaux sont mis en macération, d'où chaque échantillon à été mis à température ambiante avec 250ml de l'eau préalablement refroidie à 4°C pendant 2heures puis avec de l'eau chauffée préalablement à 50°C pendant 30 à 45mn. Enfin les quatre extraits est filtré et conservées au réfrigérant (**Bougandoura *et al.*, 2013**).

II-3 Etude phytochimique des extraits

Elle consiste à déterminer les caractéristiques phytochimique des extraits végétaux et les déférents groupes chimiques présents dans les extraits actifs pour évaluer l'activité anti hémolytique (**Bakchiche *et al.*, 2014**). Les résultats ont été évalués comme suit:

+++ : Fortement positif

++ : Moyennement positif

+ : Faiblement positif

- : Négatif

II-3-1 Polyphénols

Quelque goutte de chlorure ferrique FeCl_3 à 5% ont été ajoutées à 5mL de chaque extrais des deux plantes *Allium ursinum* et *Allium porrum*. La formation d'une coloration noirâtre intense indique la présence des polyphénols (**Himed, 2015**).

II-3-2 Flavonoïdes

5ml de chaque extrait aqueux des deux plantes ont été mélangés avec quelques gouttes de magnésium à 5% (0,5mL). La présence des flavonoïdes a été indiquée par la formation d'une couleur jaune (**Alain et al., 2015**).

II-3-3 protéines

D'après le protocole de **Madaci et al., (2008)**, 5mL de chaque extrait ont été mélangé avec quelque goutte de Bradford, une couleur bleu indique la présence des protéines.

III- Dosage biochimique

III-1 Dosage des polyphénols

a) Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur ; la réduction du réactif d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique (réactif de Folin) dans une solution alcaline en un mélange d'oxyde de bleu de tungstène et molybdène en présence des polyphénols totaux, dont cette coloration est proportionnelle au taux des composées phénoliques présente dans les extraits aqueux qui possède une absorption environ 750 à 760nm (**Slinkard et al., 1977**).

b) Mode opératoire

Le taux des composés phénoliques totaux contenus dans les différents extraits aqueux (les deux plantes) ont été déterminés en se référent à la courbe d'étalonnage obtenu avec

différentes concentrations d'acide gallique selon **Dif et al., (2015)**, le taux des polyphénols sera exprimé en mg d'acide gallique/mL d'extrait aqueux.

Pour cela, 0,25mL d'extrait aqueux est mélangée avec 0,25mL de réactif de Folin-Ciocalteu à 10% et 0,25mL de carbonate de sodium à 20%. Après agitation, laissées réagir à température de 40°C pendant 30min, le mélange est gardé à température ambiante et à l'obscurité pendant 60min et les absorbances sont lues au spectrophotomètre visible à une longueur d'onde (λ) de 765 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée avec des solutions connues d'acide gallique, à des valeurs allant de 0,02, 0,04, 0,06, 0,08, 0,1, 0,12mg/mL avec un témoin de l'eau et les deux réactifs (l'acide gallique et Folin-Ciocalteu) (**Achat, 2013**).

III-2 Dosage des flavonoïdes

a) Principe

Protocole modifié de **Zhishen et al., (1999)** et **Kim et al., (2003)**. La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable entre le Chlorure d'Aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes.

b) Mode opératoire

La méthode du Trichlorure d'Aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits. 0,2mL de solution contenant 0,2mL de l'extrait avec 0,8mL de méthanol, est ajouté à 1mL de la solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Après 10min d'incubation, l'absorbance est lue à 415nm par un spectrophotomètre UV-visible, les concentrations des flavonoïdes des différents extraits sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage obtenue à partir de solution de Quercétine préparée à différentes concentrations, dont la solution mère 1mg Quercétine/mL d'éthanol (**Cavallito et al., 1944**).

III-3 Dosage des protéines

a) Principe

Pour déterminer la concentration totale de protéine dans un mélange complexe par spectrophotométrie d'absorption des méthodes colorimétriques sont souvent employées. Ces méthodes basées sur la réaction d'agents chromophores avec les liaisons peptidique ou avec certains acides aminés des protéines (**Madaci et al., 2008**). Cette réaction donne naissance à une coloration dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration de la protéine selon **Bradford et al., (1976)**.

b) Mode opératoire

La quantité des protéines de l'échantillon est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage établie à partir d'une solution mère de BSA (1 mg/mL). Une série de 10 dilutions a été effectuée 0,9 - 0,8- 0,7- 0,6- 0,5-0,4-0,3-0,2-0,1 (mg/mL), on prend 1ml de chaque dilution est en mélangé avec 3mL de réactif de Bradford (Annexe 3) puis en mesure l'absorbance pour tracé la courbe d'étalonnage (mg/mL).

1mL de chaque extrait est mélangé avec 1,5mL de réactif de Bradford, après 5mn on mesure l'absorbance à 595nm (**Ouis, 2008**).

IV- Evaluation de l'activité anti hémolytique des extraits

a) Principe

Pour évaluer l'activité anti-hémolytique des extraits aqueux de notre plantes (*Allium ursinum* et *Allium porrum*), la capacité de ces extraits à stabiliser la membrane des globules rouges vis-à-vis de l'attaque par le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Les tests d'évaluation utilisés reposent sur la mesure par méthode spectrophotométrique de l'hémoglobine libérée (couleur rouge) suite à la rupture de la membrane des globules rouges (**Haddouchi et al., 2015**).

b) Préparation des érythrocytes

La suspension érythrocytaire a été préparée selon le protocole de **Alinezhad et al., (2012)**. Le sang hépariné a été centrifugé à 1500tr/min pendant 10min. Le plasma et les couches de globules blancs ont été aspirés et éliminés. Les érythrocytes contenus dans le culot ont été repris dans le tampon Tris/HCl (à 0,2M à pH 7,4) à 10 volumes. Après mélange par retournement, les échantillons ont été à nouveau centrifugés à 15000tr/min pendant 10min et le surnageant a été éliminé à l'aide d'une micropipette, le lavage du culot a été répété trois fois dans les mêmes conditions. Les érythrocytes lavés ont été suspendus dans le Tris/HCl (v/v), puis conservés pendant 2 à 4 jours à 4°C.

c) La mise en évidence de l'activité anti-hémolytique

Une suspension érythrocytaire à 4 % a été préparée dans le Tris/HCl dont la molarité a été de 0,2M et un pH de 7,4. 2mL de cette suspension ont été ajoutés à 0,5mL de chaque concentration d'extrait à tester déjà préparés dans le Tris/HCl. Puis, le milieu a été dilué en le complétant avec le Tris/HCl jusqu'à 5ml dans chaque tube à essai. Le mélange obtenu a été incubé pendant 5min à température ambiante. 0,5ml de H₂O₂ à 1M préparés dans du Tris/HCl ont été ajoutés pour induire la peroxydation des lipides membranaires des érythrocytes (Annexe 4), le mélange réactionnel a été incubé pendant 2 heures dans un bain marie à 37°C. Ensuite, les échantillons ont subi une centrifugation à 1000tr /min pendant 10min. Enfin, les surnageants obtenus dans chaque tube ont été aspirés et la lecture des DO ont été réalisées à 540nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Afin d'avoir une hémolyse totale (100 %) un contrôle contenant 2mL de suspension érythrocytaire à 4% ont été incubés avec 2mL de H₂O₂ (**Khalili, 2014**).

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule décrite en dessous :

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = (A_c - A_e / A_c) * 100.$$

Dont :

A_c : c'est l'absorbance obtenue après hémolyse totale.

A_e : c'est l'absorbance obtenue en présence de l'extrait.

d) Etude synergique

Pour évaluer l'effet anti-hémolytique des deux plants, des associations entre les extraits aqueux ont été réalisées. Ces associations sont caractérisées par quatre types d'interaction :

- Indifférence : l'activité n'est pas affectée par la présence de l'autre.
- Synergie : l'effet de l'association est significativement supérieure à la somme des activités de chacun étudié séparément à la même volume.
- Antagonisme : l'association diminue l'effet de l'un des deux. L'activité de cette association est inférieure à la somme des effets de chacun étudié séparément au même volume.

Le même protocole a été utilisé avec quelques modifications des volumes, dans lequel au lieu de 0,5 mL de chaque extrait (Af, Ac, Pf, Pc), on a utilisé les volumes suivants (0,5+0,5) pour les extraits : PA (ff), A (fc), PA (cc), P (fc), PA (fc) et (0,25P+0,5A), (0,5P+0,25A) pour les mêmes combinaisons.

II- Résultat et discussion

II-1 Rendement d'extraction

Cette extraction est destinée à séparer les métabolites secondaires solubles, par diffusion à travers une matrice solide (matériel végétale) vers une matrice liquide (l'eau distillée). C'est l'état préliminaire avant toute analyse quantitative d'où le solvant utilisés dans cette extrait est l'eau distillé à froid et à chaud et cela nous a permet d'obtenir les résultats illustrer dans la figure 7.

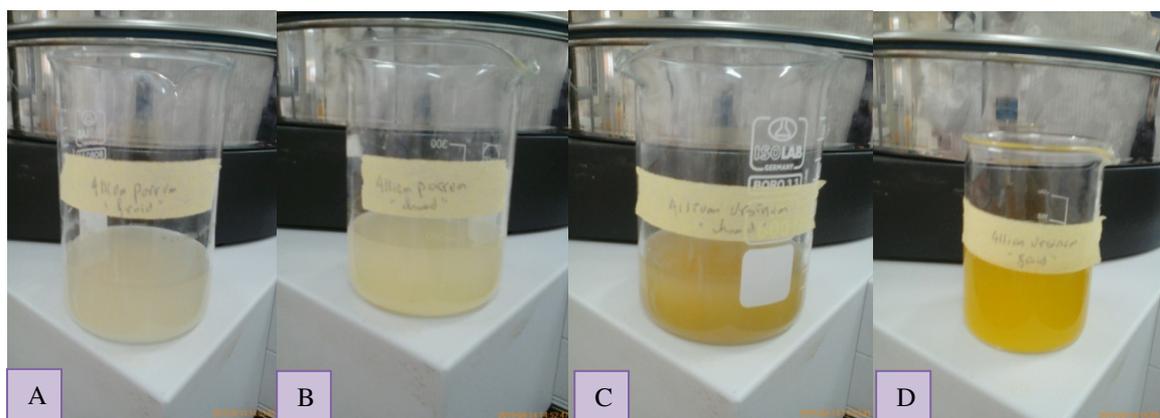


Figure 7 : Images des extraits aqueux des deux plantes « *Allium ursinum* et *Allium porrum* »

Allium porrum traité par l'eau froide (A), par l'eau chaude (B), *Allium ursinum* traité par l'eau froide (D), par l'eau chaude (C)

Dans le but d'avoir une meilleure extraction des principes actifs, le choix de la méthode est très important avant toute analyse quantitative et qualitative des extraits des plantes. Le choix de ce solvant (eau froide et chaude) a pour but d'extraire le maximum des composés phénoliques et protéiques. Dans le même contexte d'extraction, une autre étude a été réalisée par **Moumene, (2016)** sur le genre d'*Allium* d'où ils ont suivi le même procédé par l'utilisation de trois solvants : éthanol, méthanol et l'eau distillée sur les bulbes.

II-2 Etude phytochimique des extraits

Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits bruts des deux plantes (*Allium* froid, *Allium* chaud, *Allium* froid et *Allium* chaud) permettent d'avoir les résultats ci-dessus (Tableau 1). La forte ou la faible présence de chaque fraction chimique a été jugée par le degré de coloration :

Etude expérimentale

Chapitre II : Résultat et discussion

- + Réaction faiblement positive.
- ++ Réaction moyennement positive.
- +++ Réaction fortement positive.
- _ Réaction négative.

Tableau 1 : Résultat de criblage phytochimique des extraits d'*Allium ursinum* et *Allium porrum*.

Groupe chimique	Plante			
	<i>Allium porrum</i>		<i>Allium ursinum</i>	
	Froide	Chaude	Froide	Chaude
Protéines	+	++	++	+++
Flavonoïdes	+	+	++	++
Polyphénols	+++	+	+	+++

Principalement l'*Allium ursinum* (*Au*) qui présente le taux le plus important en protéines et en flavonoïdes sachant que les protéines sont fortement présentes dans l'extrait *Ac* par rapport à l'extrait froid : notre travail est similaire à celui de **Moumen, (2016)** avec d'autres espèces de même genre, car les protéines de l'ail sont thermostable et la chaleur facilite la libération des protéines en brisant la paroi de la graine. Les flavonoïdes présentent les mêmes quantités dans les deux extraits à froid et à chaud. Par contre l'extrait d'*Ap* présente des quantités moins importantes en protéines et en flavonoïde (**Fichaux, 2016**), toujours avec une présence plus importante des protéines dans l'extrait chaud avec une faible présence de flavonoïde dans le même extrait.

De façon générale, les familles chimiques détectées dans notre étude viennent à confirmer les travaux de (**Derridj et al., 2013**). Ces dernières ont permis de mettre en évidence la richesse de l'ail en composés bioactifs (polyphénols, flavonoïdes et les protéines), sachant que les polyphénols sont fortement présents dans les extraits *Ap* à froid et *Au* à chaud ; cette différence est due à la nature des composés phénoliques qui comporte chaque plante et leur solubilisation dans l'eau.

Les tests phytochimiques réalisés par **Najjaa et al., (2014)** sur le genre d'*Allium* ont montré également la présence des métabolites secondaires ce qui est comparable à nos

Etude expérimentale

Chapitre II : Résultat et discussion

résultats, d'où la différence de teneur en polyphénols, protéines et flavonoïde pour les quatre extraits peut être attribuées à la déférence de l'espèce, les propriétés physico-chimique de composés des deux plante et à la sensibilité à la chaleur.

II-3 Taux des phénols totaux

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait à été calculée à partir de la courbe d'étalonnage (Annex5) et exprimée en mg équivalent d'acide gallique par mL d'extrait (mg EAG/mL E). Les résultats obtenus sont présenté dans le tableau 2.

Tableau 2 : Teneur en polyphénols totaux des extraits.

Les extraits	Phénols totaux (mg EAG/mL E)
<i>Allium porrum</i> à froid	0,19±0,01
<i>Allium porrum</i> à chaud	0,043±0,0013
<i>Allium ursinum</i> à froid	0,052±0,005
<i>Allium ursinum</i> à chaud	0,19±0,008

A partir de ces résultats, on peut dire qu'il n'ya pas une déférence entre la teneur des polyphénols des deux plantes (0,19%), sachant que les extraits Ac et Pf (0,19±0,008, 0,19±0,01 mg EAG /mL E respectivement) ayant une teneur importante en polyphénols par rapport au deux autres extraits de Pc et Af (0,043±0,0013et 0,052±0,005mg EAG/mL E).

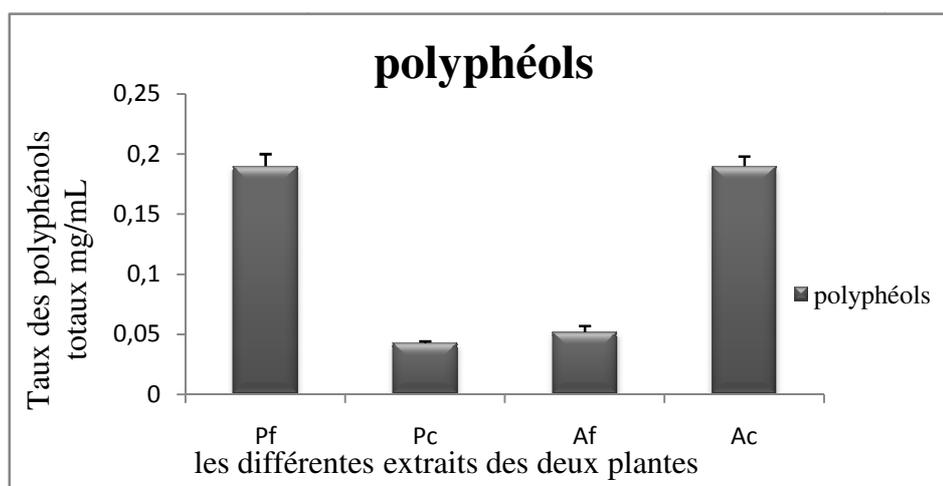


Figure 8 : Histogramme représente la comparaison de taux des phénols totaux entre les quatre extraits.

P; *Allium porrum*, **A**; *Allium ursinum*, **f**; Froid, **c**; Chaud.

Etude expérimentale

Chapitre II : Résultat et discussion

Les résultats de la figure 8 montre que la teneurs en polyphénols des deux plantes s'avère inférieure à celles obtenues par **Sahnoun et al., (2017)** et **Djurdjevic et al., (2003)** qui ont travaillé sur l'*Allium ursinum* avec un teneur de 0.38 et $1,01 \pm 0,14$ mg EAG/ml E respectivement. La différence des résultats et due à la nature des composées phénoliques et leur solubilités qui est gouvernés par le degré de polarisation, parce que les polyphénols comme indique le nom caractérisées par la présence de plusieurs groupes phénoliques associés en structure plus ou moins complexe, sont solubles dans l'eau avec une polarité élevée.

Généralement, les espèces d'*Allium* sont connues par leur composés phénoliques (**Najjaa et al., 2014**). Les analyses quantitatives des polyphénols de *Allium* réalisés par **Ouedraogo et al., (2015)** ont montré que l'extrait à une teneur proche de nos résultats ($\approx 0,195$ mg/g) mais il est à retenir que la variation de rendement peut être attribuée à la partie étudiée de la plante et la région de la récolte. La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principale du dosage colorimétrique, car le réactif est extrêmement sensible à la réduction des groupes hydroxyles non seulement ceux des composés phénoliques mais également de certains sucres et de protéines. Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extraits, il n'est pas spécifique aux polyphénols mais beaucoup de composés peuvent réagir avec elles donnent un taux phénolique apparent élevés (**Vuorela et al., 2005**).

II-4 Taux des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' AlCl_3 en utilisant comme standard la Quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de la Quercétine par mL d'extrait (mg EQ/mL E), une couleur jaunâtre apparaît dans tous les extraits d'*Allium* après addition de la solution de Chlorure d'Aluminium, cette coloration révèle la présence des flavonoïdes. Les résultats et représenté dans le tableau 3.

Tableau 3 : Teneur en flavonoïdes dans les quatre extraits.

Les extraits	Taux des flavonoïdes (mg EQ/mL E)
<i>Allium porrum</i> à froid	0,007±0,001
<i>Allium porrum</i> à chaud	0,012±0,003
<i>Allium ursinum</i> à froid	0,031±0,004
<i>Allium ursinum</i> à chaud	0,014±0,002

On conclue, à partir de ces résultats qu'il y'a une différence entre le taux des flavonoïdes entre les deux plantes, sachant que les extraits Ac et Af (0,014±0,002 et 0,031±0,004 mg EQ/mL E respectivement) ayant une teneur important en flavonoïde par rapport au deux autres extraits de poireau à froid et à chaud (0,007±0,001 et 0,012±0,003 mg EQ/mL E) (figure 9).

Les écarts trouvés entre les résultats obtenus sont tout à fait justifiés d'après **Bozin et al., (2008)** qui ont travaillé sur l'*Allium sativum* (0,041mg/g). En effet, les conditions d'extraction, l'état et l'origine de l'échantillon en termes de région de récolte, saison de collecte et de cultivation ainsi que la diversité structurale et les propriétés physicochimiques des flavonoïdes, la méthode de conservation et l'exposition des plantes à la lumière et même la différence de l'espèce peuvent affecter la teneur en flavonoïdes (**Bouyhya et al., 2016**).

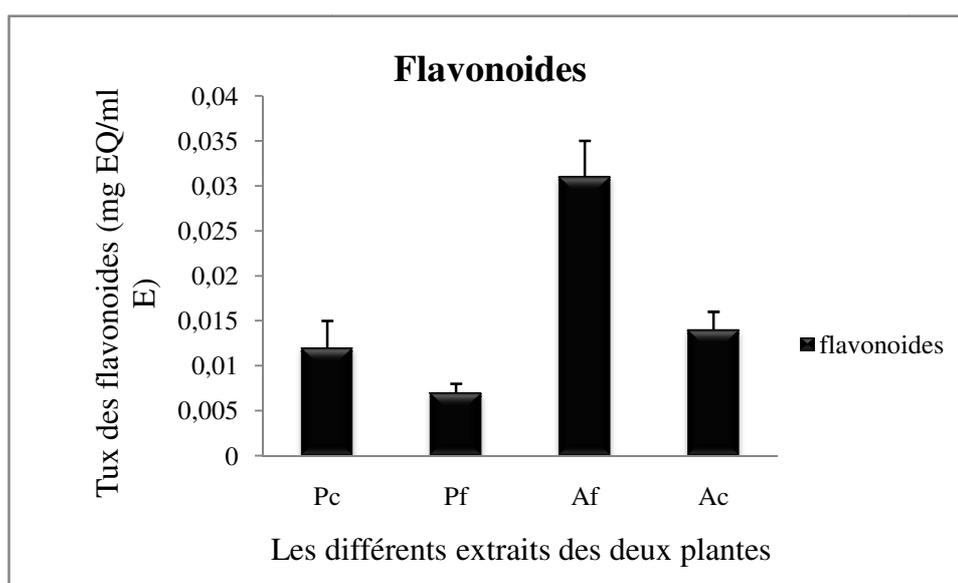


Figure 9 : Histogramme représente la comparaison de la teneur en protéines entre les quatre extraits.

II-5 Taux des protéines

La teneur en protéines chaque extrait à été calculées à partir de la courbe d'étalonnage (Annex5) est exprimé en mg équivalent de BSA par ml d'extrait (mg EBSA/mL E). Les résultats obtenus sont présenté dans le tableau 4.

Tableau 4 : Teneur en protéine des différents extraits aqueux.

Les extraits	Protéines (mg EQ/mL E)
<i>Allium porrum</i> à froid	9,83±1,6
<i>Allium porrum</i> à chaud	8,79±1,64
<i>Allium ursinum</i> à froid	3,67±1,43
<i>Allium ursinum</i> à chaud	37,625±6,002

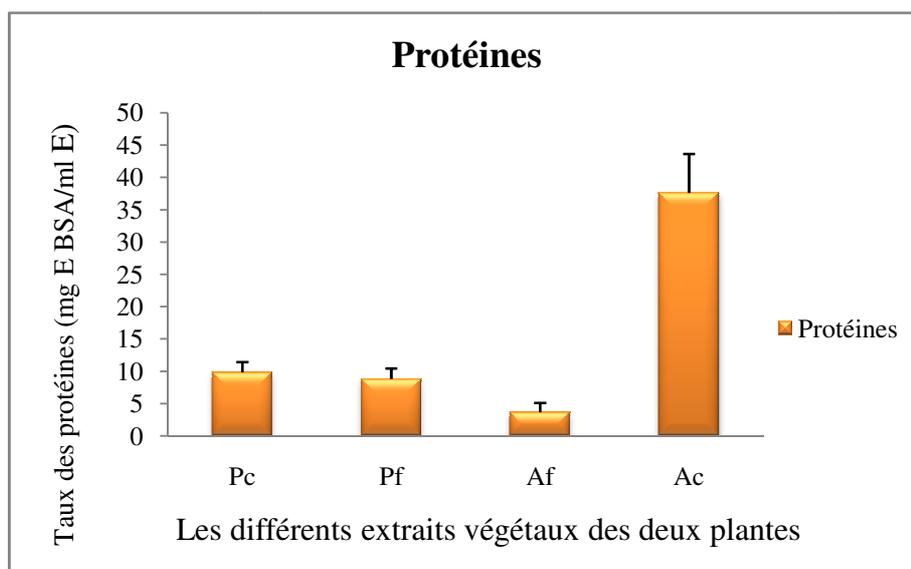


Figure10 : Histogramme représente la comparaison de la teneur en protéines entre les quatre extraits.

P; *Allium porrum*, **A**; *Allium ursinum*, **f**; Froid, **c**; Chaud.

D'après les résultats illustrés dans la figure 10, le taux de protéines le plus élevé a été observés dans l'extrait Ac (37,625±6,002 mg /mL), suivi par l'extrait Pf (9,83±1,6mg /mL) et

Etude expérimentale

Chapitre II : Résultat et discussion

Pc ($8,79 \pm 1,64$ mg/mL), l'extrait Af présent la plus faible teneur en protéines ($3,67 \pm 1,43$ mg/mL).

D'après **Sobolewska et al., (2013)**, généralement les espèces d'*Allium ursinum* présentent les quantités les plus élevées en protéines localisés dans les feuilles et bulbes. Il n'est pas affecté par la chaleur grâce à leur richesse en cystéine sulfoxydes et les acides aminés soufrés, ce qui augmente la solubilité des protéines dans l'extrait chaud. Par contre, les espèces d'*Allium porrum* ayant une teneur moins importantes en protéines par rapport au *Au* spécifiquement les acides aminés soufrés, avec des quantités élevées en acide aminés libre (**Derridj et al., 2013**), ce qui explique nos résultats.

La variation de la teneur en protéines des deux espèces s'explique par leur différence de composition chimique, structure, solubilité et les conditions d'extraction (température) et même l'exposition à la lumière affecte la teneur en protéine dans chaque extrait. D'autre part, la méthode de Bradford ne permet pas de détecter les protéines de faibles poids moléculaire (<300 Da) (**Bradford, 1976**) et réagit positivement aux tannins ce qui rend difficile à extraire les protéines, d'où les différences significatives entre les extraits des deux plantes (**Stajner et al., 2003**).

III- Activité anti-hémolytique

Afin d'étudier l'effet des extraits d'*Allium* sur les globules rouge nous avons soumis ces derniers à des conditions de stress oxydant par l'ajout de H₂O₂. Lorsque les hématies sont soumises à un stress oxydatif, les radicaux conduisent à des altérations membranaires et par conséquent une hémolyse.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à évaluer l'effet protecteur que pourraient avoir les métabolites primaires et secondaires d'*Allium* sur la préservation de l'intégrité membranaires des globules à différentes concentrations et avec différentes combinaisons entre les quatre extraits, les résultats obtenus sont présentés dans la figure 11.

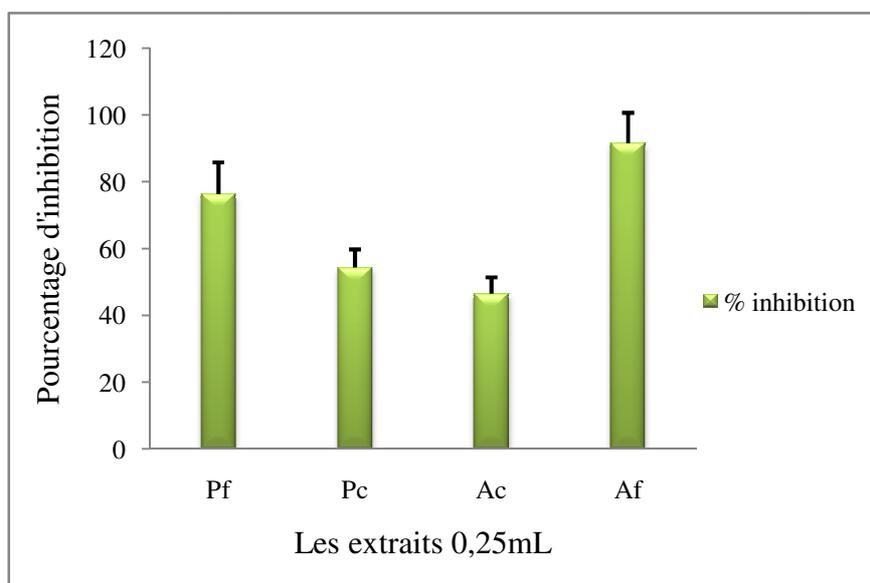


Figure 11: Histogramme représente l'effet des extraits d'*Allium* sur l'activité anti-hémolytique.

P; *Allium porrum*, **A;** *Allium ursinum*, **f;** Froid, **c;** Chaud.

D'après les résultats obtenus, une hémolyse de 76,44±9,44, 54,41±5,43, 46,57±4,89 et 91,64±9,11% est obtenue à un volume de 0,25 mL (d'extraits/2mL d'hématies) Pf, Pc, Ac et Af respectivement (Annexe 6), d'où tous les extraits présentent une activité anti-hémolytique sachant que le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse le plus élevés à été enregistrés par Af (91%) suivi par l'extrait Pf (76%), Pc (54%) et Ac (46%). Les extraits des

deux plantes à froid montrent le pourcentage d'inhibition le plus élevé par rapport aux deux extraits à chaud.

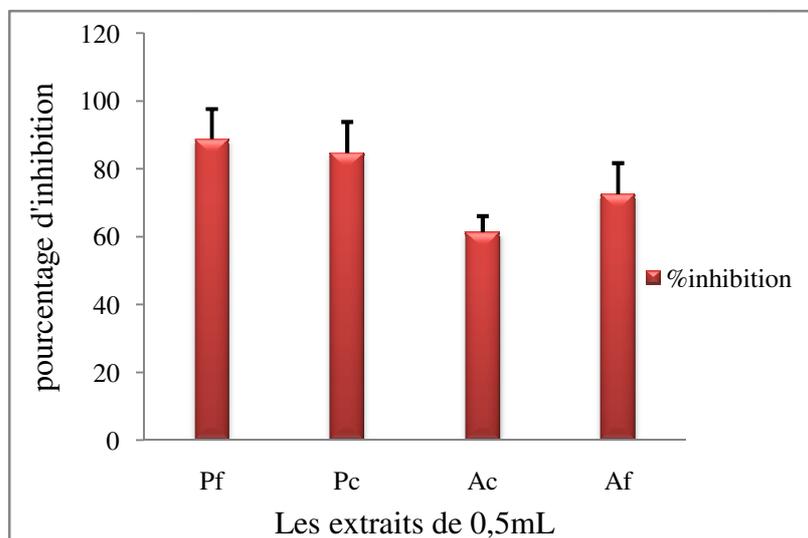


Figure 12 : Histogramme représente l'effet des extraits d'Allium sur l'activité anti-hémolytique.

P; *Allium porrum*, **A**; *Allium ursinum*, **f**, Froid, **c**; Chaud.

D'après les résultats obtenus (figure 12), une hémolyse de $88,87 \pm 8,86$, $84,78 \pm 9,17$, $61,4 \pm 4,76$, $72,62 \pm 9,15$ % est obtenue à un volume de 0,5 mL (d'extrait/2mL d'hématie) Pf, Pc, Af et Ac respectivement (Annexe 6). Où tous les extraits présentent une forte activité anti-hémolytique sachant que le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse le plus élevé a été enregistré par Pf (88%) suivi par l'extrait Pc (84%), Af (72%) et Ac (61%), L'activité anti-hémolytique augmente avec l'augmentation de volume d'extrait (Pf, Pc, Ac) sauf l'extrait Af qui montre un effet inverse.

L'évolution de l'activité anti-hémolytique a été proportionnelle au volume de l'extrait c'est-à-dire plus le volume de l'extrait augmente plus le pourcentage d'inhibition augmente. Nos résultats sont partiellement similaires à ceux trouvés par **Nabavi et al., (2014)** sur d'autres espèces (*Allium scabriscapum*) avec un pourcentage d'hémolyse de 22% à une concentration de $2 \mu\text{g/mL}$. Vu que les deux plantes sont exploitées pour la première fois, il n'y a pas de travaux similaires sur elles, mais des activités anti-hémolytiques proches ont été obtenues par **Chaudhory et al., (2014)** avec d'autres plantes (*Allium cepa*), ce qui laisse

suppose que les deux plantes sont de composition proches ou qu'elle renferme le même profil de principes actifs.

L'effet anti-hémolytique peut être attribué aux métabolites secondaires présents dans ces extraits tels que les flavonoïdes et les polyphénols (**Thephinlap et al., 2013**). En effet, plusieurs études ont prouvé que certaines des composés phénoliques notamment les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-radicalaires, en neutralisant ou en piégeant les radicaux libres (**Khalili et al., 2014**). De plus, les polyphénols sont connus comme chélateurs des métaux de transition, réduisant ainsi la vitesse de réaction de fenton. Ils peuvent aussi empêcher les oxydations causées par le radical hydroxyle et empêcher le passage de l' H_2O_2 à travers la membrane érythrocytaire et la génération des radicaux libres (**Wong et al., 2006**).

L'inhibition de l'hémolyse peut être aussi due à l'interaction des protéines de l'extrait avec celle des érythrocytes, qui ont des fonctions biologiques importantes. Il peut y avoir un effet protecteur sur les érythrocytes soit par l'interaction des protéines de l'extrait avec les lipides membranaires des érythrocytes ; qui sont la cible d'oxydation ; ce qui les protège contre la destruction et l'oxydation (**Chaudhuri et al., 2007**), ou par une manière indirecte en présence des protéines de l'extrait qui entrent en compétition avec les protéines membranaires pour le piégeage des radicaux libres par l' H_2O_2 , ce qui permet la protection des érythrocytes contre l'hémolyse car les agents radicalaires qui attaquent les protéines provoquent l'oxydation de certains résidus.

IV- Recherche de l'effet synergique

Nous avons combiné chaque extrait des deux plantes à froid et à chaud à différents volumes afin de déterminer la capacité éventuelle des extraits à augmenter l'effet anti-hémolytique, d'où on va mélanger les extraits des deux plantes par exemple l'extrait d'*Allium ursinum* froid avec l'extrait d'*Allium porrum* chaud à des volumes différents et comparer l'effet anti-hémolytique des extraits seuls avec celles des combinaisons.

Etude expérimentale

Chapitre II : Résultat et discussion

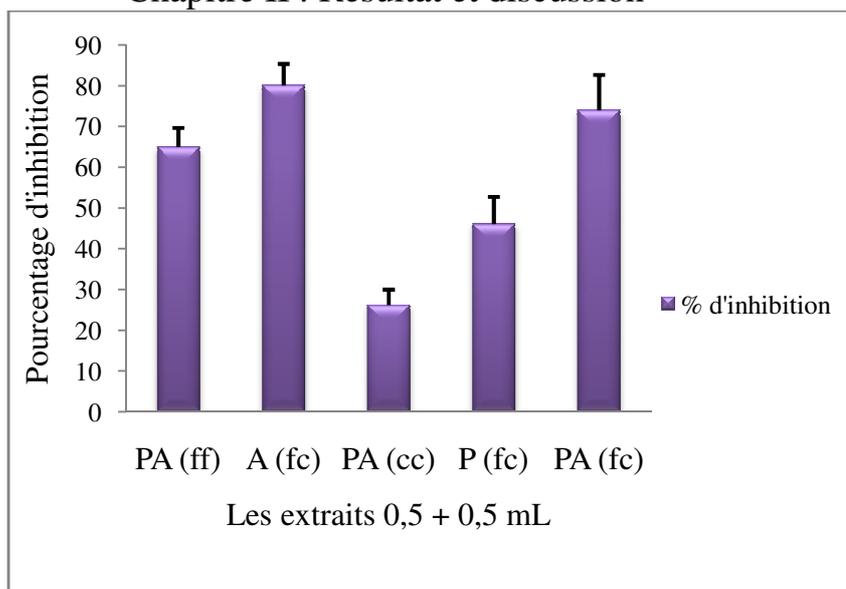


Figure 13 : Histogramme représente l'effet de la combinaison des extraits d'*Allium* sur l'activité anti-hémolytique.

P : *Allium porrum*, **A;** *Allium ursinum*, **f;** Froid, **c;** Chaud, **PA (ff);** mélange des deux extraits : 0,5ml d'*Allium porrum* à froid et 0,5ml d'*Allium ursinum* à froid.

Les résultats de l'effet synergique de la combinaison 0,5mL d'*Ap*/0,5mL d'*Au* (figure13) ont révélé un effet antagoniste avec les extraits *Allium porrum* à chaud + *Allium ursinum* à chaud, (PA (cc)), *Allium porrum* à froid + *Allium ursinum* à froid (PA (ff)), *Allium porrum* à froid + *Allium porrum* à chaud (P (fc)); 26,25±3,79, 64,99±4,73, 46,15±6,64% respectivement (Annexe 6), cet effet s'est traduit par l'observation de la diminution de pourcentage d'hémolyse des deux combinaisons.

Par contre, l'association *Allium ursinum* à froid + *Allium ursinum* à Chaud (A (fc)) a révélé un effet synergique donc ; l'activité de cette association est supérieure à la somme des effets de chacun étudié isolément au même volume (0,5mL). En parallèle, un effet d'indifférence à été observé avec *Allium porrum* à froid + *Allium ursinum* à chaud (PA (fc)) ; (74,05±8,67%) où l'activité n'est pas affectée par la présence de l'autre extrait.

On remarque que le pourcentage d'inhibition le plus élevés à été enregistrés dans l'extrait A (fc) grâce à leur teneur élevés en protéine, flavonoïde et polyphénols.

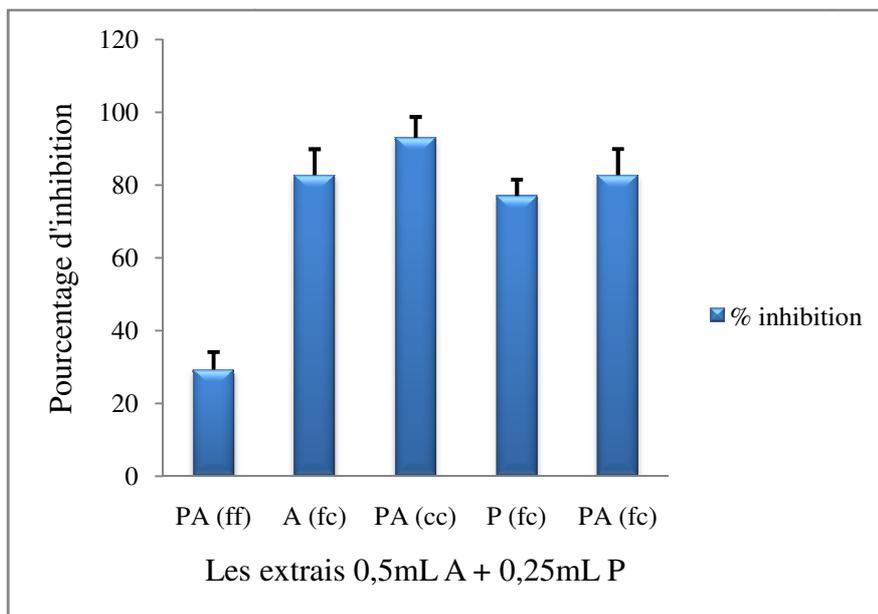


Figure 14: Histogramme représente l'effet des extraits en synergique sur l'activité anti-hémolytique.

P : *Allium porrum*, **A :** *Allium ursinum*, **f :** Froid, **c :** Chaud, **PA (ff)**; mélange des deux extraits : 0,25ml d'*Allium porrum* à froid et 0,5ml d'*Allium ursinum* à froid.

Les résultats de l'effet synergique de la combinaison 0,5mL d'*Ap*/0,25mL d'*Au* (figure 14) ont révélé un effet antagoniste avec l'extrait PA (ff), 29,31±4,85%, cet effet s'est traduit par l'observation de la diminution de pourcentage d'hémolyse des deux combinaisons. Par contre, l'association A (fc), PA (cc) et PA (fc) ; 82,73±7,14, 93,01±5,71, 82,73±7,21% respectivement (Annexe 6) révèle un effet synergique. En parallèle, un effet indifférence à été observés avec P (fc) (77,03±4,49%).

On remarque que le pourcentage d'inhibition le plus élevés à été enregistrés dans l'extrait PA (cc) grâce à leur teneur élevés en protéine, flavonoïde et polyphénols.

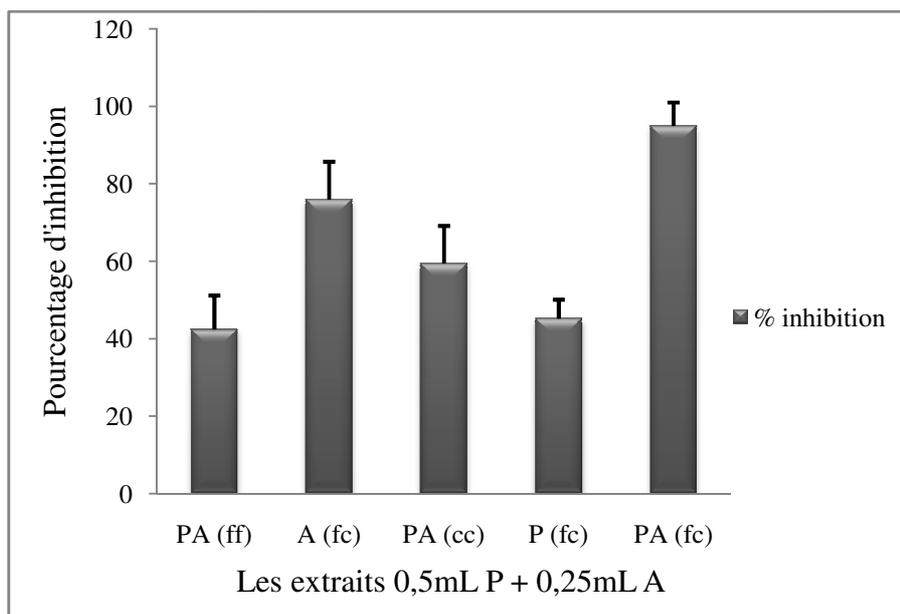


Figure 15 : Histogramme représente l'effet des extraits en synergique sur l'activité anti-hémolytique.

P : *Allium porrum*, **A :** *Allium ursinum*, **f :** Froid, **c :** Chaud, **PA (ff) :** mélange des deux extraits : 0,5ml d'*Allium porrum* à froid et 0,25ml d'*Allium ursinum* à froid

Les résultats de l'effet synergique de la combinaison de 0,25mL d'*Ap*/0,5mL d'*Au* (figure 15) ont révélé un effet antagoniste avec l'extrait PA (ff), PA (cc), P (fc) ; $42,37 \pm 8,78$, $59,40 \pm 9,74$ et $45,19 \pm 4,91\%$ (Annexe 6), cet effet s'est traduit par l'observation de la diminution de pourcentage d'hémolyse des deux combinaisons. Par contre, l'association PA (fc) ; $94,94 \pm 6,04\%$ révèle un effet synergique.

En parallèle, un effet indifférence à été observé avec A (fc) ; $75,96 \pm 9,74\%$. On remarque que le pourcentage d'inhibition le plus élevés à été enregistrés dans l'extrait PA (fc) grâce à leur teneur élevés en protéine, flavonoïde et polyphénols (Adly et al., 2015).

Une meilleure activité anti-hémolytique des quatre extraits contre les érythrocytes humaines a été enregistrée dans les combinaisons A (fc), PA (cc) et PA (fc) ; $82,73 \pm 7,14$, $93,01 \pm 5,71$, $82,73 \pm 7,21\%$ respectivement, avec 0,5ml d'*Au* et 0,25mL d'*Ap*. L'activité anti radicalaire et le pouvoir réducteur des composés phénoliques présents dans les deux plantes indiquent que l'ail des ours manifeste une activité anti-hémolytique et un pouvoir réducteur supérieur à celui du poireau.

Conclusion

Conclusion

La présente étude avait pour objectif principal l'évaluation de l'activité anti-hémolytique des extraits aqueux des deux plantes *Allium ursinum* et *Allium porrum*. La quantification par méthodes colorimétriques des composés phénoliques ; polyphénols, flavonoïdes et protéines montre que les deux plantes d'*Allium* contiennent des teneurs plus ou moins importantes en métabolites secondaires en citant Ac et Pc comportant 0,19mg EAG/mL E en polyphénols, Af = 0,031 mg EQ/mL E en flavonoïdes et Ac = 37,62 mg EBSA/mL E en protéines comme métabolite primaire.

Avec son potentiel bioactif, le genre *Allium* avec les différentes espèces constitueraient une importante source en composés doués de diverses propriétés pharmacologiques ; anti-hémolytique et antioxydant qui justifieraient leur utilisation comme plantes médicinales.

Les résultats de mesure de l'activité anti-hémolytique des extraits aqueux à différents volume montre que l'extrait *Au* à froid à une activité importante (91%) par rapport au *Au* à chaud (46%) à 0,25mL et avec (88%) de poireau à froid à 0,5mL.

De bonnes combinaisons ont été observées entre les extraits A (fc), PA (cc) et PA (fc) : $82,73 \pm 7,14$, $93,01 \pm 5,71$, $82,73 \pm 7,21\%$ respectivement avec 0,25mL *Ap* et 0,5mL *Au*. En effet, les résultats suggèrent que les métabolites secondaires d'*Ap* et d'*Au* pourraient être responsables de l'activité anti-hémolytique.

En perspective, des analyses phytochimiques et biologiques plus détaillées seront nécessaires, en identifiant les principes actifs responsables de l'activité anti-hémolytique par des techniques analytiques tel que HPLC, et autre méthodes et en faisant des testes *in vivo* pour étudier la toxicités des composés phénoliques et vérifier les propriétés biologique de leurs différents composants, d'évalués l'activités anti-hémolytique en utilisant des concentration plus faibles et aussi d'évalués d'autre activité biologique éventuelles.

Références bibliographiques

Référence bibliographique

Achat S (2013). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques, Thèse de Docteur en Technologie Alimentaire Sciences Alimentaires, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, 211p.

Adly F, Moussaid M, Elamrani A, Berahal C, Moussaid H, Bourhim N, Loutfi M, (2015). Étude chimique de l'extrait aqueux d'*Allium subvillosum* (L.) (Alliaceae) et l'évaluation de sa toxicité chez les souris. *Journal of Biological and Chemical Science*, 9(1): 534-541.

Alain K, Pascal A, Boniface Y, Paul T, Alain, Felicien A, (2015). Chemical characterization and biological activities of extracts from two plants (*Cissus quadrangularis* and *Acacia polyacantha*) used in veterinary medicine in Benin. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(6): 91-96.

Alghazeer R, El-Saltani H, Saleh N, Al-Najjar A, Habail F, (2012). Antioxidant and antimicrobial properties of five medicinal Libyan plants extracts. *Natural Science*, 4: 324-335.

Auger J, Boscher J, Lages B, Postaire E, Viel C, (2014). Différences et similitudes des composés secondaires chez deux espèces d'*Allium*: *Allium vineale* L. et *Allium ursinum* L. 139 : (1) 61-66.

Bagiu RV, Vlaicu B, Butnariu M, (2012). Chemical Composition and *in Vitro* Antifungal Activity Screening of the *Allium ursinum* L. (Liliaceae). *Journal of Molecular Sciences*, 13: 1426-1436.

Bakchich B, Gherib A, (2014). Activités antioxydant des polyphénols straits de plante medicinal de la pharmacopée traditionnel d'algerie. *International Journal of Innovation And Applied Stedies*. 9:167-172.

Balamanikandan T, Balaji S. et Pandiarajan J, (2015). Biological Synthesis of Silver Nanoparticles by Using Onion (*Allium cepa*) Extract and Their Antibacterial and Antifungal Activity. *World Applied Sciences Journal*, 33: 939-43.

Benmeddour T, Laouer H, Benabd A, (2015). Evaluation of antibacterial and antifungal activity of extracts from three species of the genus *Allium*: *Allium cepa*, *Allium fistulosum* and *Allium sativum* grown in agricultural area of doussen.19: 09-14.

Référence bibliographique

Bianchini F, et Vainio H, (2001). Allium Vegetables and Organosulfur Compounds: Do They Help Prevent Cancer. *Environmental Health Perspectives*, 109 : 893–902.

Birlouez E, (2016). Ail, oignon et autres Alliées : approche historique et culturelle. *Phytothérapie*, 14(3) : 141–148.

Błażewicz-Woźniak M, Michowska A, (2011). The growth, flowering and chemical Composition of leaves of three ecotypes of *Allium ursinum* l. *Acta agrobotanica*, 64 (4): 171-180.

Bouabbache N, khouchane D (2018). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de certaines plantes aliaceae. Mémoire de diplôme en master, Université A. MIRA – Bejaïa, Alger, 40p.

Bougandoura N, Bendimerad N, (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologi*, 14 -19.

Boursicaud P (2017). Identification, suivi et impact du vol de printemps de *Phytomyza gymnostoma* LOEW sur poireau, *Allium porrum*. Mémoire de diplôme en master, Université de Renne I, 1-3p.

Bousbia N (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de Docteur en Sciences, Université d'Avignon, Alger, 127p.

Bouyahya A, Abrini J, El-Baabou A, Bakri Y, Dakka N, (2016). Determination of Phenol Content and Antibacterial Activity of Five Medicinal Plants Ethanolic Extracts from North-West of Morocco. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 7(4): 7p.

Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Goran A, Igic R, (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food chemistry*, 925–929.

Référence bibliographique

Bradford, (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72 (1): 248-254.

Carotenuto A, Defeo V, Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, Cicala C, (1995). The flavonoids of *Allium ursinum*. *Phytochemistry*, 41: 531-536.

Cavallito C.J, Bailey J.H, (1944). Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. *Journal of the American Chemical Society*, 66:1950-1951.

Chaudhory B, Asad B, Sabih D, Ahmad I, Hussain M, Izhar N, Akmal N, Shahzad A, Hussain I, (2014). Anti-hemolytic property of local medicinal plant(s) upon pakistani cobra venom induced hemolysis. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 24(6): 1701-1708.

Chaudhuri S, Banerjee A, Basu K, Sengupta B, Sengupta P, (2007). Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihemolytic effects. *Bilobical Microbiological*, 41: 42–48.

Colin L (2016). L'ail et son interet en phytotherapie. Thèse de Docteur en Pharmacie, Université de lorraine, 47-113p.

Cronquist A (1981). An Integrated systeme of classification flowringplants. *American Jurnal Plant Sciences*, 248-250.

Derridj S, Boutin J, Fiala V, Soldaat L, (2013). Composition en métabolites primaires de la surface foliaire du poireau: étude comparative, incidence sur la sélection de la plante-hôte pour pondre par un insecte. *Acta Botanica Gallica*, 143 : 125-13.

Dif M, Benchiha H, Mehdadi Z , Benali-Toumi F, Benyahia M, Bouterfas K , (2015). Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie*, 1-6.

Djurdjevic L, Dinic A, Pavlovic P, Mitrovic M, Karadzic B, Tesevic V, (2003). Allelopathic potential of *Allium ursinum* L. *Elsevier*, 32: 533–544.

Référence bibliographique

Douiri F, Boughdad A, Assobhei O et al, (2013). Chemical composition and biological activity of *Allium sativum* essential oils against *Callosobruchus maculatus*. *Toxicology and Food Technology*, 30-36.

Fadil M, Farah A, Ihssane B, Haloui T, Rachiq S, (2015). Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodologie de surface de réponse. 6 : (8) 2346-2357.

Fattorusso E, Lanzotti V, Tagliabatella-Scafati O, Cicala C, (2001). The flavonoids of leek, *Allium porrum*. *Phytochemistry*, 57 : 565–569.

Fichaux M, (2016). L'ail un alicament qui a du piquant, *Phytothérapie*, 14:176-180.

Gatsing D, Aliyu R, Kuate J, Garba I, Jaryum K, Tchouanguép F, Adoga G, (2005). Toxicological evaluation of the aqueous extract of *Allium sativum* bulbs on laboratory mice and rats. *Journal of Experimental Biology*, 1(1): 39-45.

Ghesquiere C (2017). Les bienfaits de l'ail dans les maladies cardiovasculaires. Thèse de docteur en pharmacie, Université de Picardie Jules Verne, 30-91p.

Ghourri M, Zidane L, Douira A, (2014). La phytothérapie et l'infection urinaires au Sahara Marocain. *Journal Of Animal And Plant Sciences*, 20(3) :3171-3193.

Godevac D, Vujisic L, Mojovic M, Ignjatovic A, Spasojevic I, Vajs V, (2008). Evaluation of antioxidant capacity of *Allium ursinum* L. volatile oil and its effect on membrane fluidity. *Food chemistry*, 107:1692–1700.

Haddouchi F, Azzi R, Boucherit Z, Tefiani P, Larbat R, (2015). Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* Tarik Mohammed Chaouchea,c. *Industrial Crops and Products*, 64:182–187.

Référence bibliographique

Himed E (2015). Etude des activités antioxydants et antibactérienne des polyphénols d'*Allium triquetrum* L. en vue de leur application sur la sardine commune, Thèse de Docteur en Technologie Alimentaire Université Mentouri – Constantine, 62p.

Hirschegger P, Jakse J, Trontelj P, et al, (2010). Origins of *Allium ampeloprasum* horticultural groups and a molecular phylogeny of the section *Allium* (*Allium*: Alliaceae). 54(2) : 488–497.

Kalmouni C (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse du doctorat de l'université de Toulouse, Toulouse, (France), 63-192p.

Karić L, Vukašinić S, Znidarčič D, (2005). Response of leek (*Allium porrum* L.) to different levels of nitrogen dose under agro-climate conditions of Bosnia and Herzegovina. *Acta agriculturae Slovenica*, 219-226.

Khalili M, Ebrahimzadeh ZA, Safdari Y, (2014). Antihemolytic activity of thirty herbal extracts in mouse red blood cells, 65:399-406.

Kratchanov M, Nikolova M, Pavlova E, Yanakieva I, Kussovskib V, (2010). Composition and properties of biologically active pectic polysaccharides from leek (*Allium porrum*). *Wiley InterScience*, 90: 2046–2051.

Madaci B, Merghem R, Doumandji B, Soltani N, (2008). Effet du nerium oleander, laurier-rose, (apocynacees) sur le taux des proteines, l'activite de l'ache et les mouvements des vers blancs rhizotrogini, (coleoptera scarabaeidae). *Sciences et Technologies*, 148:405-411.

Mokrani A (2009). Etude Comparative du Pouvoir Antioxydant de Quelques Alliées. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires, Université Abderahmane Mira Bejaia, Algérie, 89p.

Moumen F (2016). Valorisation des plantes condimentaires cultivees et spontanees dans l'ouest algerien : cas du genre allium. Thèse de docteur en science de l'environnement, Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, Alger, 171p.

Référence bibliographique

Nabavi S, Nabavi M, Ebrahimzadeh MA, Eslami B, Jafari N, (2014). *In vitro* antioxidant and antihemolytic activities of hydroalcoholic extracts of *allium scabriscapum* boiss. & ky. Aerial parts and bulbs, *International Journal of Food Properties*, 16:713–722.

Najjaa H, Neffati M, Zouari S, Ammar A, (2007). Essential oil composition and antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum* L., a North African endemic species. *Science Direct*, 10 : 820-826.

Najjaa H, Zouari S, Arnault I , Auger J, Ammar A, Neffati, (2014). Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L, *Acta Botanica Gallica: Botany Letters*, 158 : 111-123.

Niko S, Radulović, Ana B, Miltojević, Milan B, Stojković, Polina D, Blagojević, (2015). New volatile sulfur-containing compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L., Liliaceae). *Food Research International*, 78 :1–10.

Osama A, Nemat A. Z, Yassin B, Siham M. A, El-Shenawy B, Mostafa A, Hanan M. AL-Shafeiy B, (2013). Study of the effect of *allium porrum* on hypertension induced in rats. 149-160.

Ouedraogo A, Koala M, Hema A, Ouattara1 P, Gnoula Ch, Pale A, Roger H, (2015). Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso. *Journal of biological and chemical sciences*, 9(1): 281-291.

Ouis M, (2008). Polymorphisme protéique chez *Atreplex halimus*.L sous régime salin et de déficit hydrique, Mémoire de Magistère en Physiologie Végétal, Université d'Oran Es Senia, 93P.

Pierron C (2014). Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs. Thèse de Docteur en Pharmacie, Université de lorraine, 20-120p.

Référence bibliographique

Poirot T (2016). Bon usage des huiles essentielles, Effets indésirables et Toxicologie. Thèse de docteur en pharmacie, Université de Lorraine, 11-61p.

Saffidine k, (2015). Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus L.* et de *Plantago major L.* Thèse Doctorat en Sciences microbiologique, Université Ferhat Abbas, 132p.

Sahnoun D, Megdiche ksouri W, Hammami M, Bettaieb I, saada M, Mkadmini K, Ksouri R, Beji serairi R, (2017). Antioxidant activity and biochemical composition of fresh bulbs and leaves of wild garlic *Allium ursinum*. *Journal of new sciences*, 44(2): 2392-2399.

Schmitt B, Schulz H, keusgen M, (2005). Chemical Characterization of *Allium ursinum L.* Depending on Harvesting Time. *Food chemistry*, 53: 7288-7294.

Slinkard K, Singleton VL, (1977). Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. 28:49-55.

Sobolewska D, Podolak I, Makowska J, (2013). *Allium ursinum* : botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochem*, 17p.

Štajner D, Popović B, Čanadanović-Brunet J, Štajner M, (2008). Antioxidant and scavenger activities of *Allium ursinum*. *Journal of fitoterapia*, 79: 303-305.

Thephinlap C, Pangjit K, Suttajit M, Srichairatanako S, (2013). Anti-oxidant properties and anti-hemolytic activity of *Psidium guajava*, *Pandanous odorus* and *Rhinacanthus nasutus*. *Journal of Medicinal Plant Research*, 7(25) : 1849-1857.

Tomsik A, Pavlic B, Vladic J, Ramic M, Brindza J, Vidovic S, (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum L.*). *Ultrasonic sonochemistry*, 29:502-511.

Référence bibliographique

Tramaterra P, Lanzotti V, (1999).The activity of some compounds extracts by *Allium* on stored-product insects *Oryzaephilus surinmensis* (L), *Sotiphilus oryzae* (L) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Science*, 72:122-125.

Vuorela S, Salminen M, Makela R, Kivikari M, Karonen M, Heinonon, (2005). Effect of plant phenolics on protein and lipid oxidation in cooked pork meat patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22): 8492-8497.

Wong, S.P, Leong, L.P, William Koh, J.H. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*. 99: 775-783.

Annexes

Annexes

Annexe 1 : liste du matériel et réactifs utilisés

A) Verrerie

- Becher 100mL, 200mL, 500mL, 5mL
- Erlenmeyer 250mL
- Eprouvette 100mL, 500mL
- Entonnoir
- Tube à essai
- Flacons
- Cuve de spectres

B) réactifs

- Carbonate de sodium
- Folin-ciocalteu
- Acide gallique
- Quercitrine
- Ethanol
- Aluminium chloride $AlCl_3$
- Eau distillée
- Tris HCL
- L'eau oxygénée H_2O_2
- Réactif de Bradford

C) Appareillage

- Bain marie
- Centrifugeuse
- Hotte chimique
- Spectromètre
- PH mètre

Annexe 2 : préparation du tampon tris/Hcl à 0,1 M

Faire dissoudre 0,6g de la poudre tris dans 50mL de l'eau distillée.

Annexes

Ajuster le pH de la solution qui est au départ basique (PH = 10, 8) par l'addition de solution HCl à 1 N jusqu'à PH = 7, 4.

Annexe 3 : Préparation du réactif de Bradford

Faire dissoudre 0,02g de bleu de coomassie G 250 dans 10mL de l'éthanol à 95% (l'obtention d'éthanol à 95% est effectuée par l'ajout de 2,03mL de l'eau distillée à 9,6 d'éthanol pur).

Ajouter 20mL de l'acide phosphorique à 85%. Puis, Compléter par l'eau distillée jusqu'à 200mL.

Annexe 4 : préparation de H₂O₂ à M

- M H₂O₂ = 34,0147 g/mol
- H₂O₂ (10v) : 3% = 3mL de H₂O₂ + 7mL de H₂O
- La densité de H₂O₂ = 145g /mol
- d = m/v
- m = d*v
- m = 145 * 3mL
- m = 4, 35g
- n = c*v
- c = n/v
- c = 0,278/ 3mL
- c = 12,78mol/L
- C₁*V₁ = C₂*V₂
- C₁ = 12,78M
- V₁ = X
- C₂ = 1M
- V₂ = 0,1 L
- V₁ = 1*0,1/12,78
- V₁ = 0,0078L = 7,8mL
- 7,8ml H₂O₂ + 100ml de H₂O

Annexes

Annexe 5: courbe d'étalonnage

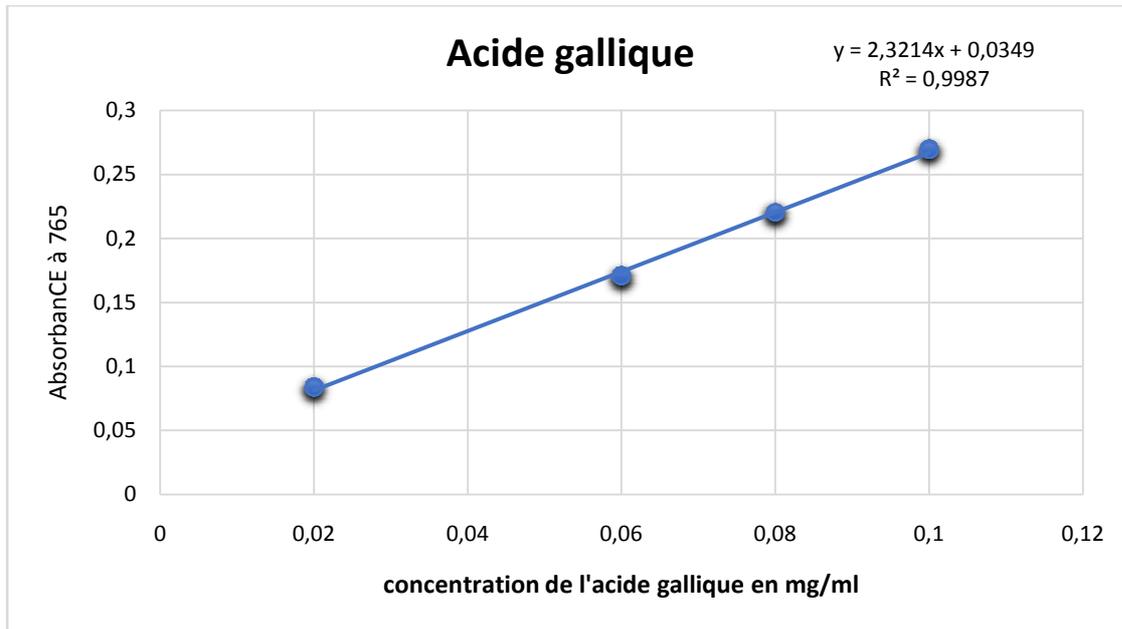


Figure 01 : Courbe d'étalonnage du standard acide gallique utilisé dans le dosage des polyphénols totaux.

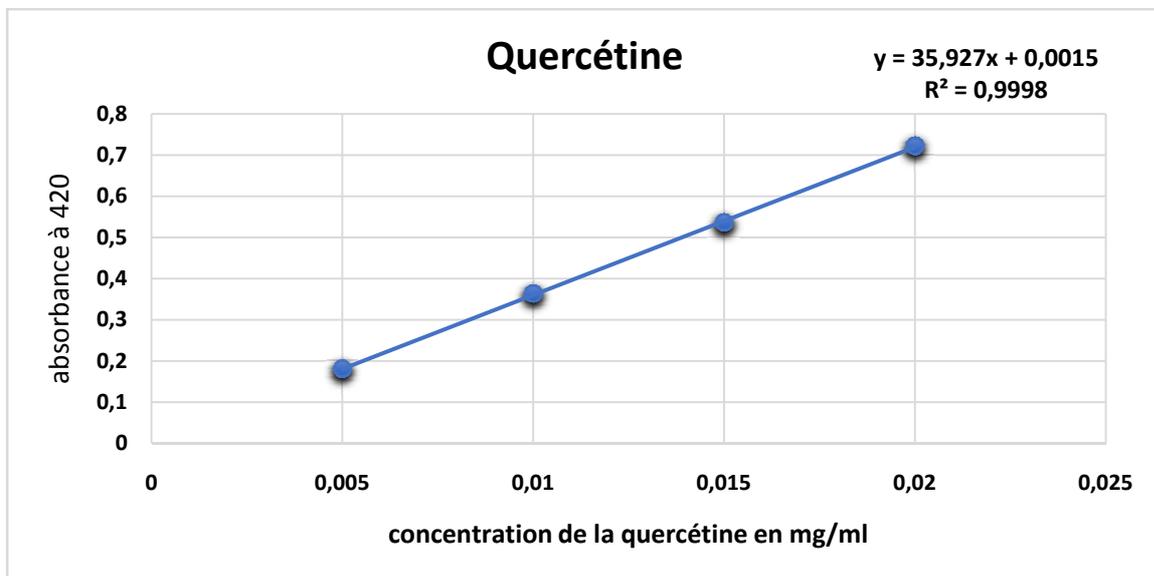


Figure 02 : Courbe d'étalonnage du standard Quercétine utilisé dans le dosage des flavonoïdes.

Annexes

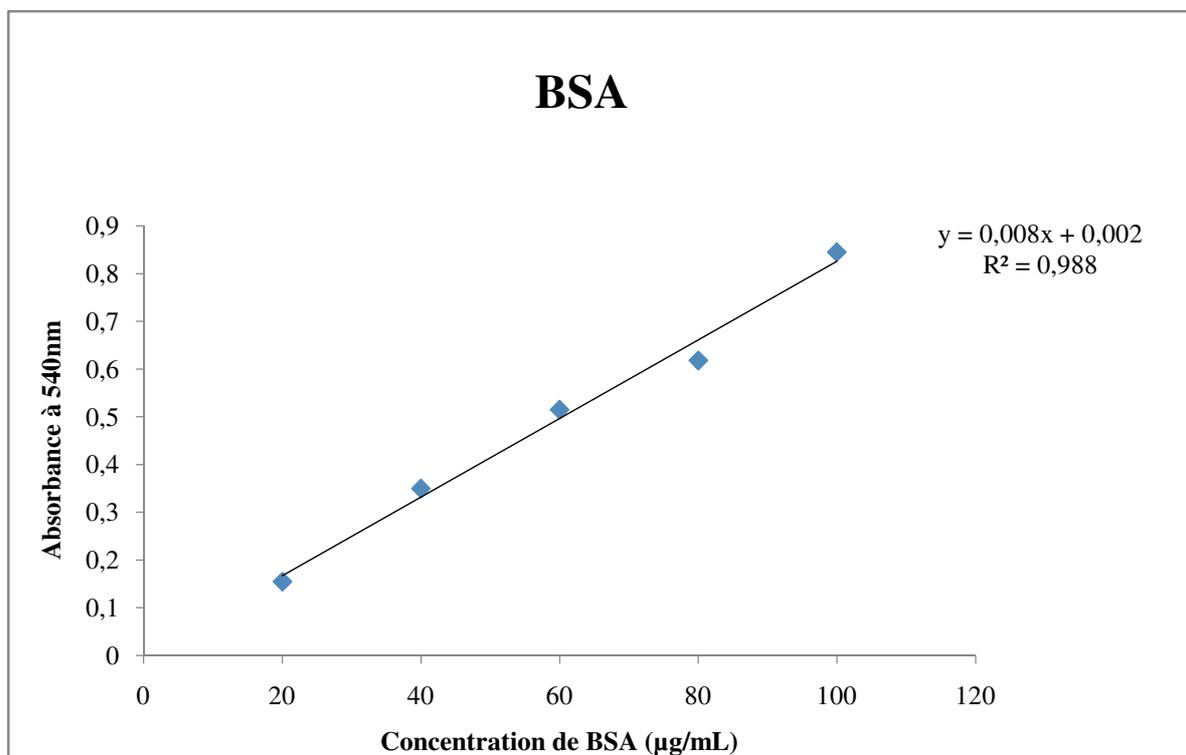


Figure 3 : courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines totales

Annexe 6 : Tableaux des pourcentages d'inhibition d'hémolyse

Les extraits	Pf	Pc	Ac	Af
% d'inhibition	76,44±9,44	54,41±5,43	46,57±4,89	91,64±9,11

Les extraits	Pf	Pc	Ac	Af
% d'inhibition	88,87±8,86	84,78±9,17	61,4±4,76	72,62±9,15

Les extraits	PA (ff)	A (fc)	PA (cc)	P (fc)	PA (fc)
% d'inhibition	64,99±4,73	80,17±5,25	26,25±3,79	46,15±6,64	74,05±8,67

Les extraits	PA (ff)	A (fc)	PA (cc)	P (fc)	PA (fc)
% d'inhibition	29,31±4,85	82,73±7,14	93,01±5,71	77,03±4,49	82,73±7,21

Les extraits	PA (ff)	A (fc)	PA (cc)	P (fc)	PA (fc)
% d'inhibition	42,37±8,78	75,96±9,74	59,40±9,74	45,19±4,91	94,94±6,04

Résultats et discussion

Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité anti-hémolytique des extraits aqueux préparés à partir des deux plantes : *Allium ursinum* (Au) et *Allium porrum* (Ap). L'analyse quantitative des polyphénols, des flavonoïdes et des protéines des extraits aqueux a montré que la teneur en composés phénoliques est de 0,19mg EAG/ml E pour les extraits de Ac et Pc, tandis que la teneur la plus élevée en flavonoïdes était celle de Af = 0,031 mg EQ/ml E et de Ac= 37,62 mg EBSA/ml E en protéines. Le pouvoir inhibiteur de l'hémolyse induite par l'H₂O₂ est remarqué dans les extraits Au à froid avec une activité importante (91%) par rapport au Au à chaud (46%) à 0,25ml et avec (88%) de poireau à froid à 0,5ml. En effet, la recherche d'un effet synergique entre les quatre extrais a montré que les extraits A (fc), PA (cc) et PA (fc) avaient montré les pourcentages d'inhibition : 82,73±7,14, 93,01±5,71, 82,73±7,21% respectivement avec 0,25ml Ap et 0,5ml Au ayant une meilleure activité anti-hémolytique.

Mots clés : *Allium ursinum*, *Allium porrum*, extraits aqueux, activité anti-hémolytique.

Abstract

The objective of this work is to evaluate the anti-hemolytic activity of the aqueous extracts prepared from the two plants: *Allium ursinum* and *Allium porrum*. The quantitative analysis of the polyphenols, flavonoids and proteins of the aqueous extracts shows that the content of phenolic compounds is 0.19 mg EAG / ml E for the Ac and Pc extracts, given that the highest content of flavonoids was Af = 0.031 mg EQ / ml E and Ac = 37.62 mg EBSA / ml E protein. The inhibitory power of H₂O₂-induced hemolysis is noted in cold Au extracts with a high activity (91%) compared to hot Au (46%) at 0.25ml and with (88%) leek cold to 0.5ml. Indeed, the search for a synergistic effect between the four extracts showed that the extracts A (fc), PA (cc) and PA (fc) have the inhibition values of : 82.73 ± 7.14, 93.01 ± 5.71, 82, 73 ± 7.21% respectively with 0.25ml Ap and 0.5ml Au having better anti-hemolytic activity.a

Key words: *Allium ursinum*, *Allium porrum*, aqueous extracts, anti-hemolytic activity.

المخلص

والهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للدم للمستخلصات المائية المحضرة من النباتين *Allium ursinum* و *Allium porrum*. يظهر التحليل الكمي للبوليفينول والفلافونويد والبروتينات في المستخلصات المائية أن محتوى ، بالنظر إلى أن أعلى محتوى للفلافونويد كان Pc و Ac لمستخلصات E مل / EAG المركبات الفينولية هو 0.19 ملغم لوحظت القوة المثبطة لتحلل الدم الناجم E. مل بروتين / EBSA ملغم Ac = 37.62 و E مل / EQ ملغم Af = 0.031 الساخن (46%) عند 0.25 مل ونسبة Au في المستخلصات الباردة ذات الفعالية العالية (91%) مقارنةً بالـ H₂O₂ عن A في الواقع، أظهر البحث عن تأثير تآزري بين المقتطفات الأربعة أن المستخلصات ml الكراث (88%) لتبرد إلى 0.5 (fc) ، PA (cc) و PA (fc): 82.73 ± 7.14 ، 93.01 ± 5.71 ، 82 ، 73 ± 7.21.25 ml Ap على التوالي مع 0.5 ml Au ولديها نشاط أفضل لمكافحة الانحلال 0.5 ml Au

الكلمات المفتاحية : ثوم، الدب الكراث ، البوليفينول ، الفلافونويد ، البروتينات ، النشاط المضاد لل انحلال ، المستخلصات المائية