



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Présenté par :

BOUTARENE Anissa & REMILI Adel

Thème

Soutenu le: / /2022

**Dosage des composés phénoliques de l'extrait aqueux de
Globularia alypum L et évaluation de son activité antioxydante.**

Devant le jury composé de :

| <i>Nom et Prénom</i> | <i>Grade</i> | | |
|----------------------|--------------|-----------------|-----------|
| REKAB DJABRI Hamza | MCA | Univ. de Bouira | Président |
| NOURI Allaoua | MAA | Univ. de Bouira | Promoteur |
| HAMDIS Nassim | MAA | Univ. de Bouira | Examineur |

Année Universitaire : 2021/2022

Résumé

Ce travail s'inscrit dans la cadre d'une contribution à la valorisation du règne végétale comme source de substances bioactives naturelles, pour découvrir de nouveaux composés d'intérêt thérapeutique. Dans cette étude, nous avons mené une enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales locales d'usage antidiabétique pour choisir les feuilles de l'espèce *Globularia alypum* L dont nous nous sommes intéressé à ses teneur en poly phénols, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les deux extraits aqueux obtenus par macération et par décoction ainsi qu'à l'étude de leurs l'activité antioxydante in vitro .

Les teneurs en poly phénols étaient de $125,51 \pm 1,31$ ug EAG/mg d'extrait sec en macération, et $140,87 \pm 01.52$ ug EAG/mg d'extrait sec en décoction. Tandis que les teneurs en flavonoïdes par macération et décoction sont respectivement 06.54 ± 0.04 ug Eq Q/mg d'extrait sec et 08.09 ± 0.79 ug Eq Q/ mg d'extrait sec. Le dosage des tanins condensés dans les extraits secs des feuilles de *Globularia alypum* L révèle des teneurs de l'ordre de 28.87 ± 1.85 ug Eq C/mg d'extrait sec obtenu par macération et de 36.12 ± 1.32 ug Eq C/ mg d'extrait sec obtenu par décoction. Les résultats de l'activité antioxydante déterminée par le test au DPPH ont montré un bon pouvoir antioxydant par rapport à l'antioxydant standard BHT ($IC_{50} = 0,8$ mg /ml). La meilleure inhibition a été enregistré pour l'extrait aqueux avec une valeur d' IC_{50} de $1,1$ mg /ml et $1,3$ mg /ml respectivement par macération et décoction.

Mots clés : Enquête ethnobotanique, *Globularia alypum* L, DPPH, activité antioxydante, substances bioactives, poly phénols, flavonoïdes, tanins, BHT.

Abstract

This work is part of a contribution to the enhancement of the plant kingdom as a source of natural bioactive substances, to discover new compounds of therapeutic interest. In this study, we carried out an ethnobotanical investigation on the local medicinal plants of antidiabetic use to choose the leaves of the species: *Globularia alypum* L of which we were interested in its content of polyphenols, flavonoids and condensed tannins in the two aqueous extracts obtained by maceration and by decoction as well as the study of their antioxidant activity in vitro.

The polyphenol contents were 125.51 ± 1.31 ug EAG/mg of dry extract in maceration, and 140.87 ± 01.52 ug EAG/mg of dry extract in decoction. While the flavonoid contents by maceration and decoction are respectively 06.54 ± 0.04 ug Eq Q/mg of dry extract and 08.09 ± 0.79 ug Eq Q/mg of dry extract. The dosage of condensed tannins in the dry extracts of the leaves of *Globularia alypum* L reveals contents of the order of 28.87 ± 1.85 ug Eq C/mg of dry extract obtained by maceration and 36.12 ± 1.32 ug Eq C/mg of dry extract obtained by decoction. The results of the antioxidant activity determined by the DPPH test showed good antioxidant power compared to the standard antioxidant BHT ($IC_{50} = 0.8$ mg / ml). The best inhibition was recorded for the aqueous extract with an IC_{50} value of 1.1 mg/ml and 1.3 mg/ml respectively by maceration and decoction.

Key words: Ethnobotanical investigation, *Globularia alypum* L, DPPH, antioxidant activity, bioactive substances, polyphenols, flavonoids, condensed tannins, BHT.

ملخص:

هذا العمل هو جزء من مساهمة في تعزيز المملكة النباتية كمصدر للمواد الطبيعية النشطة بيولوجيا ، لاكتشاف مركبات جديدة ذات أهمية علاجية. في هذه الدراسة ، أجرينا تحقيقاً عرقياً على النباتات الطبية المحلية ذات الاستخدام المضاد لمرض السكر لاختيار أوراق النوع : *Globularia alypum L* التي كنا مهتمين بمحتواها من البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف في المستخلصين المائيين اللذين تم الحصول عليهما بواسطة النقع والمغلي وكذلك دراسة نشاطها المضاد للأكسدة في المختبر.

كانت محتويات البوليفينول 125.51 ± 1.31 ميكروغرام مكافئ / مض الغاليك / ملغ من المستخلص الجاف في النقع ، و 140.87 ± 01.52 ميكروغرام مكافئ / مض الغاليك / ملغ من المستخلص الجاف في المغلي. في حين أن محتويات الفلافونويد بالنقع والمغلي هي على التوالي 06.54 ± 0.04 ميكروغرام مكافئ الكيرسيتين / ملغ من المستخلص الجاف و 08.09 ± 0.79 ميكروغرام مكافئ الكيرسيتين / ملغ من المستخلص الجاف. تكشف جرعة التانينات المكثفة في المستخلصات الجافة لأوراق *Globularia alypum L* عن محتويات بقيمة 28.87 ± 1.85 ميكروغرام مكافئ الكاتيشين / ملغ من المستخلص الجاف الناتج عن النقع و 36.12 ± 1.32 ميكروغرام مكافئ الكاتيشين / ملغ من المستخلص الجاف الذي تم الحصول عليه بواسطة المغلي . أظهرت نتائج نشاط مضادات الأكسدة التي ددتها اختبار DPPH قوة جيدة كمضاد للأكسدة مقارنة بمضادات الأكسدة القياسية (BHT (IC50 = 0.8. تم تسجيل أفضل تثبيط للمستخلص المائي بقيمة IC50 تبلغ 1.1 ملغ / مل و 1.3 ملغ / مل على التوالي عن طريق النقع و المغلي.

كلمات مفتاحية: تحقيق عرقي، المواد الطبيعية النشطة بيولوجيا ، البوليفينول ، الفلافونويد ، العفص المكثف ، النشاط المضاد للأكسدة، *Globularia alypum L* .



Remerciements

Au terme de ce travail nous tenons à remercier tout particulièrement:

Le Bon Dieu pour sa bienveillance,

Nous remercions chaleureusement les Membres du jury pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury, et pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Notre profonde gratitude va à notre promoteur Mr. NOURI A pour l'honneur qu'il nous a fait en nous encadrant, pour ses précieux conseils, orientations et la confiance placée en nous. Nous garderons surtout des souvenirs de ses qualités professionnelles et profondément humaines.

A la technicienne du laboratoire JOUAHRA MOUNIA et aux étudiants doctorants SABRINA et HAMZA pour nous avoir donné leur aide et soutien.

Nos remerciements les plus sincères et les plus chaleureux vont, également, à toutes les personnes qui ont cru en nous et qui nous ont aidé.

A tous ces gens là et à d'autres qui se reconnaîtrons pour nous avoir aidé : simplement merci.



Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail à :

Mes très chers parents, Mohammed et Hadda mon exemple de la réussite ; pour leur soutien, leur aide et surtout leur amour ; que Dieu vous protège et vous prête une longue et heureuse vie.

A ma chère Chaima et toute sa famille.

A mes très chères frères ; Djamel ; Ahmed ; Messaoud ; Hamza.

A mes adorables sœurs ; Houria ; Akila ; Hafida.

A mes grands parents.

A mes amis Sid Ahmed et Ahmed pour m'avoir beaucoup soutenu et encouragé.

A vous, dont le coeur est si plein de sympathie ; Sara ; Salsabil ; Ilyass ; Ikram ; Sohaib ; Amira ; Bilal ;

Imene ; Mohammed ; Iness ; Meriem ; Tassnim ; Samiha ; Sabrina ; Habiba ; Manel ; Aicha ; Douaa et tout les autres.

A mon camarade Anissa, ainsi qu'à toute sa famille.

A toute la promotion de Master en biotechnologie microbienne 2021-2022

ADEL





Dédicaces

J'ai l'honneur et l'immense plaisir de dédier ce travail si modeste a vous, lumière de ma vie, le plus beau don de dieu, avec vous je partage le plus sacré lien spirituel et affectif : mes parent que dieu vous garde.

A ma chère sœur Amina, a qui je tiens énormément pour ton grand cœur et ta générosité, que ce travail soit l'expression de mon grand attachement et ma gratitude pour tout moment de joie partagé ensemble, sache que je suis fière de toi, et que je t'aime et respecte énormément, je te souhaite une brillante réussite dans ta vie, une bonne santé et une vie inondée de bonheur

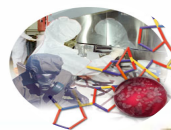
A toute la petite et la grande famille

A tous mes cousins et cousines

A tous mes amis

Je cite particulièrement mon cher binôme REMILI ADEL

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Anissa



LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|------------------------|--|
| BHA | Butylhydroxyanisole. |
| BHT | Dibutylhydroxytoluène. |
| DPPH | 1-1diphenyl 2 pyrcil hydrazyl. |
| EAG | Equivalent d'acide gallique. |
| E C | Equivalent de catéchine |
| E Q | Equivalent de quercétine |
| ERO | Espèces Réactives de l'Oxygène. |
| FCR | Reactif de Folin Ciocalteu |
| GC-MS | Chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse. |
| HPLC | Chromatographie liquide à haute performance. |
| IC₅₀ | Inhibitory concentration at 50 percent. |
| IP | Inhibition percentage. |
| MS | Matière sèche. |
| OMS | Organisation mondiale de la santé. |
| PP | Polyphenols. |
| PS | Poudre sèche. |
| RP-HPLC | Chromatographie liquide à haute performance en phase reverse. |
| SD | Ecart type |
| UV-visible | Ultra Violet-visible. |

LISTE DES FIGURES

| Figure | Titre | Page |
|--------|---|------|
| 01 | Structures de certains acides benzoïques (1). | 12 |
| 02 | Structures de certains acides benzoïques (2). | 13 |
| 03 | Structure de base des Flavonoïdes | 14 |
| 04 | Structure de tanin hydrolysable. | 15 |
| 05 | Structure de tanin condensé. | 15 |
| 06 | Structure des stilbenes. | 17 |
| 07 | La formation des radicaux libres. | 22 |
| 08 | <i>Globularia alypum</i> L. (Photographie originale prise le 10 Mars 2022 à la forêt de Bordj Okhriss, Bouira). | 26 |
| 09 | La classification de l'espèce <i>Globularia alypum</i> L. | 27 |
| 10 | Carte géographique de Bouira et de Bordj okhriss. | 29 |
| 11 | Photographie des Feuilles et fleurs de <i>Globularia alypum</i> L. | 30 |
| 12 | Protocole séquentiel de préparation du matériel végétal <i>Globularia alypum</i> L. | 31 |
| 13 | Protocole de préparation de l'extrait sec de la plante par macération. | 32 |
| 14 | Protocole de preparation de l'extrait sec par decoction. | 33 |
| 15 | Courbe d'étalonnage effectuée par l'acide gallique. | 34 |
| 16 | Courbe d'étalonnage effectuée par la quercétine. | 36 |
| 17 | Courbe d'étalonnage effectuée par la catéchine. | 37 |
| 18 | Réduction du radical DPPH•. | 38 |
| 19 | Répartition des espèces les plus utilisées par familles. | 46 |
| 20 | Répartition des modes de preparation des plantes médicinales antidiabétiques recensées. | 47 |
| 21 | Répartition des parties utilisées des plantes médicinales antidiabétiques. | 48 |
| 22 | Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de concentrations. | 53 |
| 23 | Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations en acide ascorbique(BHT). | 53 |
| 24 | Histogramme de comparaison des résultats des IC50 % du DPPH. | 54 |

LISTE DES TABLEAUX

| Tableau | Titre | Page |
|---------|---|------|
| 01 | Les principaux radicaux libres. | 23 |
| 02 | Liste des plantes antidiabétiques recensées dans la daïra de Bouira et de Bordj Okhriss. | 41 |
| 03 | Rendements en extraits secs par macération et par décoction des feuilles de <i>Globularia alypum</i> L. | 49 |
| 04 | Teneur en poly phénols d'extrait des feuilles de <i>Globularia alypum</i> L. | 50 |
| 05 | Teneur des flavonoïdes d'extrait des feuilles de <i>Globularia alypum</i> L. | 51 |
| 06 | Teneur en tanins condensés d'extrait des feuilles de <i>Globularia alypum</i> L. | 52 |

SOMMAIRE

| | |
|--------------------------|-----------|
| Introduction..... | 01 |
|--------------------------|-----------|

1 ère Partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Ethnobotanique et ethnopharmacologie

| | |
|--|-----------|
| 1. Ethnobotanique..... | 02 |
| 1.1. Historique..... | 03 |
| 1.2. Définition..... | 03 |
| 1.3. Intérêt ethnobotanique | 03 |
| 1.4 Objectifs de l'ethnobotanique | 04 |
| 2. Ethnopharmacologie..... | 04 |
| 2.1. Définition de l'ethnopharmacologie..... | 04 |
| 2.2. Intérêt de l'ethnopharmacologie | 05 |
| 2.3. Objectif de l'ethnopharmacologie..... | 05 |

Chapitre II. Les plantes médicinales

| | |
|---|-----------|
| 1. Généralités sur les plantes médicinales..... | 06 |
| 1.1. Historique..... | 06 |
| 1.2. Définition..... | 06 |
| 1.3. Définition de phytothérapie..... | 07 |
| 1.4. Les types de phytothérapie..... | 07 |
| 1.5. Définitions du principe actif | 08 |
| 1.6. Les domaines d'applications des plantes médicinales..... | 08 |
| 1.7. Les Substances actives d'origine végétale..... | 08 |
| 1.8. Modes de préparations et l'utilisation des plantes | 09 |

Chapitre III. Les métabolites secondaires

| | |
|---|-----------|
| 1. Généralités sur les métabolites secondaires..... | 10 |
| 2. Classification des métabolites secondaires | 10 |
| 2.1. Classification des composés phénoliques..... | 11 |
| 2.2. La biosynthèse des composés phénoliques..... | 17 |
| 2.3. Propriétés biologiques des poly phénols | 18 |
| 2.4. Le rôle des poly phénols..... | 19 |
| 3. Propriété pharmacologiques des métabolites secondaires..... | 20 |

Chapitre IV. Stress oxydatif

| | |
|---|----|
| 1. Le stress oxydant..... | 21 |
| 2. Les conséquences du stress oxydant..... | 21 |
| 3. Stress oxydant et diabète..... | 21 |
| 4. Définition du radical libre..... | 22 |
| 5. L'origine des radicaux libres..... | 23 |
| 6. Principaux radicaux libres..... | 24 |
| 7. Antioxydants..... | 24 |
| 8. Système de défense antioxydant..... | 24 |
| 9. Propriétés chimiques des antioxydants..... | 25 |
| 10. Utilisations des antioxydants..... | 25 |

Chapitre V. Description botanique de *Globularia alypum* L.

| | |
|---|----|
| 1. Description botanique de <i>Globularia alypum</i> L..... | 26 |
| 1.1. Présentation de la globulaire..... | 26 |
| 1.2. La classification botanique de : <i>Globularia alypum</i> L..... | 27 |
| 1.3. Origine de <i>Globularia alypum</i> | 27 |
| 1.4. Phytochimie et action pharmacologique..... | 27 |
| 1.5. Travaux antérieurs sur <i>Globularia alypum</i> L..... | 28 |

2ème Partie : Matériel et Méthodes

| | |
|--|----|
| 1. Le lieu d'étude..... | 29 |
| 2. Enquête ethnobotanique..... | 29 |
| 3. Description du matériel végétal : <i>Globularia alypum</i> L..... | 30 |
| 4. Préparation du matériel végétal..... | 31 |
| 4.1- Préparation des extraits de la plante <i>Globularia alypum</i> L..... | 32 |
| 4.2 Extraction des composés phénoliques..... | 32 |
| 5. Les produits chimiques utilisés..... | 34 |
| 6. Matériel et appareils utilisés..... | 34 |
| 7. Analyses quantitatives des composés phénoliques..... | 34 |
| 7.1. Dosage des poly phénols totaux par la méthode de Folin Ciocalteu..... | 34 |
| 7.2. Dosage des flavonoïdes..... | 36 |
| 7.3. Dosage des Tanins..... | 37 |
| 8. Mesure de l'activité antioxydante par la méthode au DPPH | 38 |
| 9. Analyse statistique | 39 |

03ème Partie : Résultats et discussion

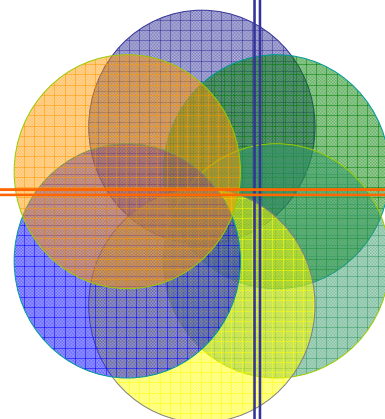
| | |
|---|----|
| 1.Étude ethnobotanique..... | 41 |
| 2. Le rendement en extrait sec..... | 48 |
| 3. Résultats de l'étude quantitative des composés phénoliques..... | 49 |
| 3.1. Résultats du dosage des poly phénols..... | 49 |
| 3.2. Résultats du dosage des flavonoïdes..... | 50 |
| 3.3. Résultats du dosage des tanins condensés..... | 51 |
| 4. Résultats de la mesure de l'activité antioxydante des extraits de <i>Globularia alypum</i> L.... | 52 |

| | |
|------------------------|-----------|
| Conclusion..... | 56 |
|------------------------|-----------|

Références bibliographiques.

Annexe.

INTRODUCTION



Introduction :

Dés l'antiquité, les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale ont toujours constitué une source importante d'agents thérapeutiques. L'Homme a été confronté à la maladie et a cherché à la soigner avec les moyens disponibles dans son environnement. C'est aussi la plus moderne car, depuis quelques décennies, la recherche médicale et pharmaceutique a prouvé, de manière rationnelle et scientifique, que les propriétés thérapeutiques des plantes sont assurées par une large gamme de composés qui font partie de leurs métabolites secondaires (**Jensen R., 2002**).

En effet, l'investigation des plantes représente un potentiel intéressant pour la découverte de nouvelles substances à effet thérapeutique contre plusieurs pathologies, si l'on considère que chacune de ces plantes peut contenir des centaines, voire des milliers de métabolites secondaires. (**Khaldi et al., 2012**).

Les composés phénoliques phytochimiques sont un des métabolites secondaires synthétisés par les plantes pour se protéger des contraintes biologiques et environnementaux. Ces composés constituent une partie importante de l'alimentation humaine et animale, ils possèdent également des activités pharmacologiques remarquables prouvées par de nombreuses études récentes (**Ozcan et al., 2014**).

Ils sont considérés en thérapeutique comme des agents préventifs de plusieurs maladies, parmi lesquelles celles associées au stress oxydatif, tel que le cancer et les maladies cardio vasculaires et aussi les désordres neurologiques (maladies d'Alzheimer et de Parkinson), diabètes et ischémie (**Valko et al., 2007**).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires d'origine végétale, leur activité antioxydante permet de protéger les tissus du corps contre le stress oxydatif, ils ont aussi d'autres activités ; antimutagéniques, antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antithrombotiques et vasodilatatrices (**Bourgou et al., 2008**).

Le présent travail est consacré à la valorisation phytochimique d'une plante spontanée locale à savoir *Globularia alypum* L. connue localement sous le nom de «**Tasselgha**», qui consiste à étudier ses extraits phénoliques. Le choix de cette plante est basé sur le fait que cette dernière est surtout reconnues en thérapeutique traditionnelle pour ses propriétés remarquables (traitement d' l'hypoglycémie, des maladies rhumatismales, gastriques et infectieuses, des maladies rénales et cardiovasculaires, de la goutte, de la

fièvre typhoïde et intermittente) (**Taghzouti et al., 2016**). Ces informations ont été obtenues par des entrevues ethnobotaniques avec des personnes de la région de Bouira.

Les principales parties de ce travail sont traitées selon le plan suivant : Dans une première partie, les bases bibliographiques, sur lesquelles s'est fondé le présent travail, qui sont exposées en cinq chapitres : Le premier sur l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie, le deuxième sur la valorisation des plantes médicinales, le troisième sur les métabolites secondaires et leurs propriétés pharmacologiques, le quatrième sur le stress oxydatif et le dernier est consacré à la description botanique de la plante étudiée.

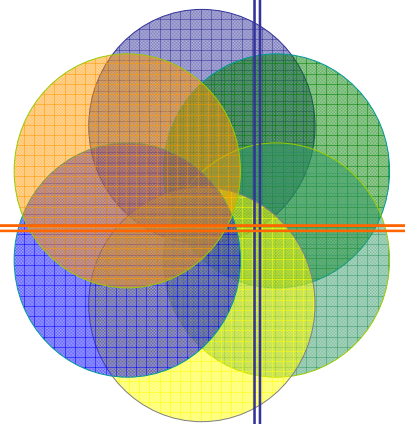
La deuxième partie, étant pratique, portera sur le travail de préparation du matériel végétal, et les méthodes de dosage des composés phénoliques et les tests de l'activité antioxydante ayant été réalisés. Et une troisième partie contenant la discussion de tous les résultats obtenus, en comparaison avec les études antécédentes pour les mettre en évidence.

Enfin, nous achèverons ce travail par une conclusion générale dans laquelle différentes perspectives de recherche seront évoquées, sur la base des résultats obtenus.

1ere Partie :Synthèse bibliographique



Chap 01 : Ethnobotanique et ethnopharmacologie



1. Ethnobotanique :

1.1 Historique :

Le concept d'ethnobotanique a été proposé pour la première fois par l'archéologue et botaniste français **ROCHEBRUNE** qui invente en 1879 l'ethnographie botanique (**Barreteau et al 1997**) Alor que, ce terme a été utilisé en **1895** par le botaniste américain **Harsheberg**, il désigne des vestiges botaniques trouvés dans les sites archéologiques. En **1940**, **Conkin** a considéré l'ethnobotanique comme l'une des catégories de l'ethnoscience, ou de la science des peuples (**Abdich et guergour ,2011**). Très vite ce concept apparue puis devenu évident, que les plantes jouaient et continuent à jouer un Rôle prépondérant pour la prospérité de nombreuses populations (**Malaisse., 2004**).

1.2- définitions :

Ethno : élément initial, peuple, ou race.

Botanique : est une discipline scientifiques qui s'intéresse a' l'étude des végétaux.

Ethnobotanique : c'est une discipline interprétative et associative qui recherche, utilise, lie et interprète les faits d'interrelations entre les sociétés humaines et plantes (**Portéres ,2016**).

Cette discipline s'intéresse a' l'utilisation des différents types de plantes médicinales par les populations humaines (**Litim ,2012**).

1.3. Intérêt ethnobotanique :

L'enquête ethnobotanique est le premier maillon d'un processus scientifique qui permet de passer de la connaissance traditionnelle de l'utilisation d'une plante à sa valorisation. La connaissance et la valorisation des plantes employées par les populations contribuent à la gestion durable des diversités floristiques locales. L'étude des connaissances traditionnelles est d'autant plus urgente que ces connaissances et pratiques s'érodent au fil des échanges culturels ou se perdent à jamais. L'ethnobotanique, en effet, est un domaine d'interface par excellence, puisque traitant de l'utilisation culturelle qui est faite des végétaux. (**Malan 2016**).

L'étude ethnobotanique ajoute des compléments d'informations ethnographiques comme les nom vernaculaire des plantes, la culture, la récolte, les utilisations possible et les modes de préparations (**Abdich et guergour ,2011**).

Les enquêtes ethnobotaniques ont permis de découvrir la plupart des métabolites secondaires des plantes employées dans la médecine moderne. De nombreux médicaments qui sont couramment utilisés aujourd'hui (comme l'aspirine, l'éphédrine, l'ergométrie, la digoxine, la réserpine, l'atropine...) sont issus de la médecine indigène en passant par des enquêtes bioscientifiques appropriées.

1.4. Objectifs de l'ethnobotanique :

Les objectifs des études ethnobotaniques peuvent être regroupés en trois axes majeurs selon (Malaisse ,2004) :

1. Documentation de base sur les connaissances botaniques traditionnelles.
2. Évaluations quantitatives de l'usage de la gestion des ressources végétales.
3. Estimations expérimentales de l'apport des plantes aussi bien en termes de subsistance qu'en termes de ressources financières. (Malaisse ,2004).

2. Ethnopharmacologie :

2.1. Définitions de l'ethnopharmacologie :

Ethno : élément initial, peuple, ou race.

Pharmacologie : c'est l'étude des interactions entre les substances actives de l'organisme est presque toujours lié à la toxicologie (Hordé, 2013).

L'Ethnopharmacologie : La définition actuelle de cette discipline nous est donnée par **Jacques Fleurantine** dans **Ethnopharmacologie : sources, méthodes et objectifs (1990)** : l'ethnopharmacologie est « l'étude interdisciplinaire de l'ensemble des matières d'origine végétale, animale ou minérale et des savoirs et pratiques s'y rattachant, que les cultures vernaculaires mettent en œuvre pour modifier les états des organismes vivants à des fins thérapeutiques, curatives, préventives et diagnostiques ». (Société Française d'Ethnopharmacologie, 1996).

2.2. Intérêt de l'ethnopharmacologie :

L'ethnopharmacologie établit une relation entre les savoirs ancestraux des médecines traditionnelles et les connaissances scientifiques actuelles. Elle est située à l'interface des sciences de l'homme, comme, l'histoire, la linguistique, l'ethnologie et les sciences de la vie, comme la pharmacognosie, la botanique, la pharmacologie, la toxicologie et la clinique. L'ethnopharmacologie respecte la tradition et s'ouvre résolument à l'innovation **(Holmstedt ,1983).**

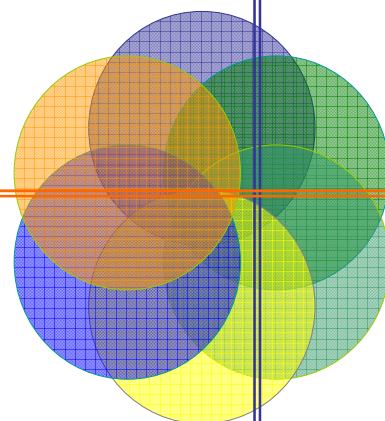
L'ethnopharmacologie tient une place importante dans le processus de découverte des médicaments. En effet, plus de la moitié des molécules issues du règne végétal et à l'origine de médicaments importants sont issues des pharmacopées et médecines traditionnelles **(Fleurentin, 2008).**

L'ethnopharmacologie peut ainsi permettre la découverte de nouvelles molécules actives pour l'industrie pharmaceutique. De nombreux principes actifs employés à l'heure actuelle dans notre médecine moderne sont issus des connaissances thérapeutiques traditionnelles, soit des antalgiques (morphine, aspirine), des anticancéreux (vincristine, vinblastine, taxol), des psychotropes (réserpine, Mescaline), des antipaludéens (quinine, artémisinine) ou encore des toniques et des stimulants cardiaques (digitaline, quinidine) **(Farnsworth et al, 1985).**

2.3. Objectif de l'ethnopharmacologie :

L'ethnopharmacologie a pour objectif de valider scientifiquement l'utilisation des remèdes traditionnels en particulier celles des plantes médicinales. Elle permet aussi le recensement et la compréhension des savoirs sur les pratiques d'une communauté par rapport à une maladie. L'ethnopharmacologie pourrait ainsi contribuer à l'avènement de solutions alternatives durables aux problèmes sanitaires des populations des pays en voie de développement. **(Sanogo et al ,2012).**

Chap 02 : Plantes médicinales



I. Généralités sur les plantes médicinales :

1.1. Historique :

Le premier texte sur la médecine par les plantes a été gravé sur des plaques d'argile par les sumériens. L'histoire de la phytothérapie est liée à celle de l'humanité, car dans toutes les cultures on a toujours compté sur les valeurs curatives des plantes pour soigner et guérir les hommes. **(Beloude A., 2001).**

Depuis des milliers d'années, l'Homme a su exploiter les richesses naturelles se trouvant autour de lui pour se protéger, se nourrir et se soigner ...etc. , c'est en consommant des fruits, des herbes et des feuilles et en observant leurs effets **(Paul iserin ;2001).**

Les végétaux ont toujours été employés par l'Homme pour se soigner. Certaines plantes médicinales sont ainsi identifiées depuis l'Antiquité. C'est le cas notamment du Pavot, dont les substances actives atténuent la toux, la douleur et favorisent le sommeil. A l'époque grecque, Claude Galien étudie ainsi les plantes médicinales, d'où le nom de « **pharmacie galénique** ». À la Renaissance, le médecin **Paracelse** et divers botanistes font progresser les connaissances sur les plantes. Répertoriées par genres et classées, elles font l'objet de la création de nombreux jardins botaniques, d'autant que les grandes découvertes maritimes favorisent la découverte et l'échange de plantes exotiques.

C'est au XIX^e siècle que les chimistes découvrent les principes actifs de nombreuses plantes. D'abord naît la chimie dite d'extraction, qui permet d'obtenir ces principes actifs issus des plantes, puis la chimie de synthèse qui vise à reproduire, à reconstituer ces principes végétaux en prenant modèle sur la plante **(Quintin et al. 2006).**

1.2. Définition :

Les plantes médicinales appelées (les simples), sont la plus ancienne forme de médecine connues depuis la nuit des temps et utilisées à des fins multiples **(Beloude A, 2001).**

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties peut être employée dans le but de se soigner.

Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, et qui présentent des effets thérapeutiques différents. Exemples : l'absinthe (troubles de la digestion); le lin (constipation). Selon l'OMS, plus de 20000 plantes utilisées dans le monde pour ses propriétés médicinales, seulement 2000 à 3000 plantes ont été étudiées au niveau scientifique.

1.3. Définition de la Phytothérapie :

La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits des plantes et les principes actifs naturels. (Sebai M., Boudali M., 2012).

Le mot «**phytothérapie**» se compose étymologiquement de deux racines grecques : PHUTON et THERAPEIA qui signifient respectivement : plante et traitement.

La phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe. (Wichth, 2003).

1.4. Les types de phytothérapie :

1-phytothérapie traditionnelle : C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. (Prescrire, 2007). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé : « La médecine traditionnelle est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent, rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales (Xiaorui, 2000).

2- phytothérapie clinique :

C'est une approche globale du patient et de son environnement et nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet .son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif. (Moreau, 2003)

La phytothérapie clinique s'appuierait sur des connaissances biochimiques , cherchant à soulager des symptômes grâce à des principes actifs identifiés, testés cliniquement et contenus dans les plantes médicinales (Sophia jortie, 2015).

1.5. Définition du principe actif :

Les principes actifs : les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante ; ils lui confèrent son activité thérapeutique, ils sont trouvés dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. (**Samia aoudahi, 2015**).

C'est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'Homme ou l'animal, et contenue dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale (**Pelt, 1980**).

1.6. Les domaines d'applications des plantes médicinales :

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés, et dans une grande mesure, les métabolites secondaires se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse (**Bahorun, 1997**).

1-fabrications des produits cosmétiques :

D'après **Borris (1996)** et **Hamitouch(2007)**, les produits cosmétiques, tels que le savon de toilette, crèmes, aérosols et solutions désodorisantes sont issus du savoir traditionnel de la phytothérapie (**Hamitouch, 2007**).

2-Fabrications des produits médicaux :

Selon l'organisation mondiale de la santé, les médicaments à base de plantes sont des produits médicaux finis qui contiennent comme principes actifs exclusivement des plantes, d'autres matières végétales ou des associations de plantes, à l'état brut ou sous forme de préparations (**Zhang, 2000**).

1.7. Les Substances actives d'origine végétale :

Elles sont présentes à faible dose dans les plantes et peuvent jouer un rôle dans la défense contre les bactéries, dont ; Les alcaloïdes, qui sont des substances azotées, les hétérosides, qui sont des substances glucidiques composées d'un ou plusieurs sucres, et d'une partie non glucidique : Des phénols, des alcools..., les huiles essentielles représentant des mélanges odorants et volatiles (**Quintin et al., 2006**).

Les métabolites primaires tels que les acides α -aminés, les hydrates de carbone, les lipides, les protéines et les acides nucléiques sont tous essentiels pour la croissance et la survie de la plante et représentent environ 90 % de la matière biologique rencontrée au niveau de la plante (**Kintzios et Barberaki, 2004**).

Les métabolites secondaires représentent une source importante de substances intéressantes pour l'Homme. Leurs applications concernent des domaines aussi variés que les principes actifs pharmaceutiques, les produits cosmétiques et les additifs alimentaires (**Croteau et al., 2000**).

1.8. Modes de préparations et l'utilisation des plantes :

Infusion :

Elle se fait généralement avec les fleurs et les feuilles des plantes, une infusion peut se conserver au réfrigérateur pendant 48 heures maximum. En principe, il est préférable de ne pas sucrer les tisanes. (**Anne-Sophie Nogaret-Ehrhart, 2003**).

Décoction : C'est une méthode utilisée pour les parties dures de la plante (tige, écorce, et racines). (Les tisanes).

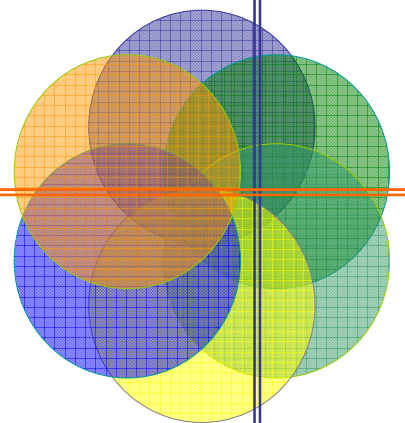
Cataplasme :

C'est le même principe que pour les compresses, à la différence que ce sont ici les herbes qui sont directement utilisées, et non pas une infusion. Les plantes sont hachées grossièrement, puis mises à chauffer dans une casserole, recouvertes d'un peu d'eau, puis laissez frémir deux à trois minutes (**Anne-Sophie Nogaret-Ehrhart, 2003**).

Macérations :

Cette méthode est particulièrement indiquée pour les plantes riches en huiles essentielles pour profiter pleinement des vitamines et minéraux qu'elles contiennent (**Benhamza ,louiza 2008**).

Chap 03 : Métabolites secondaires



1. Généralités sur les métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires ont une répartition limitée dans les différentes espèces des végétaux. Ils ont des fonctions très importantes pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent, comme signaux chimiques, pour défendre leur producteur contre les herbivores et les pathogènes. Comme ils participent à des réponses allopathiques (**Jean et al ; 2005**).

Les métabolites secondaires des végétaux constituent une classe extrêmement large de substances naturelles qui interviennent de façon déterminante dans l'adaptation des plantes à leur environnement. Outre leurs implications dans le fonctionnement des végétaux, ces molécules représentent une source importante de substances intéressantes pour l'Homme. Leurs applications concernent des domaines aussi variés que les principes actifs pharmaceutiques, les produits cosmétiques et les additifs alimentaires (**Croteau et al, 2000**).

2. Classification des métabolites secondaires :

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : Les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune des classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (**Krithi, 2003**).

1. Les terpénoïdes :

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons et même les animaux. Ils résultent de l'enchaînement de plusieurs unités isopréniques (**Bhat, nagasampigi et sivakumar ; 2005**).

Les terpènes sont des constituants habituels des cellules végétales, ils constituent entre autre le principe odoriférant des végétaux (**Klaas et al, 2002**).

Terpénoïde est un terme plus générique utilisé pour indiquer qu'une substance possède le squelette carboné des terpènes, mais pas nécessairement leur degré d'insaturation, tout en ayant éventuellement un, ou plusieurs, groupes fonctionnels contenant de l'oxygène (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone etc.) (**Christianson, 2008**).

2. Les alcaloïdes :

Au début du XIX^{ème} siècle, la notion d'alcaloïdes est inventée à partir du mot "alcali" qui signifie "base" et le suffixe "oïde" synonyme de « comme ». (**Aniszewski, 2015**).

Les alcaloïdes appartiennent à un groupe de métabolites secondaires qui sont souvent synthétisés à partir d'acides aminés et contiennent un ou plusieurs atomes d'azote comme constituants des hétérocycles. Ils sont issus principalement des végétaux. Ils présentent des réactions communes de précipitation. (Kansole, 2009).

3. Composés phénoliques :

Le terme poly phénols est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisations pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux (Fleuriet et al, 2005).

Les poly phénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et anderiansitohaina 2002).

L'élément structurale fondamentale qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzoïque au quelle est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneto, 1999).

2.1. Classification des composés phénoliques :

Structuralement, les composés phénoliques ont une structure chimique identique : un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Ceux-ci permettent aux composés phénoliques simples de se polymériser en phénols complexes ou polymérisés. Ils peuvent être regroupés en plusieurs catégories qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base, puis par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation etc.) et enfin par les liaisons possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides généralement) (Bragazza et Freeman., 2007).

2.1.1 .Acides phénoliques et phénols simples :

Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédants au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. (bruneton, 2009).

Les acides phénoliques sont rares dans la nature. Ces composés sont formés de deux catégories : la première catégorie contient les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque qui par monohydroxylation et/ou polyhydroxylation forme des acides phénoliques et des acides polyphénoliques respectivement l'acide gallique et l'acide protocatéchique. La deuxième catégorie

regroupe les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique. De même avec l'acide cinnamique, l'hydroxylation conduit à l'acide *p*-coumarique et à l'acide caféique (Haslam, 1994).

2.1.1.1. Acides hydroxybenzoïques :

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de C₆-C₁. Ils sont particulièrement représentés chez les Gymnospermes et les Angiospermes d'où ils sont souvent libérés après hydrolyse alcaline ou enzymatique. Ils sont souvent présents sous formes d'esters ou de glycosides (Macheix., 2005).

Les acides benzoïques sont largement répandus dans les plantes, ils sont subdivisés en trois catégories :

- **Acide monohydroxylé**: exemple de l'acide *p*-hydroxybenzoïque ;
- **Acides dihydroxylés**: exemple de l'acide vanillique ;
- **Acides trihydroxylés**: exemple de l'acide syringique (Ribereau- Gayon, 1968).

La figure 01 donne les structures de certains acides benzoïques.

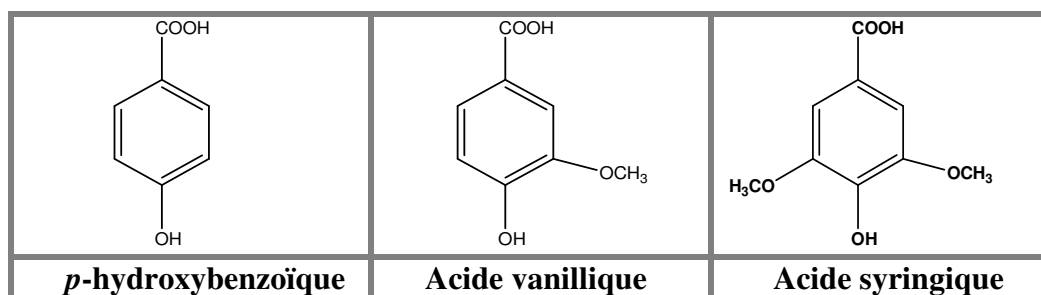


Figure 01 : Structures de certains acides benzoïques (1) (Ribereau- Gayon, 1968).

2.1.1.2. Acides hydroxycinnamiques :

Dérivés de l'acide cinnamique, ils ont une structure avec un cycle aromatique associé à trois carbones C₆- C₃, souvent estérifiés, parmi les acides connus, citons à titre d'exemples : l'acide *p*-coumarique, l'acide caféique, l'acide ferulique. Ils sont au nombre de quatre, acide *p*-coumarique, acide caféique, acide férulique et acide sinapique (figure 02) (Ribereau- Gayon, 1968).

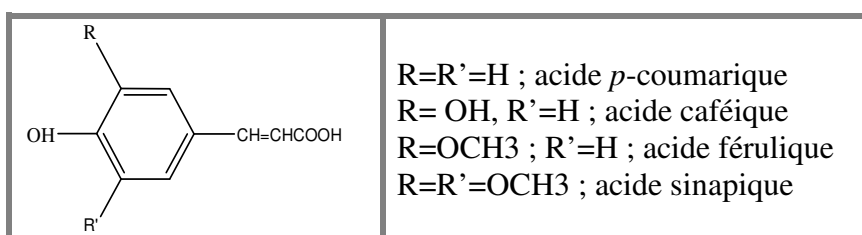


Figure 02 : Structures de certains acides benzoïques (2) (Ribereau- Gayon, 1968).

2.1.1.3. Phénols simples :

Les phénols simples sont des molécules aromatiques avec un groupe hydroxyle OH lié au carbone benzénique. Les phénols les plus simples sont des structures en C6 constituées d'un cycle aromatique avec des groupes hydroxyles attachés, comme les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois, qui ont été montré pour sa toxicité vis-à-vis des microorganismes (Cowan., 1999).

2.1.2. Flavonoïdes :

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. avec plus de 8000 composés différents et distribués de manière générale, dans les différents tissus des plantes vasculaires comme les fleurs, les fruits, les racines, les tiges et les feuilles où ils jouent un rôle très important comme pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux (Ghedira., 2005).

Ce sont des métabolites secondaire qui partagent tous la même structure de base nommée flavane (Piquemal,2008).

L'expression des flavonoïdes a été introduite en 1952 par **Geissman et Hinreiner** pour designer les pigments ayant un squelette (C6-C3-C6) provenant du mot latin flavus qui signifie jaune (Bouakaz, 2006).

Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme liée à des oses et autres substances, dites hétérosides (Heller et forkmann,1993).

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (Bamforth ,1999).

Il existe dans chaque sous-classe de nombreux composés selon les substitutions des cycles aromatiques. la plupart des flavonoïdes sont glycosylés, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau (Crozier et al ,2009).

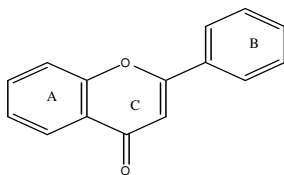


Figure 03 : Structure de base des Flavonoïdes (Erlund, 2002).

2.1.3. Les tanins :

Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés phénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines, d'où leur capacité à tanner la peau (Manach et al, 2004). Les tannins représentent une classe très importante de poly phénols localisés dans les vacuoles (Aguilera et al ,2008).

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les fagacées, les rosacée. (Ghestem,et al 2001)

Les tanins sont des composées phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500et 3000 dalton (Peronny, 2005)

Sur le plan structural, les tannins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (Monteiro et al, 2007).

1. Tanins hydrolysables :

Ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique (Cheng et al, 2007 ; Monties et al, 1969). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (Nagata et al, 1992).

Ce sont des esters d'un sucre (glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol. Ces tanins sont de deux types : les tanins galliques qui sont les esters d'oses (glucose) et acide gallique ; et les tanins éllagiques qui sont des esters d'oses et d'acide éllagiques (Atefeibu, 2002 ; Asres et al ., 2005).

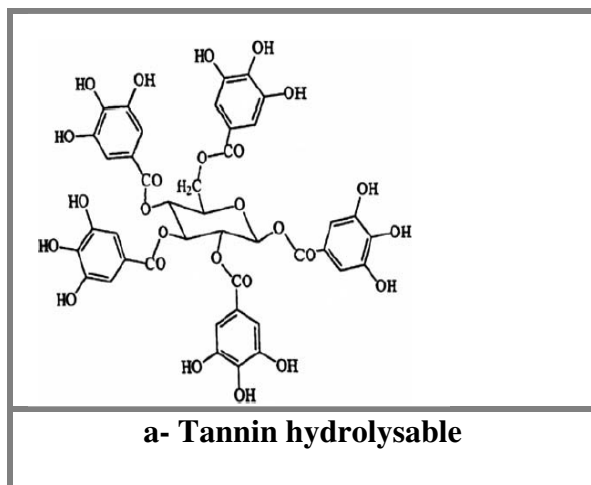


Figure 04 : Structure de tanin hydrolysable.

2. Tanins condensés :

Les tannins condensés ou les pro anthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavanes reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (**Monties et al, 1969**). Les tannins condensés sont des molécules non hydrolysables caractérisées par l'absence de sucre (**Paris M et Hurabielle., 1981**).

Ces tannins ne renferment pas de sucres dans leurs molécules. Ils ne sont pas hydrolysés par les acides comme c'est le cas des tannins hydrolysables. Ils se transforment en présence d'acides forts ou d'agents d'oxydation en substances rouges qui sont les phlobaphènes (**Ngom, 2000**). Les tannins condensés donnent une structure hérissée du groupement hydroxyle OH du composé phénolique pour former des liaisons avec les protéines (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

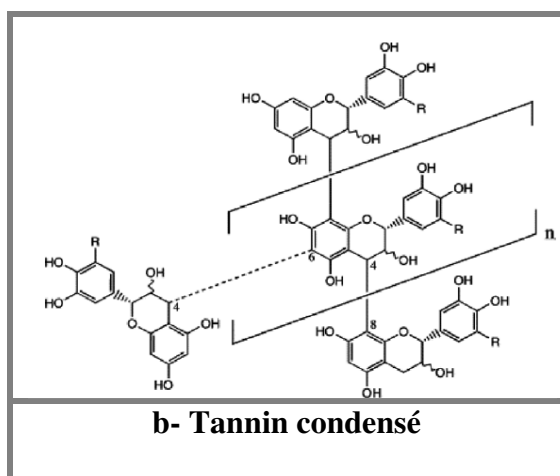


Figure 05 : Structure de tanin condensé.

2.1.4. Lignanes et lignines :

Les lignanes constituent une classe importante de substances naturelles dans le règne végétale. Ces composés contribuent à former avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques la paroi des cellules végétales. Ils jouent un rôle important dans le soutien structurel des plantes. Il s'agit du deuxième polymère le plus abondant dans la nature, après la cellulose. Ce sont des dimères ramifiés de phénylpropènes (C6-C3), qui sont formés par la condensation de trois types d'alcools : l'alcool p-coumarique, l'alcool coniférique et l'alcool sinapique (Nkhili., 2009). La polymérisation de ces trois alcools conduit à la formation de la lignine.

Les lignines sont des polymères principaux composants du bois avec la cellulose et l'hémicellulose, leurs principales fonctions sont d'apporter de la rigidité, une imperméabilité à l'eau et une grande résistance à la décomposition (Martone et al, 2009).

Ils sont constitués de deux unités de phénylpropane et entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes, fortement plus concentrés dans les graines de lins (El Gharras, 2009). Quatre groupes peuvent être considérés : les lignanes (liaison entre deux carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du phénylpropane), les néolignanes (un seul carbone β est en jeu), les "oligomères", (condensation de 2 à 5 unités phénylpropaniques) et enfin les norlignanes avec un squelette en C17.

2.1.5. Coumarines :

Les coumarines sont des dérivés de C6-C3, caractérisées par une structure qui comporte un noyau benzo- α -pyrone et fréquemment sont hydroxylées. On les retrouve dans la nature soit à l'état libre, soit combinés à des sucres. Ces composés constituent une classe importante de produits naturels et dégagent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. Les familles les plus riches en coumarines sont : les légumineuses, les crucifères, les apiacées et les thymelacées. Elles sont présentes dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les graines (Cowan., 1999).

2.1.6. Les stilbenes :

Ces composés sont en très petite quantité dans notre alimentation. Le plus connu d'entre eux est le resveratrol qui a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses mises en évidence lors de l'étude des activités biologiques des plantes médicinales (Kundu, 2008).

Ces dérivés hydroxylés sont des composés phénoliques dérivés de l'acide hydroxycinnamique dont le squelette de base est constitué de deux noyaux aromatiques liés par un groupe éthylénique C6-C2-C6. Ce sont des phytoalexines, composés diversifiés de phénols de défense naturels, produits par les plantes et abondants dans les raisins, les baies et les déchets d'écorce de conifère, le soja et les arachides. Le resvératrol est l'un des stilbenes les plus connus se trouve dans le raisin et le vin (Cornwell et al, 2004).

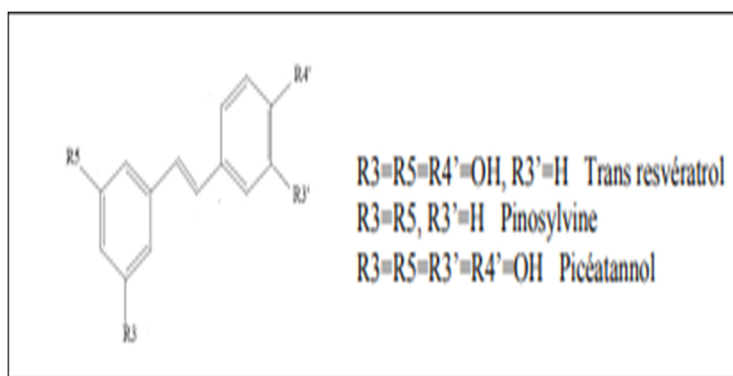


Figure 06 : Structure des stilbenes (Parage, 2013)

2.2. La biosynthèse des composés phénoliques :

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse :

1. voie de synthèse du Shikimate :

La voie de synthèse du Shikimate des plantes supérieures se déroule complètement dans les chloroplastes (Richter, 1993) conduit des oses aux amino-acides aromatiques (phe, tyr, et trp) puis par désamination de ces derniers aux acides cinnamiques et à de très nombreux dérivés : acides benzoïques, acétophénonnes, lignanes, et lignines, etc... (Brunton, 2009).

Cette voie débute par la condensation d'un érythrose-4-phosphate et d'un phosphoénolpyruvate pour former un composé hétérocyclique à sept carbones, le -désoxy-d-arabino-heptuloronate-7-phosphate (dahp) qui après déphosphorilations, déhydratations et réductions, donne du shikimate. une série de réactions assure ensuite l'accrochage d'une chaîne latérale et la création

d'une double liaison sur le cycle, d'où le chorismate. toutes ces réactions, dont certaines exigent de l'ATP, sont catalysées par des syntases (Heller et al., 2004).

2. Voie de poly acétate :

D'après (Guignard, 2000), cette voie intervient dans la formation d'un second noyau benzénique chez les végétaux supérieurs pour de nombreux composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie de Shikimate : Ce sont les composés mixtes dont les représentants les plus importants sont les flavonoïdes.

2.3. Propriétés biologiques des poly phénols :

1-activité antioxydante : les flavonoïdes ,peuvent empêcher les dommages oxydatifs par différent mécanismes d'actions :soit par capture de radicaux hydroxyles,superoxydes et peroxydes (Hodek et al ., 2002) ;soit par chélation des métaux qui sont d'importance majeur dans l'initiation des réactions radicalaires :soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (Van Acker et al., 1996 ;Benavente-Garcia et al ., 1997).

2- activité antimicrobienne : les poly phénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont très connus par leur toxicité vis-à -vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

3-Des études plus récentes ont montré que les polyphénols présentent une **activité antibactérienne** importante (Ferrazzano et al, 2011). Ces composés agissent par deux mécanismes d'actions : un premier consiste à l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique dans les bactéries (Wu et al, 2013) et un deuxième provoquant l'endommagement des membranes cellulaires des bactéries (Tsuchiya et Linuma, 2000).

4-D'autres études ont montré que les flavonoïdes présentent des effets protecteurs vasculaires. Ils agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme d'activité vitaminique (Berg et Daniel, 1988). Cette activité intervient dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale (Shih et al, 2004 ; Youdim et al, 2002).

5-effet cardiovasculaire : De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires (Manach et al, 2005) .le mécanismes d'action des polyphénols impliqué dans la prévention de ce type de pathologies, incluent l'inhibitions de l'oxydation des LDL, l'inhibition de l'agrégation des plaquettes et l'inhibition de la formations de cellule spumeuses dans les aortes (Scalbert et al, 2005).

6- vieillissement : les laboratoires du cosmétique s'intéressent de près aux polyphénols et les incorporent dans leurs crèmes anti-âge .En effet, les polyphénols agissant directement contre le

vieillissement de la peau ; ils luttent contre les radicaux libres et donc ralentissent le vieillissement cellulaire (**Guillard, 2011**).

2.4. Le rôle des poly phénols :

1. Chez les végétaux :

Les poly phénols constituent un groupe important de substances naturelles largement répandues et synthétisées par l'ensemble des végétaux. Ces molécules jouent un rôle majeur dans la croissance des végétaux et participent aux réactions de défense contre divers stress biotiques (pathogènes tels que moisissures, champignons et bactéries, blessures, symbioses) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences).Ils contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) et à la formation de polymères structuraux comme la lignine constituant la rigidité du bois. Certains d'entre eux sont des répulsifs qui inhibent la croissance d'autres espèces. (**Ghnimi., 2015**).

Les poly phénols sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme, la germination des graines et la maturation des fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Les poly phénols ont également un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plante interagissant avec déverses hormones végétales de croissance .ils permettent aux végétaux de défendre contre les rayons ultraviolets. Certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols (**Makoi et Ndakidemi ,2007**).

2. Chez les humains :

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies par leurs effets bénéfiques sur la santé. De nombreuses études épidémiologiques ont montré l'effet protecteur des polyphénols dans les fruits et légumes contre les maladies dégénératives en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (**Fettah., 2019**).

En outre, des études ont montré que les composés phénoliques ont des activités antivirales, anti-inflammatoires, anti-tumorales et ont un rôle bénéfique dans la prévention des cancers et des maladies cardiovasculaires. Ces composés sont réputés aussi pour leur capacité de moduler l'activité d'un grand nombre d'enzymes et de certains récepteurs cellulaires (**Shi et al., 2003**).

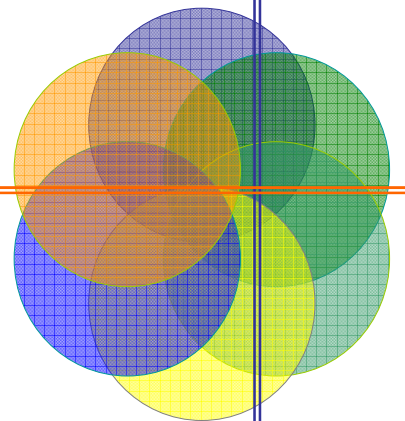
3. Propriété pharmacologiques des métabolites secondaires :

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés

-Au niveau de système nerveux central qu'ils soient dépresseurs (morphine, scopolamine)

-Au niveau de système nerveux autonome : sympathomimétiques, inhibiteur des cholinestérases (**Brunton, 2009**).

Chap 04 : stress oxydant



1. Le stress oxydant :

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des *Espèces Réactives de l'Oxygène* (ERO) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003). Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire. Le stress oxydatif est un fonctionnement de l'organisme qui est normal tant qu'il ne dépasse pas certaine limite et devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas des ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer. (Morel et Barouki, 1999).

2. Les conséquences du stress oxydant :

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défense antioxydant, que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution de la défense antioxydante, ce qui résulte en l'accumulation de radicaux libres causant des dommages oxydatifs aux macromolécules du tissu hôte (Wassmann *et al.*, 2004). Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront l'oxydation des protéines, l'ADN et les membranes des cellules, une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. (Favier, 2003).

3. Stress oxydant et diabète :

Le stress oxydant est l'un des acteurs de la physiopathologie du diabète de type 2 (DT2). Les mécanismes de défense cellulaire contre le stress oxydant sont basés sur la réduction des effets nocifs des ions peroxydes, groupe de composés instables au pouvoir oxydant. Parmi ces systèmes, la peroxyrédoxine 6 (PRDX6) est capable de neutraliser les effets délétères des ions peroxydes et du peroxy-nitrite. (Pacifi et al, 2014).

Plusieurs facteurs semblent être impliqués dans le développement de l'insulinorésistance, notamment l'augmentation du taux d'acides gras libres du plasma, le dysfonctionnement mitochondrial, le stress oxydatif et nitratif mais également l'inflammation chronique à bas

bruit. En effet, dans le cas du DT2, on observe une augmentation de la production de ROS et/ou la diminution de l'activité du système de défense, ce qui a pour conséquence un stress oxydatif accompagné de l'activation des voies de signalisation de l'inflammation. L'obésité est par ailleurs un facteur important d'augmentation du stress oxydant des voies de signalisation liées au stress (Urakawa et al., 2003).

4. Définition du radical libre :

Un radical libre est une espèce chimique « libre », contenant un ou plusieurs électrons non appariés (célibataires) dans son orbitale atomique sur la couche électronique la plus externe. (Pillou, 2014). Ces molécules sont instables et très cytotoxiques car elles « s'oxydent » d'autres molécules en leur soustrayant un électron ce qui les rend à leurs tours instables (Nicolas Gutierrez C, 2019).

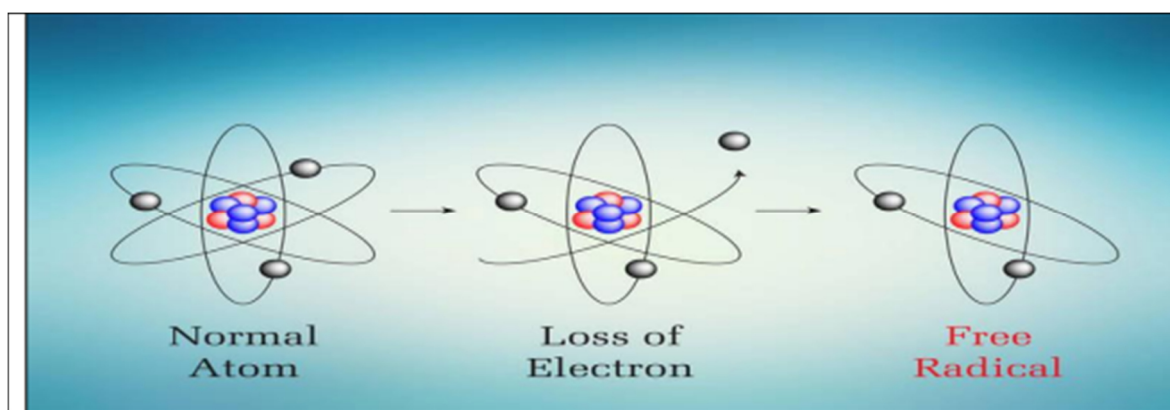


Figure 07 : La formation des radicaux libres (Pillou, 2014).

5. L'origine des radicaux libres :

5.1 Radicaux libres externes :

Il provient de : pollution, tabac, ozone, métaux lourds, polluants alimentaires (engrais, additifs), graisses saturées des aliments, excès de sucres, alcool.

5.2 Radicaux libre internes :

Les systèmes endogènes pouvant induire la production de ROS sont en général des processus biologiques utiles pour les cellules. Nombreux sont les ROS qui participent à des réactions biologiques (Wolff S Pet Jiang ZY, 1991).

L'origine endogène des ERO est principalement les chaînes respiratoires mitochondriales des cellules des organismes aérobies (environ 2 % de l'oxygène consommé au niveau mitochondrial sont transformés en ERO particulièrement réactionnelle) (Puppo et Halliwell, 1988).

6. Principaux radicaux libres :

Les principaux radicaux libres (Hadi, 2004) sont présentés dans le **tableau 01** :

| Principaux radicaux libres | Définitions |
|----------------------------|--|
| Anion superoxyde | <p>l'O_2^* ; Une molécule de dioxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.</p> $\text{O}_2 + \text{e}^- \longrightarrow \text{O}_2^*$ |
| Radical hydroxyle | <p>OH^\cdot ; Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.</p> |
| Radical peroxyde | <p>ROO^\cdot ; Ils sont des radicaux peroxydes, extrêmement réactifs, et ce avec la plupart des molécules des tissus vivants.</p> |
| Oxygène singulet | <p>$^1\text{O}_2$, forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité.</p> |

Tableau 01 : Les principaux radicaux libres (Hadi, 2004).

7. Antioxydants :

Les antioxydants naturels présentent alors un rôle important dans la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif (Vârban et al., 2009).

Les antioxydants sont des composés chimiques, qui peuvent inhiber ou retarder les dommages oxydatifs et protègent contre de nombreuses maladies. Ce sont des molécules capables d'interagir avec les radicaux libres en empêchant la propagation des réactions en chaîne d'oxydation (Charles., 2013).

7.1. Classification des antioxydants :

Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions, leur localisations cellulaire, leur origines ou encore selon leurs caractéristiques physico-chimiques.

7.1.1. Antioxydants primaires :

Les antioxydants primaires ou radicalaires, permettent l'interruption de la chaîne autocatalytique. Dans cette classe se trouvent les antioxydants de synthèse tels que le BHA et le BHT et les antioxydants naturels parmi lesquels les composés phénoliques (Judde, 2004).

7.1.2. Les antioxydants secondaires :

Les antioxydants secondaires ou préventifs qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres. Ils retardent l'oxydation lipidique selon différents modes d'actions : absorptions des radiations ultraviolettes, décomposition des hydroperoxydes (Himed, 2011).

8. Système de défense antioxydant :

Afin de protéger les cellules et le système organiques du corps contre les radicaux libres, l'organisme possède un complexe système de défense : les antioxydants. Il s'agit d'une défense à la fois endogène et se compose d'enzymes, et exogènes apportée par l'alimentation de fruit et légumes. (Pastre, 2005).

9. Propriétés chimiques des antioxydants :

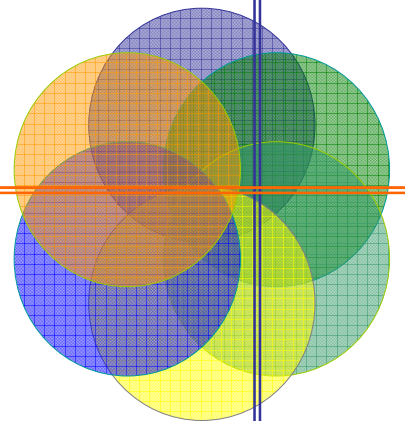
D'un point de vue chimique, un antioxydant n'est qu'un composé réducteur : il va donc réagir avec un autre oxydant pour le neutraliser. Les molécules antioxydantes ont des polarités variables. Les mécanismes d'action sont multiples incluant la réduction de radicaux ou de peroxydes, la désactivation des radicaux par addition covalente.

10. Utilisations des antioxydants :

En médecine en tant que médicament pour l'homme exemple : les maladies du stress, des activités antioxydantes.

- * Dans l'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.
- * Dans l'industrie agro-alimentaire ; pour éviter le rancissement des corps gras.
- * Dans l'industrie teinturerie ; pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture (**Bouhadjra K., 2011**).

Chap 05 : Plante étudiée : *Globularia alypum* L





1. Description botanique de *Globularia alypum* L :

1.1. Présentation de la globulaire :

Les plantes du genre *Globularia* sont vivaces arbustes très rameux, d'environ 30-60 cm d'hauteur, les tiges sont érigées, brun-rouge striées, à petites feuilles alternes, coriaces, persistantes, glauques, de forme ovale, atténuées à la base en un court pétiole plus ou moins cunéiformes, spatulées. (**Leporatti et Ghedira., 2009**). Dont les fleurs sont groupées en capitules plus ou moins globuleux entourés de bractées. Les fleurs ont une corolle à deux lèvres, la supérieure bilobée souvent atrophiée, l'inférieure trilobée. Elles sont en général bleues, à quatre étamines, fruits en forme d'akènes (**Baba Aissa., 2011**). (Figure 08).

- **Noms communs** : Globulaire turbith, Séné de Provence.
- **Nom botanique** : *Globularia Alypum* L.
- **Nom arabe** : appelée communément «Tasselgha», « Chebra », « Chelr'a », « Zerga », « zeriga », « zouitna », « alk », « haselra », « oulbarda » (**Chograni et al., 2013**). Au Maroc elle est appelée Einlarneb (**Jouad et al., 2002**).
- **Nom Kabyle** : Tasselgha

Figure 08: *Globularia alypum* L. (originale, prise le 10 Mars 2022 à la forêt de Bordj Okhriss, Bouira)

1.2. La classification botanique de : *Globularia alypum* L :

Selon (Quezel et Santa., 1963) la classification de la plante est décrite comme suit :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Superdivision : Spermaphyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Scrophulariales

Famille : Globulariaceae

Genre : Globularia

Espèce : *Globularia alypum* L



Figure 09 : La classification de l'espèce *Globularia alypum* L.

1.3. Origine de *Globularia alypum* L :

Globularia alypum L. de nom local « Tasselgha », est une plante vivace originaire du sud de l'Europe sur le pourtour méditerranéen jusqu'en Grèce, d'Afrique du nord (Algérie, Maroc jusqu'au Sahara) et d'Asie (Egypte, Arabie) est répartie en forêts, dans les terrains rocaillieux, broussailleux et secs (Quezel et Santa., 1963).

1.4. Phytochimie et action pharmacologique des Principes actifs de *Globularia alypum* L :

Cette plante est connue pour ses utilisations dans le traitement de l'hypoglycémie, rhumatismale, maladies de l'estomac et infectieuses (Djeridane et al., 2006).

De plus, ses feuilles sont souvent utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète, des maladies rénales et cardiovasculaires, de la goutte, de la typhoïde et de la fièvre intermittente (**Fehri et al., 2012**). Son nom *Globularia* fait référence à la forme globuleuse de l'inflorescence et le terme *alypum* vient du grec *alypōn* qui signifie calmer la douleur (**Jouad et al., 2002; Es-safi et al., 2005**).

L'étude de la composition chimique de la plante a été réalisée dans un but de découvrir les principaux produits naturels responsables de ces différentes activités thérapeutiques. Plusieurs composés ont été isolés et caractérisés de genre *Globularia*. Ces composés sont essentiellement des flavonoïdes, des polyphénols, des tannins, des anthocyanines (**Khelifi et al., 2011 ; Boussoualim., 2014**).

La présence de **globularine**, de résine, de mucilages, de tanins, de choline, de chlorophylle, d'acide-cinnamique, d'acide globularique a été démontrées (**Chograni et al., 2013 ; Kada., 2018**) .

1.5. Travaux antérieurs sur *Globularia alypum* L :

Cette plante représente un potentiel important en métabolites et en activité et jusqu'à présent, la recherche de ses nouvelles activités biologiques sont en cours.

2ème Partie: Matériel et méthodes



Matériel et méthodes :

1. Le lieu d'étude : L'étude ethnobotanique s'est faite au niveau des deux daïra de Bouira et de Bordj okhriss dans la même wilaya.

La **figure 10** représente la carte géographique de Bouira.et de Bordj okhriss.

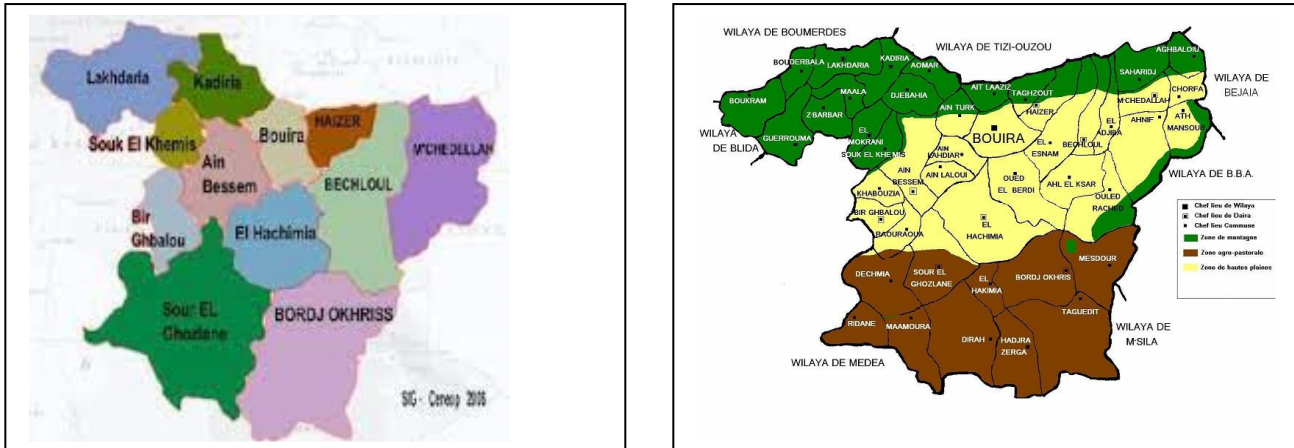


Figure 10 : Carte géographique de Bouira et de Bordj okhriss. (Monographie de la wilaya de Bouira 2011)

2. Enquête ethnobotanique :

A l'aide de 90 fiches questionnaires ; Une enquête ethnobotanique a été effectuée durant le mois de Février 2022 dans la région de **Bouira** et **Bordj okhriss**. Nous avons utilisé un questionnaire (voir en annexe) sur lequel des questions précises ont été posé pour les praticiens des plantes médicinales à différents âges et sexes.

Au début, une liste de noms vernaculaires des plantes antidiabétiques utilisées par cette populations été crée. Les noms des personnes interrogées et leurs âges ont été cités, la plupart de ces personnes interrogées ont déclaré qu'elles avaient acquise leurs connaissances des remèdes traditionnels de leurs parents.

Cette étude a permis de dresser une liste des plantes médicinales anti diabétiques utilisées au niveau de la wilaya de Bouira.

2.1. Fiches questionnaires :

L'étude ethnobotanique est effectuée avec une série d'enquêtes à l'aide d'un questionnaire préétablie, comportant des questions précises sur :

- 1- l'identité vernaculaire de la plante médicinale.
- 2- caractéristiques ethno pharmacologiques (mode de préparations, mode d'administrations...).
- 3- caractéristiques ethnobotaniques (parties utilisées de la plante, forme d'utilisations).

3. Description du matériel végétal : *Globularia alypum* L

Les plantes du genre *Globularia* sont de vivaces arbustes rameux d'environ 60 cm de hauteur (30-60cm). Leurs feuilles sont persistantes, coriaces, ovales, lancéolées, élargies à l'extrémité et atténuées à la base ; elles sont dites spatulées. Les fleurs réunies en capitules denses à bractées ciliées, atteignant près de 2 cm de diamètre et disposées le long et au sommet des tiges, elles sont d'un bleu clair réunies en capitule globuleux solitaire et situé à l'extrémité des rameaux (**Quezel et Santa, 1963**) (**Figure 11**).



Figure 11 : Photographie des Feuilles et fleurs de *Globularia alypum* L.

4. Préparation du matériel végétal :

La plante *Globularia alypum* L est récoltée au mois de Mars 2022 au niveau de la forêt de **Bordj Okhriss** dans la wilaya de **Bouira**. Les feuilles sont nettoyées, séchées à l'ombre et à température ambiante. Ensuite le matériel végétal est broyé avec un broyeur électrique et la poudre obtenue a été conservé dans des flacons en verre à température ambiante puis stockée à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

Le protocole détaillé de la préparation du matériel végétal (*Globularia alypum* L), est présenté dans la **figure 12** :

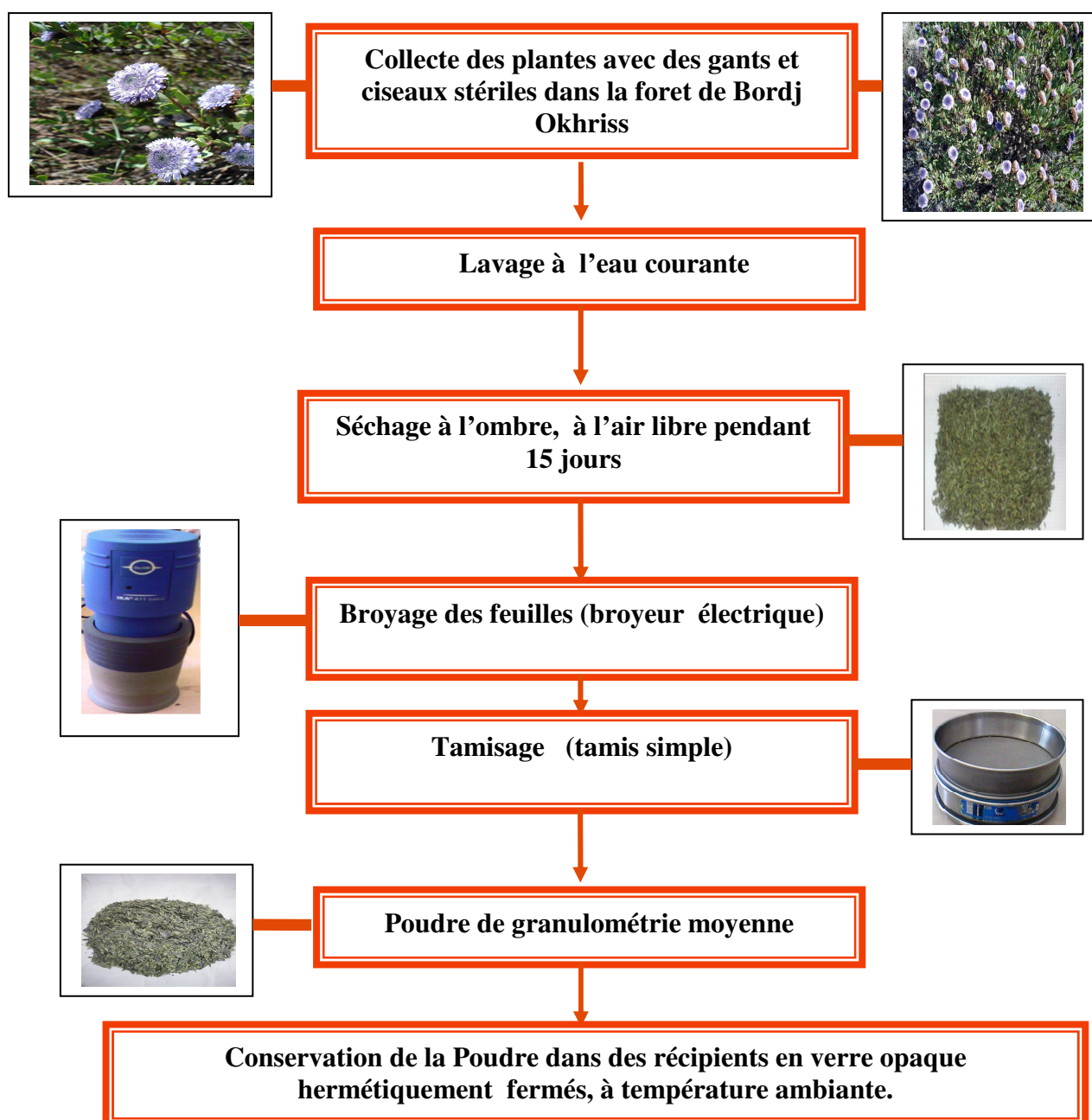


Figure 12 : Protocole séquentiel de préparation du matériel végétal *Globularia alypum* L.

4.1 Préparation des extraits de la plante *Globularia alypum* L :

Dans le but de l'extraction des composés actifs de cette plante, une macération et décoction ont été effectuées dans de l'eau distillée.

4.2 Extraction des composés phénoliques :

4.2.1. Extraction par macération :

Cette méthode consiste de la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation. Cette procédure, malgré les temps longs d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvants, est relativement peu coûteuse. En plus, elle se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules polyphénoliques. (Spigno et De faveri, 2007 ; Budic-letoc et al, 2005).

Le protocole détaillé de la préparation des extraits secs de la plante par macération est présenté dans la figure13:

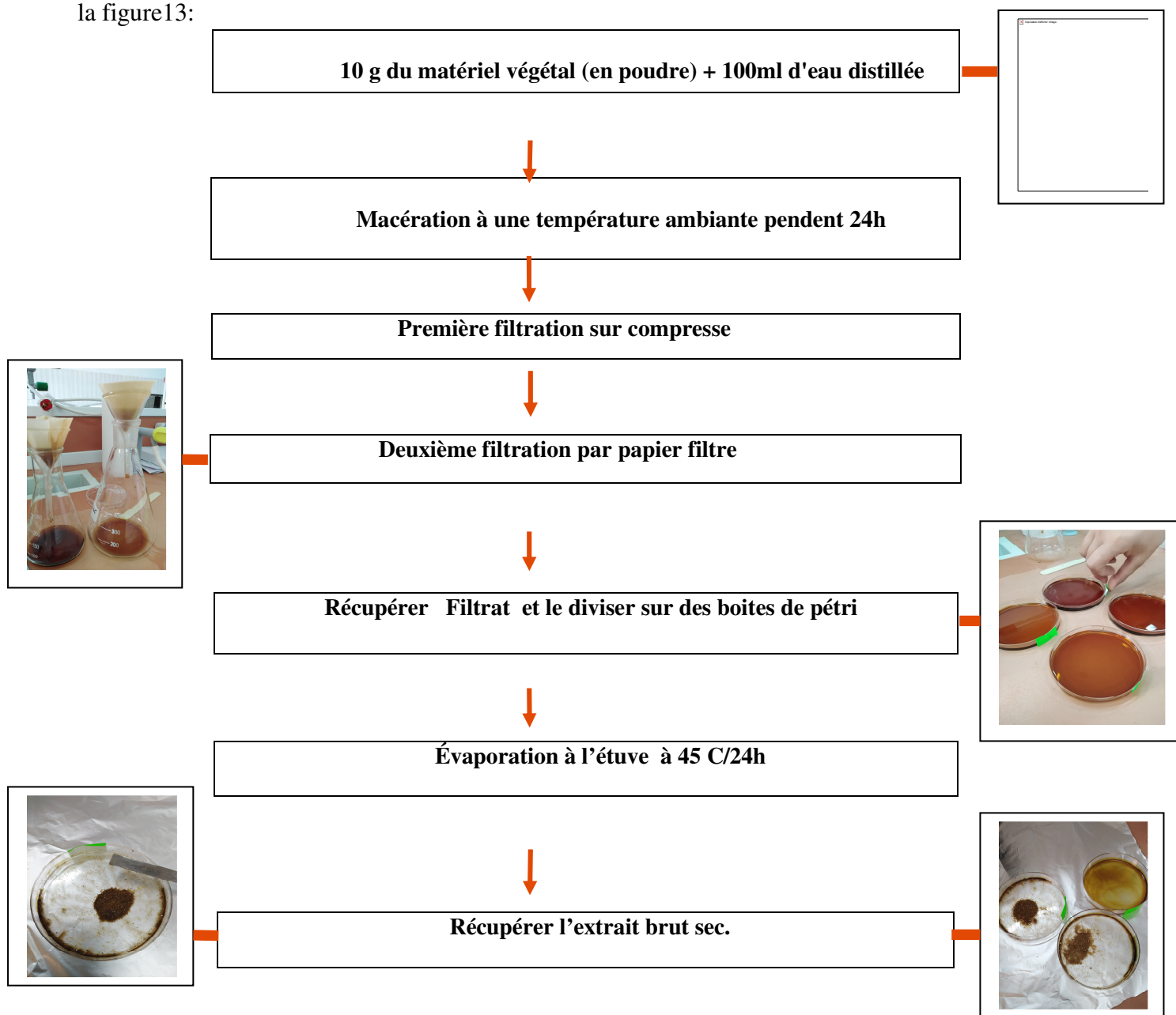


Figure 13 : Protocole de préparation de l'extrait sec de la plante par **macération**.

4.2. 1.1. Calcul du rendement :

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extract et celle de la plante sèche en poudre.

Il est calculé par la formule suivante : $Rdt (\%) = (PB / PA) \times 100$.

PB : poids d'extract brut. PA : poids de la plante sèche en poudre. $Rdt (\%) = (PB / PA) \times 100$

4.2.2. Extraction par décoction :

Cette méthode consiste de la mise en contact du matériel végétal avec le solvant, l'eau distillée est menée à ébullition et maintenue à température, la poudre de la plante est mise dans l'eau chauffée pendant un temps déterminé.

Le protocole détaillé de la préparation des extraits secs de la plante par **décoction** est présenté dans la **figure 14** :

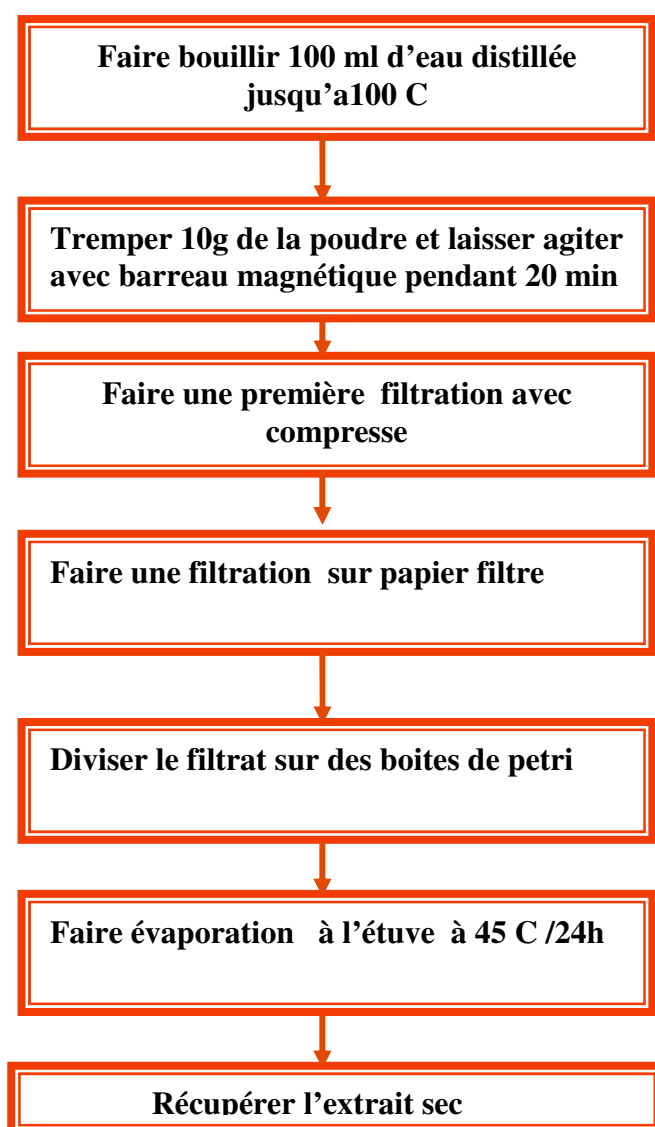


Figure 14 : Protocole de préparation de l'extract sec par **décoction**.

5. Les produits chimiques utilisés :

Dans cette étude nous avons utilisé: le méthanol , le chlorure d'aluminium (**AlCl₃**) ; le reactif de **Folin ciocalteu** ; les Carbonates de sodium (**Na₂CO₃**); le radical libre 2,2'-diphényle1-picryl hydrazyl (**DPPH**); l'acide gallique; la quercétine; ; l'eau distillée; ; l'**HCl** et la vanilline.

6. Matériel et appareils utilisés :

- Spectrophotomètre.
- Balance de précision.
- Papier filtre.
- Agitateur.
- Etuve.
- Tubes à essai.
- Micropipettes.
- Papier aluminium.
- Entonnoirs.
- Erlenmeyers.
- Spatule.
- Cuves à spectrophotomètre.

7. Analyses quantitatives des composées phénoliques :

7.1. Dosage des poly phénols totaux par la méthode de Folin Ciocalteu :

Principe :

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de **Folin-Ciocalteu**. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W₈O₂₃) et molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Protocole :

Les polyphénols (PP) ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué en 2007 par Li et ses collaborateurs. 100µl d'extrait végétal dilué est mélangé avec 500 µl de réactif de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois dans de l'eau distillée. Après 10 minutes, 400 µl de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à concentration de 7,5 g/l sont ajoutés. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 2 heures à température ambiante et à l'obscurité, L'absorbance est mesurée à 765 nm.

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (0 - 1mg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en ug d'équivalent d'acide gallique par mg de l'extrait (ug EAG/mg E). Toutes les mesures sont répétées 03 fois.

La figure 15 représente la courbe d'étalonnage effectuée par l'acide gallique et l'équation utilisée pour calculer les concentrations en poly phénols dans les extraits.

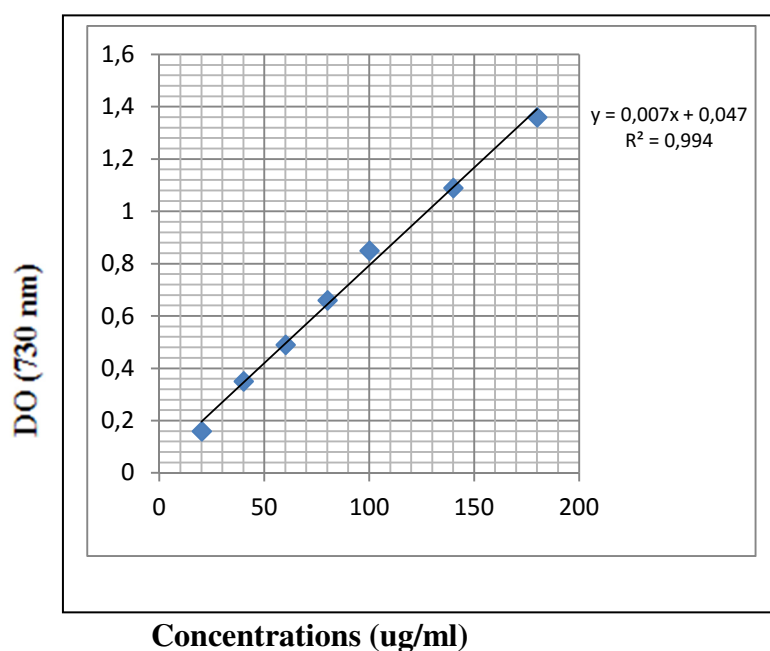


Figure15 : courbe d'étalonnage effectuée par l'acide gallique.

7.2. Dosage des flavonoïdes :

Principe :

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle ($C=O$) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs, $AlCl_3$ peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes (Chang et al, 2002).

Protocole :

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) cité par Chang et al (2002) et Djeridane et al (2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans notre extrait.

Le protocole de dosage est le suivant :

Dans des tubes à essai, on mélange 500 μ l d'extrait dilué avec 500 μ l de solution $AlCl_3$ (2%). Après 10 min d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, la lecture des absorbances est faite à 430 nm. La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la quercétine à différentes concentrations (0 – 01 mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de quercétine par mg de l'extrait (μ g EQ/mg E).

La figure 16 représente la courbe d'étalonnage effectuée par la quercétine et l'équation utilisée pour calculer les concentrations des flavonoïdes dans les extraits.

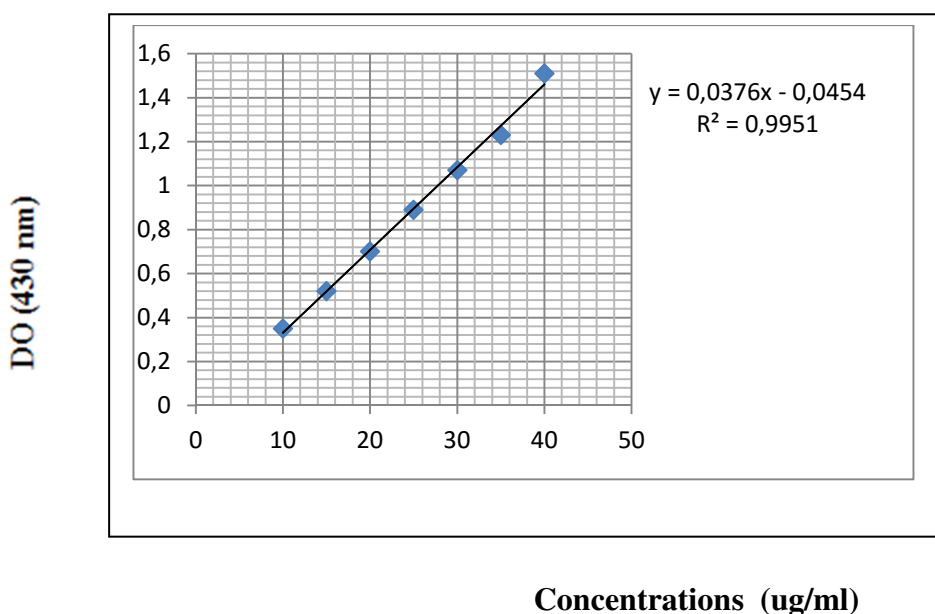


Figure16 : courbe d'étalonnage effectuée par la quercétine.

7.3. Dosage des Tanins:

Principe :

La teneur en pro-anthocyanidines est mesurée suivant le protocole de **Sun et al, (1998)** tel que rapporté par **Oyedmi et Afolayan, (2011)** avec quelques modifications. Le principe de la méthode est basé sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré (**Ba et al., 2010**).

Protocole :

Un volume de 50 μ l de la solution d'extrait est mélangé avec 1500 μ l de la solution de vanilline (4%), préalablement préparée dans du méthanol puis mélangé à l'aide d'un vortex, ensuite on ajoute 750 μ l d'HCl. Le mélange est bien agité, puis incubé et laisser agir pendant 20 min à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (**Sun et al., 1998**). Toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

Une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions, en utilisant la **catéchine** comme standard et la concentration est exprimée en μ g équivalent catéchine /mg d'extrait sec. La teneur en tanins condensé de l'extrait a été obtenue à partir de la courbe d'étalonnage représentant les absorbances des différentes concentrations de la catéchine considéré comme un standard (**25 -500 μ g /ml**), et déterminé par l'équation de type : **$Y = 0.0016x + 0.0332$** sachant que le coefficient de corrélation est : **$R^2 = 0.9913$** . Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de catéchine par milligramme d'extrait sec (**μ g EqC/mg d'extrait sec**).

La figure 17 représente la courbe d'étalonnage effectuée par la catéchine et l'équation utilisée pour calculer les concentrations des tanins condensés dans les extraits.

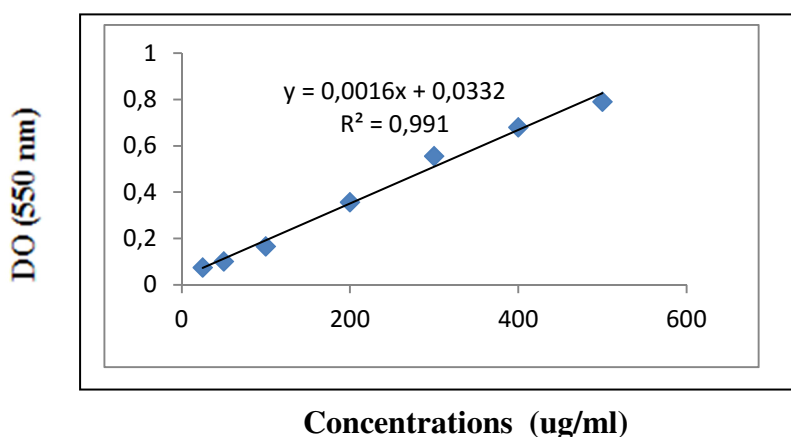


Figure 17 : courbe d'étalonnage effectuée par la catéchine.

8. Mesure de l'activité antioxydante par la méthode au DPPH :

8.1. Préparation de la solution DPPH :

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl, $C_{18}H_{12}N_5O_6$; Mr : 394.33g/mol), est solubilisé dans du méthanol pure à une concentration de 04mg /100ml.

8.2. L'essai au DPPH :

Le test DPPH, qui utilise une réaction d'oxydoréduction avec le 2,2-diphényl-1- picrylhydrazyl radical, a été utilisé pour déterminer la capacité anti-oxydante des extraits. Le radical a une couleur violette en raison de l'électron non apparié d'azote et, après réaction avec l'atome d'oxygène d'un piègeur de radicaux de la réduction de DPPH-H (2,2- diphényl-1- picrylhydrazin) est formé, qui est jaune (Villano et al., 2007).

Le changement de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Popovici, 2009 ; Molyneux, 2004).

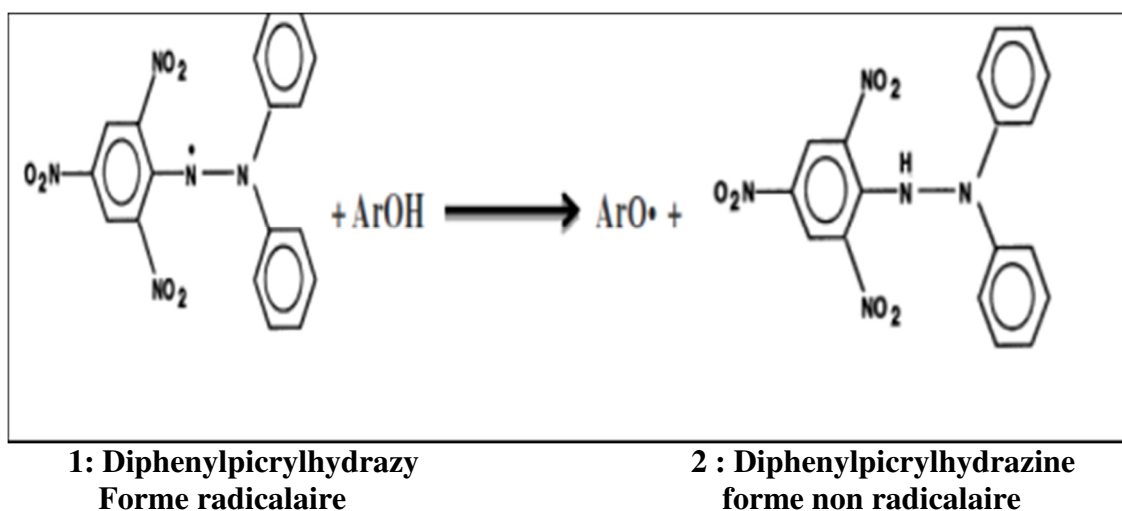


Figure 18 : Réduction du radical DPPH• (Molyneux, 2004).

8.3. Expression des résultats :

L'activité antioxydante, qui exprime les capacités de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol. Selon Jerez *et al.*, (2006), le pourcentage d'inhibition (IP%) est donné par la formule :

$$IP = \frac{(\text{Absorbance } t = 0 \text{ min} - \text{Absorbance } t = 30 \text{ min}) * 100}{\text{Absorbance } t = 0 \text{ min}}$$

Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures \pm écart type.

La valeur IC₅₀ a été déterminée pour chaque extrait, cette valeur est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH. Ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigée pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et de DPPH (Heilerová *et al.*, 2003).

8.4. Protocole du test d'activité antioxydante par l'essai au DPPH :

Les extraits secs sont suspendus dans de l'eau distillée afin d'avoir une solution de concentration de 1mg /ml. A partir de cette solution, une gamme de dilutions est préparée (1 mg /ml et 0.5 mg/ml et 0.25 mg/ml). 50µl de chaque dilution sont ajoutées à 1250µl de la solution **DPPH** (4 pour cent), une première mesure de l'absorbance est faite à t₀=0 (le contrôle) ($\lambda=517\text{nm}$), puis une deuxième mesure est établie après incubation à l'obscurité pendant **30 min**.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés selon la formule décrite par Jerez *et al.*, (2006).

La courbe de corrélation obtenue permet de déterminer par simple extrapolation l'IC₅₀.

9. Analyse statistique :

Toutes les expérimentations du présent travail sont répétées au moins trois fois. Les graphes sont mis en forme par EXCEL, les résultats sont exprimés en **moyenne \pm SD**.

3ème Partie: Résultats et discussion



Résultats et discussions :

1.Étude ethnobotanique :

Durant notre enquête ethnobotanique, nous avons réussi à recenser un total de 37 plantes médicinales antidiabétiques appartenant à 23 familles, qui sont regroupées dans le tableau 02 :

Tableau 02 : Liste des plantes antidiabétiques recensées dans la daïra de Bouira et de Bordj Okhriss.

| Famille | Espèce | Nom français | Nom vernaculaire | Partie utilisée | Mode d'utilisation | Nombre de citation | Fréquence de citation |
|-----------------------------|------------------------------|--------------------|------------------|-----------------|--------------------|--------------------|-----------------------|
| <i>Asteraceae</i> | <i>Artemisia herba alba</i> | Armoise blanche | Chih | Feuilles | Macération | 10 | 22.22 |
| | <i>Silybum maritimum</i> | Silybum | Chawk-lhalib | Tige | Décoction | 01 | 2.22 |
| | <i>Artemisia absinthium</i> | Absinthe | Chejret meriem | Feuilles | Infusion | 06 | 13.33 |
| | <i>Inula viscosa</i> .L | Inula viscosa | magramaan | Feuilles | Infusion | 01 | 2.22 |
| | <i>Cynara Carduculus</i> | Cardon | khourchouf | Racines | Macération | 01 | 2.22 |
| | <i>Anvillea- gracini</i> | Aavilea | Al nagde | Feuilles | Décoction | 01 | 2.22 |
| | <i>Calmentha officinalis</i> | Calament officinal | Latei lakhla | Feuilles | Décoction | 01 | 2.22 |
| <i>Zingiberaceae</i> | <i>zingiber officinalis</i> | Gingembre | Zanjabil | Racines | Décoction | 01 | 2.22 |
| | <i>curcuma alismatifolia</i> | Curcuma | korkom | Racines | Décoction | 01 | 2.22 |

| | | | | | | | |
|------------------------------|-------------------------------|------------------|-------------|----------|-----------|----|-------|
| <i>Aloeaceaes</i> | <i>Aloe arboresens</i> | Aloe vera | sabbar | Feuilles | Décoction | 01 | 02.22 |
| <i>Apiaceaes</i> | <i>Cuminum cyminum</i> | Cumin | kemoun | Feuilles | Décoction | 01 | 02.22 |
| <i>Lamiaceaes</i> | <i>Rosmarinus officinalis</i> | Romarin | Iklil jabal | Feuilles | Décoction | 03 | 06.66 |
| | <i>Marribum vulgare</i> | Marrube blanc | tameriouet | Feuilles | Décoction | 02 | 04.44 |
| | <i>Thymus vulgaris</i> | Le thym | zaatar | Feuilles | Décoction | 01 | 02.22 |
| | <i>Ajuga iva</i> | Ivette musquée | chandgoura | Feuilles | Décoction | 03 | 06.66 |
| | <i>Salvia officinalis</i> | Sauge officinale | meryamia | Feuilles | Décoction | 01 | 02.22 |
| <i>Curcubitaceaes</i> | <i>Cytriulus colocynthis</i> | Coloquinte vraie | Handhal | Fruits | Cuit | 01 | 02.22 |

| | | | | | | | |
|-----------------------------|----------------------------------|----------------------|--------------|----------|------------|----|-------|
| <i>Araliaceae</i> | <i>Panax ginseng</i> | Ginseng | Ginseng | Racines | Cuit | 01 | 02.22 |
| <i>Lauraceae</i> | <i>Cinnamomum verum</i> | Cannelier | Karfa | Ecorces | Décoction | 02 | 04.44 |
| | <i>Laurus nobilis</i> | Laurier vraie | Rand | Feuilles | Infusion | 01 | 02.22 |
| <i>Poaceae</i> | <i>Macrochloe tenicissima</i> | Halfa | Halfa | Feuilles | Macération | 01 | 02.22 |
| <i>Anacardiaceae</i> | <i>Pistacia lentiscus</i> | Pistachrer lentisque | El darou | Feuilles | Décoction | 02 | 04.44 |
| <i>Rosaceae</i> | <i>Crataegus azarolus</i> | Aubépine sauvage | Zaarour | Tige | Macération | 03 | 06.66 |
| <i>Fabaceae</i> | <i>Trigonella foenum-graecum</i> | Funegrec | Halba | Graines | Macération | 03 | 06.66 |
| | <i>Ceratonia siliqua</i> | Caroubier | kharoub | Fruits | Décoction | 01 | 02.22 |
| | <i>Lupinus albus</i> | Lupin | Termes Lmorr | Graines | Décoction | 01 | 02.22 |

| | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------------|------------------|----------------|----------|------------|----|-------|
| Myrtaceaes | <i>Myrtus communis.</i> | Myrte | Rayhane | Feuilles | Macération | 02 | 04.44 |
| | <i>Syzygium aromaticum</i> | Giroflier | Kronfel | Fruits | Macération | 01 | 02.22 |
| Gentianaceaes | <i>Centaurium erythrea</i> | Centauree vivace | Meraret Hnech | Graines | Macération | 10 | 22.22 |
| Amaryliaceaes | <i>Allium sativum</i> | Ail | El thoum | Racines | Macération | 02 | 04.44 |
| Oleaceaes | <i>Olea europea</i> | Olivier | Zitoun | Feuilles | Décoction | 08 | 17.77 |
| Pedaliaceaes | <i>Sesamum indicum</i> | Sesame | Semsem | Graines | Décoction | 01 | 02.22 |
| Renonculaceaes | <i>Nigella sativa</i> | Nigelle cultivée | Habba sawda | Graines | Macération | 01 | 02.22 |
| Urticaceaes | <i>Urtica dioica</i> | Ortie | Herayeg | Feuilles | Décoction | 01 | 02.22 |
| Linaceaes | <i>Linium usitatissimum</i> | Le lin cultivé | Zeriaat ketane | Graines | Cuit | 01 | 02.22 |

| | | | | | | | |
|------------------------------|----------------------------------|-----------------|------------|----------|------------|----|-------|
| <i>Plantaginaceae</i> | <i>Globularia alypum</i> | La globulaire | Taselgha | Feuilles | Décoction | 09 | 20.00 |
| <i>Zygophyllaceae</i> | <i>Zygophyllum cornutum</i> Coss | Le Fabago | Agaya | Tige | Macération | 01 | 02.22 |
| <i>Brassicaceae</i> | <i>Lepidium sativum</i> | Gresson alinois | Hab rechad | Graines | Décoction | 01 | 02.22 |

1.1. Analyse des familles botaniques :

Les familles auxquelles appartiennent les plantes les plus citées durant l'enquête sont représentées statistiquement dans la figure 19 :

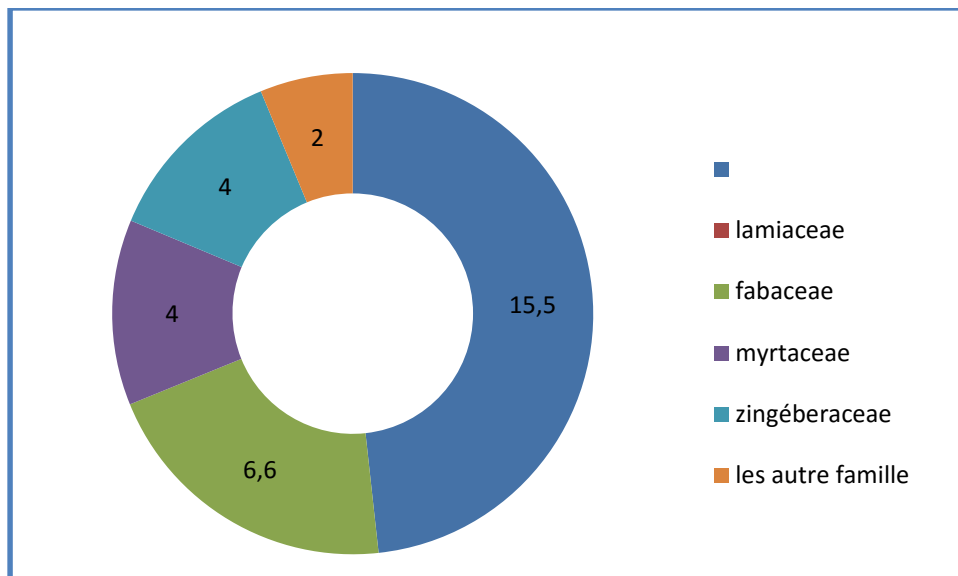


Figure19: Répartitions des espèces les plus utilisées par familles.

D'après la figure(19), nous avons pu dresser une liste de 37 plantes médicinales anti diabétiques, réparties sur 23 familles botaniques dont les plus représentées sont : les Asteraceae (07 espèces) 15.5 %; les Lamiaceae (05 espèces) 11.1%; les Fabaceae (03 espèces) 6.6 %, Les Zingéberaceae et Myrtaceae (02 espèces) avec 04% et les autres familles ont une seule espèce avec 02%.

Ces résultats confirment les études précédentes effectuées au niveau de la wilaya de Tiziouzu (Meddour et al., 2013) ,qui ont recensé 98 plantes médicinales réparties en 48 familles dont les familles les plus représentées sont : les Astéracées, et les Lamiacées .

Notre résultat concorde aussi avec celui de (Kada et al, 2018) dans la Wilaya d'Adrar (Algérie) qui montre que les plantes médicinales les plus utilisées appartiennent aux familles des Aseteraceae et Lamiaceae.

1.2. Le mode de préparation :

L'enquête a montré que le mode de préparation le plus utilisé est la décoction, la figure 20 rassemble les différents modes de préparation des plantes médicinales recensées :

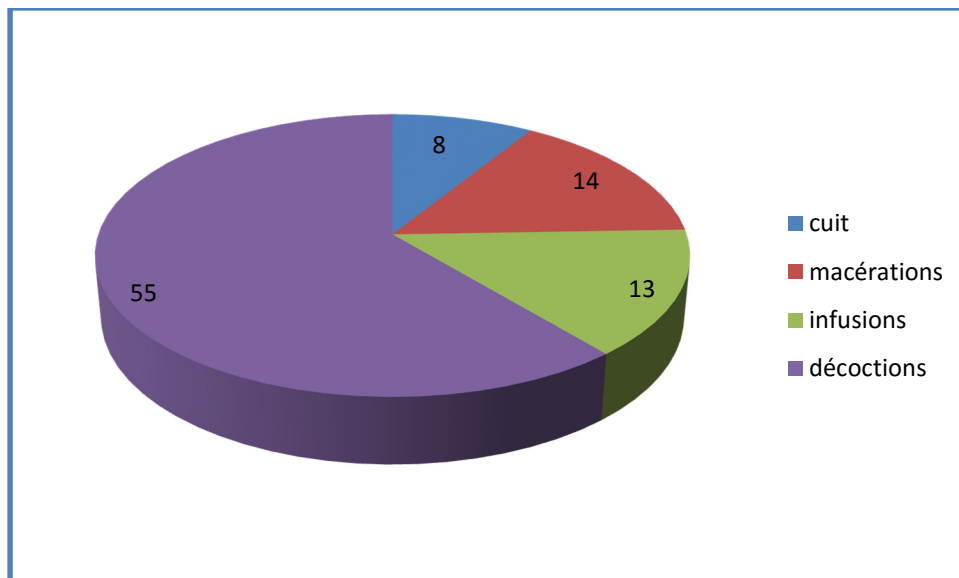


Figure 20 : Répartition des modes de préparations des plantes médicinales antidiabétiques recensées.

Afin de faciliter l'administration du principe actif, plusieurs pratiques thérapeutiques sont employées à savoir la décoction, l'infusion, la macération, et la cuisson. Nous avons constaté que le mode de décoction est la méthode d'extraction la plus utilisée avec 55 %. Cela s'explique par le fait que les utilisateurs cherchent toujours la méthode la plus simple pour préparer les recettes thérapeutiques, puis on trouve la macération avec 14 % et l'infusion avec 13 % et enfin la méthode de cuisson avec 08%.

Les résultats obtenus par (Tahri et al., 2012) montrent que la décoction est la méthode la plus utilisée pour l'extraction des principes actifs des plantes médicinales.

1. 3. Les parties utilisées des plantes médicinales :

Les parties utilisées des plantes médicinales antidiabétiques (feuille, tige, fruit, ...) sont résumé dans la figure(21) :

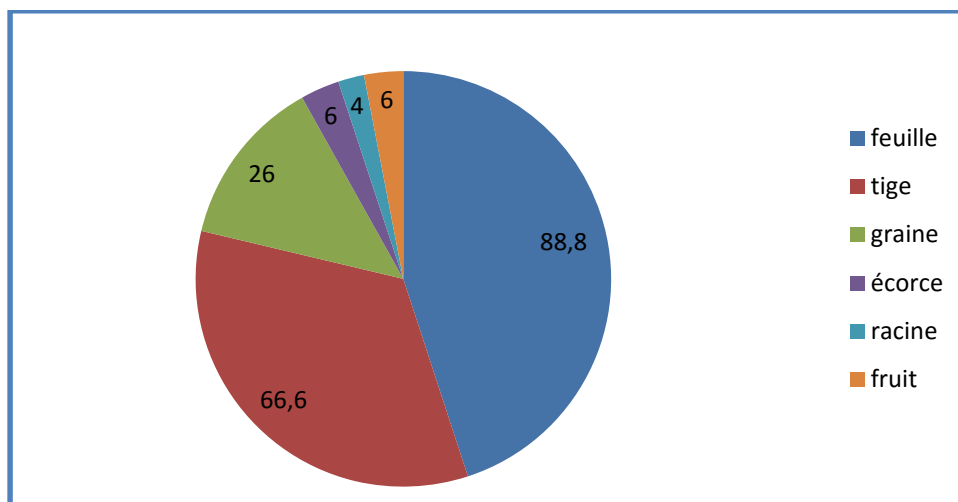


Figure 21 : Répartitions des parties utilisées des plantes médicinales antidiabétiques.

Les informations sur la partie utilisée des plantes médicinales et leurs propriétés thérapeutiques peuvent différer d'une personne à une autre pour la même plante. D'après les enquêtes menées, nous constatons que les feuilles (88.8%) sont la partie la plus utilisée. Ces informations sont similaires à celles obtenues par d'autres ethnobotanistes au Maroc (**Tahraoui et al ,2007**).

La fréquence d'utilisations élevée des feuilles peut être expliquée par l'aisance et la rapidité de la récolte, mais aussi par le fait qu'elles sont le siège de la photosynthèse et parfois du stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés biologiques de la plante (**Bitsindou, 1986**).

2. Le rendement en extrait sec :

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Le tableau 03 résume les rendements en extraits secs par macération et par décoction des feuilles de *Globularia alypum* L :

Tableau 03 : Rendements en extraits secs par macération et par décoction des feuilles de *Globularia alypum* L :

| Méthode | Rendement (%) | Couleur | Aspect |
|------------|---------------|-----------------|----------|
| Macération | 30.23 | Marron foncé | Poudreux |
| Décoction | 30.59 | Marron jaunâtre | Poudreux |

Notre résultat est inférieur à celui obtenu à partir des feuilles de *Globularia alypum* L réalisé par (Bahlil Yasmina et al ,2010) qui trouvent un rendement de 40%.

Le rendement obtenu dans le présent travail est inférieure à ceux obtenu dans des travaux antérieurs réalisés sur la même espèce *Globularia alypum* L qui ont rapporté des rendements en extrait aqueux de (47.00 %) (Kraza Lamia 2020).

Cette différence revient en fonction de plusieurs paramètres comme le cycle végétatif de la plante, ainsi que de la période de récolte, la localisation géographique et aussi le temps de séchage (Michel et al., 2011).

Selon Vermerris et Nicholson (2006), la différence des valeurs peut s'expliquer par la richesse ou la pauvreté de la plante en composés solubles dans les solvants utilisés et peut être liée à leurs degrés de solubilité dans ces derniers et leur degré de glycosylation (Markham., 1982).

3. Résultats de l'étude quantitative des composés phénoliques :

3.1. Résultats du dosage des poly phénols :

Les poly phénols totaux ont été déterminés par la méthode de **Folin-Ciocalteu**.

L'absorbance a été mesurée dans une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 04 :

Tableau 04 : Teneur en poly phénols des feuilles de *Globularia alypum* L :

| Méthode | Teneur en polyphénols (ug EAG/mg d'extrait) |
|------------|---|
| Macération | 125,51 ± 1,31 |
| Décoction | 140,87 ± 01.52 |

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 04 , les teneurs en composés phénoliques étaient respectivement **125,51 ± 1,31** ug EAG/mg d'extrait en macérations, et **140,87 ± 01.52** ugEAG/mg d'extrait en décoction.

Nos résultats sont comparables à ceux de (**khantouche linda et Abderabba manef, 2018**) qui ont trouvé la teneur en polyphénols de l'extrait aqueux des feuilles de *Globularia alypum* L de **144.11± 01.20** ug EAG / mg d'extrait sec.

Cependant **Leila SMAIL et al(2017)** ont trouvé que L'extrait aqueux de *Globularia alypum* L présente une teneur en composés phénoliques moindre de **32,50±0,10** µg GAE/mg d'extrait sec.

Nos résultats sont inférieurs à ceux de **Djeridane et al, (2006)** qui ont travaillé sur les feuilles de *Globularia alypum* L et qui ont utilisé le méthanol comme solvant d'extraction, ils trouvèrent une teneur en phénols totaux de **(21,54 ± 0,81** mg Eq AG/g MS).

Ceci s'explique par le fait que la qualité et la quantité des poly phénols dans les plantes peuvent varier considérablement en fonction de différents facteurs intrinsèques et extrinsèques tels que le génotype de la plante, la composition du sol, le degré de maturité et l'état de la culture et le temps de récolte (**Faller et fialho., 2010**).

3.2. Résultats du dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm.

La quantification des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée en utilisant la courbe d'étalonnage de la quercétine et les teneurs sont exprimées en microgrammes équivalent en quercétine par milligramme d'extrais sec. Les résultats obtenus sont consignés dans le Tableau 05 :

Tableaux 5 : Teneur des flavonoïdes d'extrait des feuilles de *Globularia alypum* L.

| Méthode | Teneur en flavonoïdes. |
|------------|------------------------------------|
| Macération | 6.54±0.04 ug Eq Q/mg E sec |
| Décoction | 8.09±0.79 ug Eq Q/ mg E sec |

Le tableau 05 montre que la teneur en flavonoïdes des feuille de *Globularia alypum* L par macération et décoction sont respectivement **06.54±0.04** ug Eq Q/mg E sec et **8.09±0.79** ug Eq Q/ mg E sec.

Notre résultat est largement inférieur à ceux obtenus par (Leila SMAIL et al, 2017) qui trouve une teneur en flavonoïdes de $14,96 \pm 0,20 \mu\text{g QE/mg d'extrais sec}$ par décoction.

En outre, les résultats de (khantouche Linda et Abderabba Manef, 2018) montre que la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait aqueux de *Globularia alypum* L par macération présente une teneur de $12 \pm 0.3\text{mg QE/g d'extrais sec}$.

Cette différence peut être expliquée par le fait que la méthode d'extraction ainsi que la région et la période de la récolte sont différentes.

3.3. Résultats du dosage des tanins condensés :

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon la méthode de vanilline, la catéchine a été utilisé comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 500 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau (06) :

Tableau 06 : teneur en tannins des feuilles de *Globularia alypum L.*

| Méthode d'extraction | Teneurs des tannins condensés. |
|----------------------|--------------------------------------|
| Macération | 28.87 ±1.85 ug Eq C/mg E sec |
| Décoction | 36.12 ± 1.32 ug Eq C/mg E sec |

Les teneurs en tannins des feuilles de notre plante par macération et décoction sont respectivement **28.87 ±1.85** ug Eq C/mg d'extrait sec et **36.12 ± 1.32** ug Eq C/ mg d'extrait sec.

Ces résultat sont supérieurs à ceux cités aux travaux de (**khantouche Linda et Abderabba Manef, 2018**) qui ont trouvé des teneurs en tanins de **06.50± 0.30** ug Eq C/mg d'extrait sec des feuilles de *Globularia alypum L.*

D'après **Touaibia et al, (2015)** la teneur en proantocyanidines de l'espèce *Globularia* été basée sur une macération simple en éthanol. Le résultat obtenu, est de **05,64 ± 0,16** (ug Eq C/mg d'extrait sec). Ces résultats sont inférieurs à ceux enregistrés par notre étude, et cela pourrait être dû au type du solvant utilisé pour l'extraction et aux conditions opératoires (**Chavan et al., 2000**) . Les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires (**Seidel, 2005**)

4. Résultats de la mesure de l'activité antioxydante des extraits de *Globularia alypum L.*

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire d'un extrait d'une plante peut se faire par différents tests *in vitro*. L'une des méthodes les plus utilisées est l'activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH.

La figure 22 représente le pourcentage d'inhibition des deux extraits obtenus par décoction et macération en fonction des concertations :

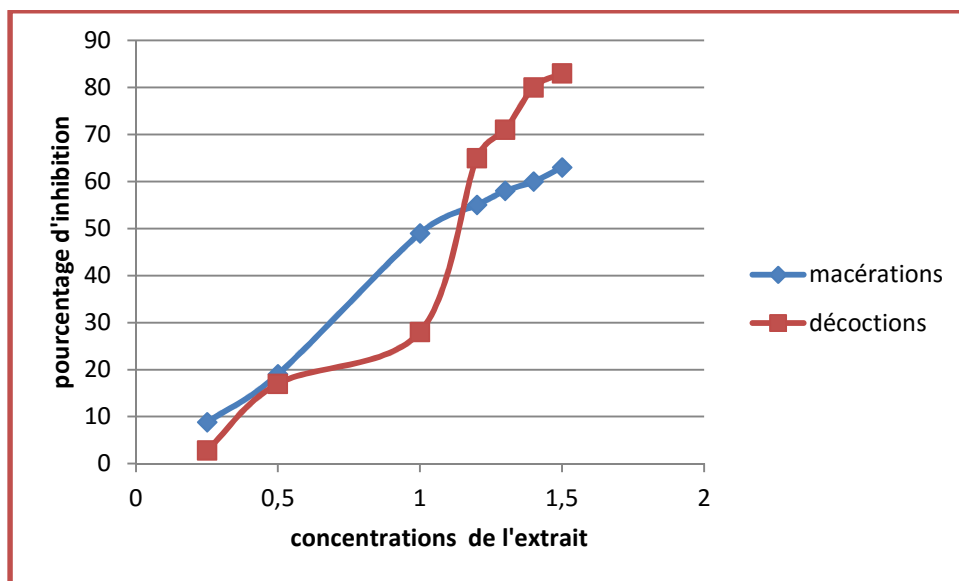


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction de concentrations utilisées pour l'extrait.

L'activité antioxydante, vis-à-vis du radical libre DPPH, des extraits de notre plantes est évaluée par comparaison à celle du BHT ; un antioxydant de synthèse.

Les pourcentages d'inhibition du DPPH par différentes concentrations de l'antioxydant synthétique BHT sont représentés dans la **figure 23** :

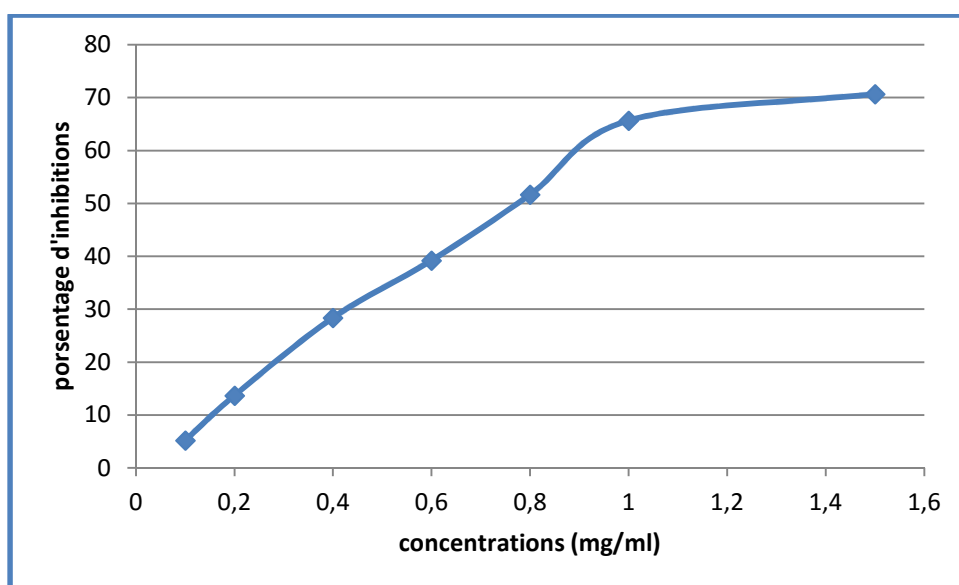


Figure 23: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations en acide ascorbique(BHT).

L'activité antioxydante de notre extrait est exprimée en IC₅₀; cette dernière est une valeur qui exprime la concentration de l'extrait nécessaire pour diminuer l'absorbance du DPPH de 50 % (inhibition de DPPH à 50%).

La courbe de corrélation obtenue permet de déterminer par simple extrapolation l'IC₅₀. Les valeurs de l'IC₅₀ des deux extraits obtenus par macération et décoction sont respectivement **1,1 mg/ml** et **1,3mg/ml**.

L'activité antioxydante des extraits de *Globularia alypum* L est faible par rapport à celle de l'antioxydant synthétique (**BHT**) qui présente une valeur d'IC₅₀ de **0,8 mg/ml**. La figure 24 représente l'histogramme de comparaison des résultats des concentrations inhibitrices à 50 % du DPPH :

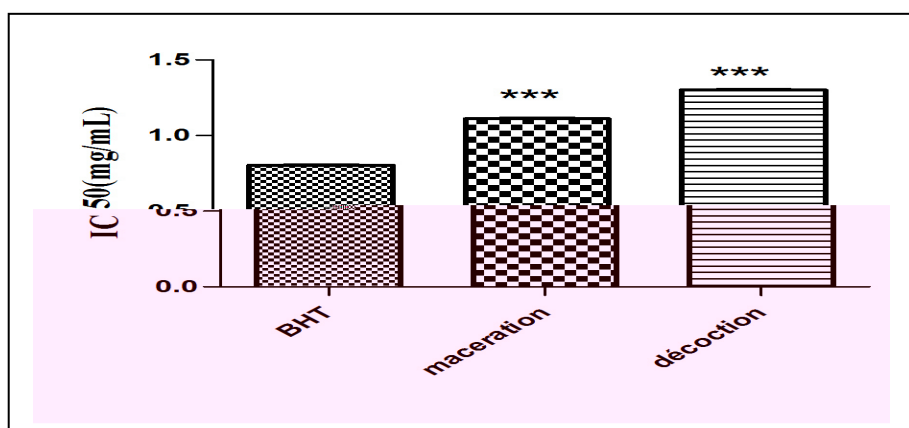


Figure 24 : Histogramme de comparaison des résultats des IC₅₀ % du DPPH.

La capacité antioxydante la plus élevée correspond à la valeur d'IC₅₀ la plus faible. Les résultats obtenus dans la figure 24 montrent que les deux extraits par macération et décoction ont montrés une activité antioxydante inférieure à celle du BHT.

Nos résultats aussi indiquent que notre extrait possède un pouvoir antioxydant important par apport à celui trouvés par **Kraza lamia .,(2021)** sur la même plante dans une région déférente et a' celui trouvés par **Bousoualim., (2014)** 336,58 µg/ml Cette différence peut être expliqué par le fait que le potentiel antioxydant des extraits dépend non seulement de la concentration des polyphénols mais aussi de leur structure ; c'est le concept de la« relation structure-activité » et de leur qualité de ces composés polyphénoliques (**Rached, 2009**).

A partir de ces comparaisons, on conclue que l'activité antioxydante puissante de l'extraits de feuilles de *glubularia alypum* peut être attribuée principalement à la teneur en composés phénoliques, en raison de leurs groupes hydroxyle, et / ou aux flavonoïdes qui

réagissent avec le radical DPPH lors du don d'atomes d'hydrogène aux radicaux libres (**Calliste et al, 2001**), alors qu'il est extrêmement positif. la corrélation entre le contenu phénolique total et l'activité antioxydante a été établie dans le cas de nombreuses espèces végétales (**Juan et Chou, 2010; Khasawneh et al, 2011**).

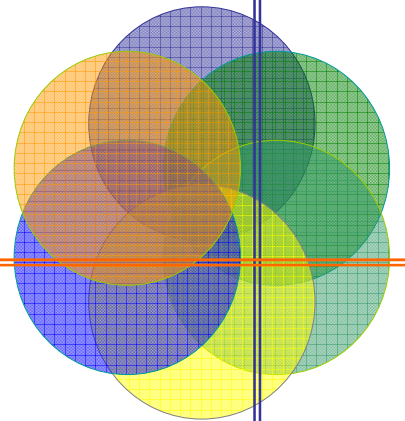
De cette comparaison, on peut déduire que les extraits ayant des teneurs élevées en phénols totaux ne sont pas forcément ceux qui ont le pouvoir antiradicalaire le plus important. C'est le cas, par exemple, des extraits aqueux, car malgré la forte proportion en phénols totaux dans ce dernier, il a enregistré une faible activité antiradicalaire. Nous pouvons donc envisager que l'extrait aqueux a perdu quelques principes actifs suite à la chaleur qui auraient pu donner plus d'efficacité sur la neutralisation du radical DPPH (**Lafka et al., 2007**).

Cette activité peut dépendre de nombreux facteurs tels que la concentration en antioxydants et le type de plante. La capacité antioxydante des échantillons dépend fortement des conditions de manipulation appliquées lors des tests in vitro (**Lahmar et al., 2017**).

Pour ce qui est de *Globularia alypum* L, l'extrait méthanolique est également le plus actif avec une IC_{50} égale à 0.45 mg/ml qui est supérieure à celle obtenue par **Khlifi, (2011)** ($IC_{50} = 15,58$ mg/L).

L'activité antioxydante et la quantité de polyphénols d'un extrait sont deux paramètres qui dépendent fortement des conditions opératoires de l'extraction, de la nature et de la polarité du solvant et en particulier de la matière végétale (**Bousoussa., 2016**).

CONCLUSION



Conclusion :

L'importance des plantes aromatiques et médicinales connaît un grand développement durant les dernières années, pour répondre aux besoins de l'industrie pharmaceutique, sans cesse en expansion.

Dans le présent travail, il a été procédé à une enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales d'usage antidiabétique dans la daïra de Bouira et de Bordj okhriss, orientant le choix vers l'étude de l'espèce *Globularia alypum* L en s'intéressant à la teneur en composés phénoliques de l'extrait aqueux de ses feuilles, et au test de son activité antioxydante par la méthode du DPPH.

Les teneurs en composés phénoliques étaient respectivement **125,51 ± 1,31** ug EAG/mg d'extrait par macération, et **140,87 ± 01.52** ugEAG/mg d'extrait par décoction.

La teneur en flavonoïdes des feuilles de *Globularia alypum* L par macération et décoction sont respectivement **06.54±0.04** ug Eq Q/mg E sec et **8.09±0.79** ug Eq Q/ mg E sec.

Les teneurs en tannins des feuilles de notre plante par macération et décoction sont respectivement **28.87 ±1.85** ug Eq C/mg d'extrait sec et **36.12 ± 1.32** ug Eq C/ mg d'extrait sec.

D'autre part, l'étude du potentiel antioxydant effectué par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, a montré que les extraits exhibent un pouvoir antioxydant important. Dans la présente étude, la mesure de l'activité antioxydante par la méthode au DPPH exprimée en pourcentage d'inhibition (PI%) révèle une corrélation positive entre l'activité antioxydante et la teneur en composés phénoliques. La cinétique de l'activité antioxydante de l'extrait de *Globularia alypum* L a permis de déterminer des valeurs d'IC₅₀ des deux extraits obtenus par macération et décoction qui sont respectivement de **1,1 mg /ml** et **1,3 mg/ml**. ces valeurs sont relativement faibles par rapport à celle du BHT (IC₅₀= **0,8 mg/ml**).

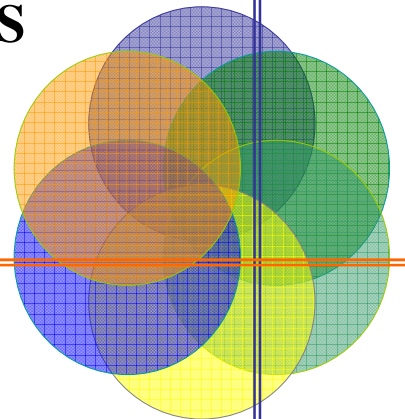
Ces résultats préliminaires ouvrent des perspectives vers des études plus approfondies et loin d'être exhaustive, il serait conseillé de poursuivre cette étude, et pour ce faire, il serait intéressant d' :

- Inclure d'autres paramètres, notamment inhérents à la plante, pour l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques (d'autres variétés, plantes d'autres régions, d'autres périodes de cueillette...).
- Etudier les possibles activités biologiques de ces extraits telle que l'activité antidiabétique in vitro.

- Isoler et doser les fractions poly phénoliques responsables de ces activités et faire la séparation et identification des composés actifs de la plante par des techniques d'analyse avancées (HPLC), et étude de leur toxicité.
- Elargir le spectre de l'activité antioxydante *in vitro* et *in vivo*.
- Orienter la recherche vers les autres parties de la plante.
- Envisager la formulation d'un éventuel médicament à base de la plante.

Les plantes médicinales et leurs utilisations diverses peuvent jouer un rôle important dans l'économie, et surtout dans les pays en voie de développement, d'où la nécessité d'une meilleure prise en charge de ce patrimoine (étude, culture, protection...). De ce fait, les travaux sur la chimie de ces plantes aux niveaux des universités et des institutions doivent être encouragés pour mettre en évidence la spécificité de ces plantes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



Références bibliographiques

- 1- **Abdiche ,et Guergour ,H .,(2011) .** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne d'une plante médicinale *Rhannus alatermus* de la commune de larbaatache (wilaya de boumerdesà. Mémoire de master biologie des populations et des organismes.université de boumerdes p3.
- 2- **Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L. A., Favela-Torres E., Aguilar C N., (2008) .** Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 78, 189- 199.
- 3- **Aniszewski, T.** Alkaloids: chemistry, biology, ecology, and applications: Elsevier. (2015).
- 4- **Anne-Sophie Nogaret-Ehrhart, (2003) .** la phytothérapie se soigner par les plantes group Eyrolles,2003,ISBN 2-7081-3531-7.Suisse,P :25-30.
- 5- **Asres, K., Seyoum, A., Veereshan, C., Bucar, F. & Gibbons, S. (2005).** Naturally derived anti HIV agents. *Phytother. Res*, 19, 557-581.
- 6- **Atefeibu, E.S.I. (2002)** contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'Acaci Nilotica Var Andesonii. Thèse de doctorat,université cheikh Anta Diop de Dakar.33p .
- 7- **Baba Aissa F. (2011).** Encyclopédie des plantes utiles. Flore Méditerranéenne (Maghreb, Europe méridionale), Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. El Maarifa, 171.
- 8- **Bahlil Yasmina et al, (2010) ;** Effet d'un extrait aqueux de *Globularia alypum* sur le profil lipidique et le statut redox chez les rats soumis à un régime enrichi en fructose ; Thèse de doctorat ; Université d'Oran 1-Ahmed Ben Bella .
- 9- **Bahorun T. (1997).** Substances Naturelles Actives : La Flore Mauricienne, Une Source d'approvisionnement potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council. Thèse de doctorat de l'université de l'île Maurice. pp: 83-94.
- 10- **Bamforth C.W.,(1999) **Berr haze** ,** dans *journal of the american society of Brewing chemists* ,vol. 57 ,n0 81-90.

- 11- Barreteau D., dognin R. et Von graffenried c. (1997).** l'Homme et le milieu végétal dans le bassin du lac tachad .Ed .ORSTOM, paris ,394p.
- 12- Beloude A., (2001) .**MEDICINAL PLANT IN ALGERIA.UNIVERSITY PUBLICATIONS OFFICE, ALGIERS, ISBN: 9961.0.0304.4, pp: 277.
- 13- Benhamza louiza .(2008).** Doctorat d'état en sciences vétérinaires option ANATOMIE PATHOLOGIQUES /PHARMACOLOGIE.
- 14- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A. & Del Rio, J.A. (1997).** Uses and properties of *Citrus* flavonoids. *J. Agric. Food Chem*, 45, 4505-4515.
- 15- Berg, P.A., Daniel, P.T., 1988.** Plant Flavonoids in Biology and Medicine II. Progress in Clinical and Biological Research, Cody V, Middleton E, Harborne JB (Eds) 280, Liss AR Inc., New York, pp 157- 171.
- 16- Bhat S.V., nagasampigi b.a. Et sivakumar m.; (2005);** chemistry of natural products; ed 1: narosa, springer; p: 115-252.
- 17- Bitsindou M .(1986).** Enquête sur la phytothérapie traditionnelle à Kindamba et Odzala (Congo) et analyse de convergence d'usage des plantes médicinales en Afrique centrale Mem. Doc (ined.). Univ. Libre de Bruxelles.
- 18- Boizot, N Charpentier, J.P.(2006).** méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers,prairiaux et aquatiques ,le cahier des techniques de l'INRA 79-82.
- 19- Bouakaz I, (2006) .**Etude phytochimique de la plante *genistamicrocephala* .
- 20- Bouhadjra K. 2011.** Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge (Doctoral dissertation, UMMTO).P13-15.
- 21- Bourgou S., Ksouri R ., Bellila A ., Skandrani I., Falleh H et Marzouk B. (2008).** Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots, *C. R. Biologies*. 331. pp: 48–55.

- 22- Bousoualim, N. (2014).** Activités biologiques de plantes médicinales : *Anchusa azurea* Mill et *Globularia alypum* L. Soutenue (Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas Sétif ; 136).
- 23- Boussoussa H. (2016).** Étude phytochimique et activités biochimiques des extraits phénoliques de l'espèce *Rhanterium adpressum*, (Doctoral dissertation, L'École Normale Supérieure de Kouba-Alger ; 185).
- 24- Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S et Mc Analley B. (2003).** Étude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyco Science & Nutrition*. 4. 7p.
- 25- Bragazza, L., & Freeman, C. (2007).** High nitrogen availability reduces polyphenol content in *Sphagnum* peat. *Science of the Total Environment*, 377(2-3), 439-443.
- 26- Bruneto j. ; (1999).** pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. techniques et documentations. 3ème ed lavoisier. paris ,199-388.
- 27- Brunton j(2009).** pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 4ème ed lavoisier, paris, 1288).
- 28- Budic-Letoc, I., Lovric, T., Pezo, I. & Klujuzuric, J.G. (2005).** Study of dynamics of polyphenol extraction during traditional and advanced maceration processes of the babic grape variety. *Food Technology and Biotechnology*, 43(1), 47- 53.
- 29- Calliste, C.A., Trouillas, P., Allais, D.P., Simon, A. & Duroux, J.L. (2001).** Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (7), 3321–3327.
- 30- Chang, C., Yang, M., Wen, H. & Chern, J. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Analysis*, 10, 178-182.
- 31- Charles DJ., 2013.** Natural Antioxidants. Chapitre 3. Dans: Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. New York. Springer Science+Business Media. pp. 39-64.
- 32- Cheng J-C., Bo Zhou F-D., Yang L., Liu Z.L., (2007).** Antioxidant activity of hydroxycinnamic acid derivatives in human low density lipoprotein: Mechanism and structure–activity relationship. *Food Chemistry*. 104: 132–139.

- 33- Chograni, H., Riahi, L., Zaouali, Y., & Boussaid, M. (2013).** Polyphenols, flavonoids, antioxidant activity in leaves and flowers of Tunisian *Globularia alypum* L. (Globulariaceae). *African journal of ecology*, 51(2), 343-347.
- 34- Cowan, M.M (1999)** .plant products as antimicrobial agents.clinical microbially reviews., 12(4),564-570.
- 35- Crozier, A., Jaganath, I.B, clifford, M.N.(2009).** Dietaryphenolics: chemistry, bioavailability and effects on health .Nat. prod.rep, 26(8).1001-1043p.
- 36- Cornwell, T., Cohick, W., & Raskin, I. (2004).** Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry*, 65(8), 995-1016.
- 37- Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G, (2000).** Natural Products (Secondary metabolites). In: Buchanan B., Gruijssem W, Jones R. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. USA .p.1250-1318.
- 38- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- 39- Elgharras H. 2009.** Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(12): 2512–2518.
- 40- Erlund I. (2002).** Chemical analysis and pharmacokinetics of flavonoids quercetin, hespertin and naringenin in humans. Department of health and functional capacity, national public health institute, University of Helsinki (Finlande). pp: 1-92.
- 41- Es-Safi, N. E., Kollmann, A., Khlifi, S., & Ducrot, P. H. (2007).** Antioxidative effect of compounds isolated from *Globularia alypum* L. structure–activity relationship. *LWT- Food science and technology*, 40(7), 1246-1252.
- 42- Faller, A. L. K., & Fialho, E. F. N. U. (2010).** Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of food composition and analysis*, 23(6), 561-568.
- 43- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1985).** Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the World Health Organization*, 63(6), 965.
- 44- Favier A. (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. pp: 108-115.

- 45- Fehri, B., Aiache, J. M., & Ahmed, K. M. (2012).** Active spermatogenesis induced by a reiterated administration of *Globularia alypum* L. aqueous leaf extract. *Pharmacognosy research*, 4(3), 138.
- 46- Ferrazzano, G.F., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli A., Pinto, G., Pollio, A., 2011.** Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules*, 16, pp 1486-507.
- 47- Fettah, A. (2019).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoïdes* de la région Beni Souik, Biskra (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra ; 156).
- 48- Fleurentin J.(2008).** *L'ethnopharmacologie au service de la thérapeutique : sources et méthodes.* Biofutur. Juil/Août 2008 ; n° 290 : 28-31.
- 49- Fleuriet ,A .,JAY-ALLEMANDE ,C. ,et MACHEIX ,j.j., 2005.**composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'ampotence économiques .presses polytechniques et universitaires romandes,121-216p.
- 50- Ghedira K. (2005).** Les flavonoides : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois thérapeutique. *Phytothérapie*. **4**. pp: 162-169.
- 51- Ghnimi, W. (2015).** Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase (Doctoral dissertation, Université de Lorraine ; 244).
- 52- Geissmann, T.A., Hinreiner, E.(1952):**Theories of biogenesis of flavonoid compounds. *Botanical Review*, 18 : 77-244.
- 53- Guignard, J.L. (2000).** Les composés aromatiques In : *Biochimie végétal. Ed : Dunod.* 161-217.
- 54- Guillard, C. (2011).** Photo- vieillissement: Photo protection par application des antioxydants, *Rapport de Master de l'université de Rennes 1, option Biologie Gestion.* 59 p.
- 55- Hadi M. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro- oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur
Domaine : *Pharmacochimie*. 155p.

- 56- Hamitouch,, (2007).** LES PLANTES ME'DICINALES D'ALGE'RIED.O PU ,ALGER-277.
- 57- Haslam, E., (1994).** Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. Nat. Prod., 11, pp 41-66.
- 58- Heilerová L., Bučková M., Tarapčík P., Šilhár S et Labuda J. (2003).** Comparison of Antioxidative Activity Data for Aqueous Extracts of Lemon Balm (*Melissa officinalis L.*), Oregano (*Origanum vulgare L.*), Thyme (*Thymus vulgaris L.*), and Agrimony (*Agrimonia eupatoria L.*) obtained by Conventional Methods and the DNA-Based Biosensor. *Czech J. Food Sci.* 21. pp: 78-84.
- 59- Heller, W. & Forkmann, G. (1993).** The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 399-425.
- 60- Himed L., 2011.** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Citrus limon : application à la margarine. ED mémoire de magister. Université Mentouri I.N.A.T.A.A.
- 61- Hodek, P., Trefil, P. & Stiborov, A. M. (2002).** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact*, 139, 1–21.
- 62- Holmstedt B.& Bruhn J.G. 1983** – Ethnopharmacology a challenge *Journal of Ethnopharmacology* 8 :251-256. DOI : 10.1016/0378-8741(83)90062-4.
- 63- Hordé p/ le journal des femmes santé .pharmacologie-définition (en ligne) .France .(2013).** Disponiblesur :<http://fr.santemedecine.journaledesfemme.com/faq/22262-pharmacologiei-définitions>.
- 64- Jeun et J.M., ANNIF et Chrystian, j .L. (2005)** Les composés phénoliques des végétaux, 203-204p.
- 65- Jensen R., (2002).** Clinical Presentation of Arterial Thrombosis vs. Venous Thrombosis. Clinical Hemostasis Review. 16(8), 1-6.
- 66- Jerez M., Pinelo M., Sineiro J et Núñez M. J. (2006).** Influence of extraction conditions on phenolic yields from pine bark: assessment of procyanidins polymerization degree by thiolysis. *Food Chemistry*. 94. pp: 406–414.

- 67- Jouad, H.,** Maghrani, M., & Eddouks, M. (2002). Hypoglycaemic effect of *Rubus fruticosus* L. and *Globularia alypum* L. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(3), 351-356.
- 68- Juan, M.Y. & Chou, C.C. (2010).** Enhancement of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of black soybeans by solid state fermentation with *Bacillus subtilis* BCRC 14715,” *Food Microbiology*, 27(5), 586–591.
- 69- Judde A. (2004).** Prévention de l’oxydation des acides gras dans un produit cosmétique: mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications ? 11. pp: 414-4183.
- 70- Kada, S. (2018).** Recherche d’extraits de plantes médicinales doués d’activités biologiques (Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas Sétif ; 172).
- 71- Kansole M.M.R. 2009.** Etude ethnobotanique, phytocuimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucasmartinicansis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposstavahl* et *Orthosiphonpallidusroyle* ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme d’Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- 72- Khaldi, A., Meddah, B., Moussaoui, A., Benmehdi, H., & Gouri, S. (2012).**Screening phytochimique et effet antifongique de certains extraits de plantes sur le développement in vitro des moisissures. *European Journal of Scientific Research*, 80(3), 311-321.
- 73- Khantouche Linda, Abderabba Manef. (2018).** IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT) e-ISSN: 2319-2402, p- ISSN: 2319-2399. Volume 12.
- 74- Khasawneh, M. A., Elwy, H. M., Fawzi, N. M., Hamza, A. A., Chevidenkandy, A. R., & Hassan, A. H. (2011).** Antioxidant activity, lipoxygenase inhibitory effect and polyphenolic compounds from *Calotropis procera* (Ait.) R. Br,” *Research JournalPhytochemistry*, 5(2), 80–88.
- 75- Khlifi, D., Hamdi, M., Hayouni, A. E., Cazaux, S., Souchard, J. P., Couderc, F., & Bouajila, J. (2011).** Global chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis activities of various extracts of *Globularia alypum* L. (Globulariaceae) leaves. *Molecules*, 16(12), 10592-10603.

- 76- Kintzios S. E.& Barberaki M. G. (2004).** Plants that Fight Cancer. CRC Press, Beth Budny, USA.P: 93.)
- 77- klaas, C.A.,WAGNER G .,LAUFER S.,SOSA S., LOGGIA R.D., BOMME U., PAHL H.L. and MERFORT I., (2002)-**studies on the anti-inflammatory activity of phtopharmaceuticals prepared form arnica flowers .*planta med*,68:385-391.
- 78- Kraza lamia ;(2020)** Evaluation de l'activité antioxydante, antimicrobienne et antidiabétique des composés phénoliques d'une plante médicinale *Globularia alypum* L. dans la région de Laghouat ; Thèse de doctora ; Université Larbi Ben M'hidi Oum El-Bouaghi .
- 79- krifh,S.,(2003)** .métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat ,muséum national d'histoire naturelle,32p.
- 80- Kundu J.K. and Surh Y. (2008).** Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol: Mechanistic perspectives. *Cancer Letters*, 269(2): 243– 261.
- 81- Lafka, T. I., Sinanoglou, V., & Lazos, E. S. (2007).** On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food chemistry*, 104(3), 1206-1214.
- 82- Lahmar, I., Belghith, H., Ben Abdallah, F. & Belghith, K. (2017).** Nutritional Composition and Phytochemical, Antioxidative, and Antifungal Activities of *Pergularia tomentosa*. *LBioMed Research International*, 9, 1-9.
- 83- Leila SMAIL, Sihem BERDJA, Saka BOUALEM, Samia NEGGAZI, Saliha BOUMAZA, Ghouti KACIMI, Lynda BOUDARÈNE, Souhila AOUICHAT BOUGUERRA. (2017).** Therapeutic effect of aqueous extract of *Globularia alypum* following in vitro insulin induced toxicity on *Rattus norvegicus* cardiomyocytes. *Nutr Santé*; Vol. 06. N°01:27-35.
- 84- Leporatti, M. L., & Ghedira, K. (2009).**Comparative analysis of medicinal plants used in traditional medicine in Italy and Tunisia.*Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 5(1), 18.
- 85- Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F. & Tian, Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chimestry*, 102, 771-776.

- 86- Litim, A. (2012).** Biodiversité et ethnobotanique dans le parc national Belezama(Batna).mémoire de master : option gestion des systèmes écologiques protégé .sétif.université ferhat abbas ,21 p.
- 87- Macheix J. J., Fleuriet A., Jay-Allemand C, (2005).** Les composés phénoliques des Végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses Polytechnologiques et universitaires romandes, vii .
- 88- Malan D.F. (2016).** Ethnobotanique quantitative. Eléments de réflexion. Licence III Botanique et Phytothérapie. Université NANGUI ABROGOUA UFR SN. 23 P.
- 89- Malaisse, F.(2004).** Ressources alimentaires non convetionnelles ,tropicultura ,2004 ,SPE ,30-36.
- 90- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L., (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition. 79, 727-747.
- 91- Markham, K. R. (1982).** Techniques of flavonoid identification (Vol. 36). London: Academic press, 347.
- 92- Martone P., Estevez , J., Lu F., Ruel K., Denny M., Somerville C., Ralph J. (2009).** Discovery of Lignin. Current biology, 19(2): 169–75.
- 93- Meddour A., Yahia M., Benkiki N. et Ayachi A., (2013).** Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du Capparis spinosa, Lebanese Science Journal ; 14 (1), 49-60.
- 94- Michel, T., Destandau, E., & Elfakir, C. (2011).** Evaluation of a simple and promising method for extraction of antioxidants from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides L.*)berries: Pressurised solvent-free microwave assisted extraction. *Food Chemistry*, 126(3),1380-1386.
- 95- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin. Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219.
- 96- Monographie.de.la.wilaya.de.Bouira.(2011)** www.google.com.https://www.google.cbo uira2011.skyrock.com.

- 97- Monteiro M, Farah A, Perrone D, Trugo LC, Donangelo C., (2007).** Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans. *Journal of Nutrition*. 137, 2196-2201.
- 98- Monties B., Marine-Font A., Douillard, R., (1969).** Propriétés spectroscopiques des polyphénols. *Ann Physiol Vég.* 11(4), 313-339.
- 99- Morel Y, Barouki R.** Répression de l'expression génique par le stress oxydatif. *Biochem J* 1999; 342 : 481–96.
- 100- Moreau B., (2003)** Maître de conférence de pharmacognosie a' la faculté de pharmacie de Nancy .travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.
- 101- Nagata T., Hayatsu M., Kosuge N., (1992).** Identification of aluminium forms in tea leaves by Al NMR. *Phytochemistry*. 31(4), 1215-1218.
- 102- Ngom, S., Diop, M., Mbengue, M., Kornprobst, J. M., & Samb, A. (2014).** Composition chimique et propriétés antibactériennes des huiles essentielles d'Ocimum basilicum et d'Hyptis suaveolens (L.) Poit récoltés dans la région de Dakar au Sénégal. *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10(4), 109-117.
- 103- Nicolas Gutierrez C. (2019)** .Brevet publié par Science and Avenir, le 14 Aout 2019.
- 104- Nkhili, E. Z. (2009).** *Polyphenols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant.* (Doctoral dissertation, Université Cadi Ayyad-Marrakech; 378).
- 105- Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., & Delikanli, B.(2014).** Phenolics in human health. *International Journal of chemical engineering and applications*, 5(5), 393.
- 106- Oyedmi S O, Afolayan A J. 2011.** In vitro and in vivo Antioxidant Activity of Aqueous Leaves Extract of Leonotis (L.) R.Br, *International Journal of Pharmacology*, 7(2) :248-256.
- 107- Pacifici F., Arriga R., Sorice G.P., And Al.(2014).** Peroxiredoxin 6, A Novelpayer In The Pathogenesis Of Diabetes ; 63: 3210-3220.

- 108- **Parage C (2013)** Genomique fonctionnelle de la biosynthèse des stilbenes chez la vigne (*Vitis vinifera*) These de doctorat. Université de Strasbourg. 2013.
- 109- **Paris M et Hurabielle.(1981).** Abrégé de matière médicale .pharmacognosie.tome 1. Ed Masson.paris.pp :102-103-104-107.
- 110- **Pastre. j. (2005).** Intérêt de la supplementations en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques.110 pages .THESE de doctorat. Université Paul-Sabatier de Toulouse p. France.
- 111- **Paul iserin,, (2001) Larousse encyclopédie des plantes médicinales :** identification, préparations, soins. 2eme édition. Hong Kong. Édition Larousse 2001 VUEF.
- 112- **Pelt J., M.(1980) .** Les drogues. Leur histoire, leur effet, Ed .Doin ,1980.
- 113- **Peronny,S.(2005).** La protection gustative et la consommation des tannins chez le maki (lemur catta).thèse de doctorat .muséum national d'histoire naturelle ,France.151p.
- 114- **Pillou, F (2014).** « Radicaux libres – Définition», Journal des Femmes.
- 115- **Piquemal, G. (2008).** Les flavonoides (en ligne): <http://www.detoursante.com/index.php>.
- 116- **Popovici, C., Saykova, I. & Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.
- 117- **Portéres R.l'ethnobotaniques :place- Objet – méthode-philosophie.**journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée .2016 Mar 30 ;8(4-5) :102-109.
- 118- **Prescrire., (2007)** bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial été, T.27, n 286.
- 119- **Puppo, A et Halliwell, B (1988).** «formation for hydroxyl radicals from hydrogen• peroxide inthe presence of iron. Is haemoglobin a biological fentonreagent »,J Biochemistry, n°249, p. 185-9

- 120- **Quezel, P., & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).
- 121- **Quintin J., de Laurens et Bardouin J. (2006).** La plante, cette usine chimique en miniature, *Agrobiosciences*. 3p.
- 122- **Rached, W. (2009).** Évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Mémoire de Magister en Biologie. Université d'Oran Es-Sénia. 122 p.
- 123- **Ribereau- Gayon, D.,**les composé phénoliques des végétaux .paris ,254 p.
- 124- **Richter G., 1993 -** Métabolisme des végétaux, Physiologie et biochimie. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 526 p.
- 125- **Samia aouadhi.,(2015).** Mémoire de master en toxicologie : Atlas des risques de la phytothérapie rationnel étude de 57 plantes recommandées par les herboristes .par Samia aouadhi faculté de médecine de Tunis –master spécialisé en toxicologie.
- 126- **Sanogo, F. Traoré, A. Djimdé, D. Lassana, A. Maiga, D. Diallo, O. Doumbo,** Formulation de sirops antipaludiques à base d'extraits de *Argemone mexicana*, Pharmacopée Médecine Tradit. Afr. 16 (2012). <http://publication.lecames.org/index.php/pharm/article/view/22> (accessed August 11, 2017).
- 127- **Sarni-Manchado, P., Cheynier V., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire, (Ed.) Lavoisier (Tec &Doc), Paris, pp 300-398.
- 128- **Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C. & Jimenez L. (2005).** Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 287-306.
- 129- **Sebai M., Boudali M., (2012)** .les plantes médicinales en Algérie .coédition bouchéne et diwan, alger, 180p.
- 130- **Seidel V. (2005).** Initial and Bulk Extraction. *In*: Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. Humana Press (Totowa), 27-37.
- 131- **Shih, C.M., Lin, H., Liang, Y.C., et al. 2004.** Concentration-dependent differential effects of quercetin on rat aortic smooth muscle cells. *Eur. J. Pharmacol.*, 496, pp 41-8.
- 132- **Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003).** Polyphenolics in grape seeds, biochemistry and functionality. *Journal of medicinal food*, 6(4), 291-299.

- 133- **SOCIETE FRANCAISE D'ETHNOPHARMACOLOGIE.** Colloque. Médicaments et aliments, approche ethnopharmacologique: I^{le} colloque. Heidelberg, Allemagne : Orstom, (1996).
- 134- **Sophia jortie., (2015).** La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. (Thèse). Fort de France. Université de bordeaux 2. 2015.
- 135- **Spigno G., Tramelli L. et De Faveri D. M. (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*. **81**. pp: 200-208.
- 136- **Taghzouti, O. K., Balourib, M., Ouedrhric, W., Chahadd, A. E., & Romanea, A. (2016).** In vitro evaluation of the antioxidant and antimicrobial effects of *Globularia alypum* L. extracts. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7, 1988-1.
- 137- **Tahraoui A., El-Hilaly J., Israili Z.H. et al. 2007.** Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province), *Journal of Ethnopharmacology*, 110, 105–117.
- 138- **TAHRI N., EL BASTI A., ZIDANE L., ROCHDI A. et DOUIRA A., 2012 -** Etude Ethnobotanique Des Plantes Medicinales Dans La Province De Settat (Maroc). *Journal of Forestry Faculty*, 12(2) : 192-208.
- 139- **Touaibia, M., & Chaouch, F. Z. 2016.** Global chemical composition and antioxidativ effect of the ethanol extracts prepared from *Globularia alypum* leaves. *Nature &Technology*, (14), 2.
- 140- **Tsuchiya, H., Linuma, M., 2000.** Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*, *Phytomedicine*, 7, pp 161-165.
- 141- **Urakawa H., Katsuki A., Sumida Y., Gabazza E C., Murashima S., Morioka K., Maruyama N., Kitagawa N., Tanaka T., Hori Y., Nakatani K., Yano Y., Adachi Y.2003.** Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, vol 88,n°10, p. 4673- 4676 .
- 142- **Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T. D., Mazur M. et Telser J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. **39**. pp: 44–84.

- 143- **Van Acker,S.,Van Balen,G.P.,Van Den,Berg D.J,Van der,Vijgh w.j.f.(1996).**influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids.biochem.pharmacol,56,935-943.

- 144- **Vârban D.I., Duda M., Vârban R., et Muntean S., (2009).** Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis L.* Culture.Bulletin UASVM Agriculture; 66(2), 225- 229.

- 145- **Vermerris, W. & Nicholson, R. (2006).** Phenolic compound Biochemistry, *Springe* . Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB). 284 p.

- 146- **Villano, D., Fernandez-Pachon, Ms., Moya, Ml., Troncoso, Am. & Garcia-Parilla, Mc. (2007).** Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical.*Talanta*, 71, 230–235.

- 147- **Xiaorui Zhang.(2000).** Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. OMS 2000 Disponible sur:https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/fr.

- 148- **Youdim K.A.,Spencer J.P.,Schroeter H.,Rice-Evans C.(2002).**Dietary flavonoids as potential neuro protectants.Biolo .Chem., 383(3-4),503-19.

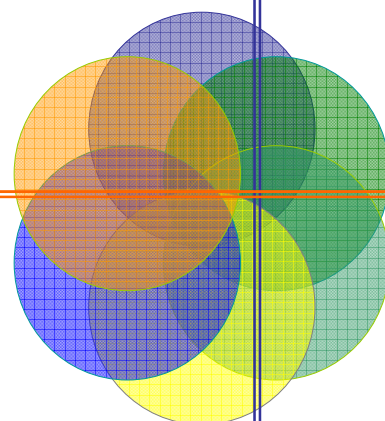
- 149- **Wassmann S., Wassmann K et Nickenig G. (2004).** Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*. 44. pp: 6-381.

- 150- **Wichth M et Anton R. (2003).** Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2^e Ed TEC et DOC. pp: 523-525.

- 151- **Wolff SP, Jiang ZY, Hunt JV (1991):** Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. *Free Radic Biol Med* 1991, 10(5):339-352.

- 152- **Wu, J., Liu, Y., Tang, L., Zhang, F., Chen, F., 2011.** A study on structural features in early flower development of *Jatropha curcas L.* and the classification of its inflorescences. *African J. Agric. Res.*, 6. pp 275.

Annexe



FICHE ENQUETE ETHNOBOTANIQUE

Fiche No :.....

1. Quelle sont les plantes les plus utilisées pour le traitement des maladies chroniques

✓ Diabète

Caractéristiques ethnobotaniques de la plante

Nom locale

La source ☐ local ☐ importé

2. La partie utilisée :

☐ Feuille ☐ la tige ☐ racine ☐ graine ☐ fruit ☐
écorce (لحاء) ☐ fleur ☐ plante entière ☐ Partie aérienne ☐ autre.....

Plante seule ? ☐ association possibles (de plantes)
.....
.....

3. Quand doit-on récolter ?

4. Mode d'utilisation :

☐ Infusion منقوعة في ماء ساخن ☐ Décoction مغلى ☐ macération منقوعة في ماء بارد ☐
cuit مطبوخة
☐ autre

5. En cas de décoction ou d'infusion quelle est la durée correspondante ?

.....

6. Dose utilisée

☐ poignée ☐ cuillerée ☐ autre

Dose précise :

1. Quantité g en verre

2. Quantité g en litre

3. Autres

7. Quantité consommée en une prise ?

☐ verre d'eau ☐ verre de thé ☐ verre de café ☐ autre

8. La posologie (nombre de prise par jour) :

1 fois / jour ☐ 2 fois / jour ☐ 3fois/jour ☐ autre.....

Consommez-vous ces préparations ?

à jeun ☐ avant repas ☐ après repas ☐ aléatoirement ☐

9. Durée de traitement :

Un Jour ☐ une semaine ☐ un mois ☐ jusqu'à la guérison ☐