

**République Algérienne Démocratique Et Populaire**  
**Ministère De l'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique**  
**Université Mohamed Boudiaf - M'sila**

Faculté des sciences  
Département de Microbiologie & Biochimie  
N°:.....



**Domaine :** Science de la nature et de la vie  
**Filière:** Sciences Biologiques  
**Spécialité:** Biochimie appliquée

**Mémoire présenté pour l'obtention**  
**Du diplôme de Master Académique**

**Par**  
**LEMLOUMA Manel**  
**KHIRANI Messaouda**

**Intitulé**

**Etude de stratégies d'évaluation des effets**  
**thérapeutiques des plantes médicinales**  
*in vitro et in vivo*

**Soutenu devant le jury composé de :**

M <sup>me</sup> BOUAZIZ Samia	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Présidente
M <sup>me</sup> BISSET Seghira	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Rapporteur
M <sup>me</sup> BOUHEDA Amina	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examinatrice

**Année universitaire : 2021 /2022**

## **Remerciements**

*Avant tout, nous devons remercier **Allah** le tout-puissant pour toutes les bénédictions, pour la bénédiction de la force, la patience, et le défi à tous les obstacles qui nous avons rencontré*

*Nous avons également remercié **Allah** pour ce genre de manutention permanente avec générosité que nous avons reçu d'une personne très spéciale, en plus le sérieux de travail, qui était en même temps plein d'amusement et de confort avec lui, notre encadreur **M<sup>me</sup>BISSETseghira**, pour avoir bien voulu superviser ce modeste travail et donner de son temps à la réussite de ce projet.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leur proposition.*

*Enfin, nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui auront contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.*

**Manel**

**Messaouda**



**Dédicaces**

*Je dédie ce mémoire*

*À mes chers parents Djamilia & Ziane*

*À mon mari et mes filles Line & Maria*

*À mes frères et mes sœurs*

*À tous mes amis.*

***Khirani messaouda***





Dédicaces

*Avec beaucoup de respect, je dédie ce modeste travail*

*A mon cher papa pour ses longues années de sacrifices et de  
privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

*A ma chère maman pour son amour, son soutien, tous les sacrifices  
consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence  
dans ma vie.*

*A mes adorables frères, mes sœurs et toute ma famille Lemsouma . mes  
copines*

*A mon encadreur : Sghira Bisset*

*A toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin à la  
Réalisation de ce travail ; je leur dis « Merci pour  
tout votre amour et votre affection ».*

*Manel Lemsouma*



## ملخص

النباتات الطبية هي مصدر ضخم من الجزيئات النشطة بيولوجيا مع العديد من الأنشطة. دراستنا توضح مفهوم النباتات الطبية بصفة عامة , المعالجة بالنباتات الطبية ، استعمالاتها، المكونات الرئيسية النشطة التي تحتوي عليها النباتات الطبية , مع صيغتها الكيميائية ومختلف طرق استخلاص المكونات الرئيسية النشطة. في هذه الدراسة النظرية تم التطرق ايضا الى طرق تقدير النشاطات البيولوجية لمستخلصات النباتات الطبية باستعمال العديد من النماذج. الحية منها وفي المخبر. بما في ذلك النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهاب، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للسرطان، النشاط المضاد للسكري.

تمتلك المكونات الرئيسية النشطة عدة أنشطة بيولوجية مختلفة وتلعب دورا معترفا به في الحفاظ على الحالة الصحية الجيدة.

**الكلمات المفتاحية :** النباتات الطبية, المعالجة بالنباتات الطبية, المكونات الرئيسية النشطة, طرق الاستخلاص, تقييم النشاطات البيولوجية

## **Résumé**

Les plantes médicinales constituent une source immense de molécules bioactives, dotées de nombreuses activités.

Dans cette étude théorique on a défini les plantes médicinales en général, la phytothérapie, l'utilisation des plantes médicinales, les principes actifs des plantes médicinales et leurs formules chimiques et les différents modes d'extractions des principes actifs.

On a également présenté les différentes méthodes utilisées pour l'évaluation des activités biologiques des extraits des plantes médicinales: activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, activité antimicrobienne, activité anticancéreuse, activité antiulcéreuse, activité antidiabétique.

Les principes actifs possèdent diverses activités biologiques et jouent un rôle reconnu dans le maintien d'un bon état de santé.

**Mots-clés:** Plantes médicinales ,phytothérapie, principes actifs, modes d'extractions, évaluation d'activités biologiques.

## **Abstract**

Medicinal plants are an immense source of bioactive molecules, endowed with numerous activities

In this theoretical study, medicinal plants in general, Phytotherapy, the use of medicinal plants, the active principles of medicinal plants and their chemical formulas and the different modes of extraction of the active principles have been defined.

The different methods used for the evaluation of the biological activities of medicinal plant extracts were also presented: antioxidant activity, anti-inflammatory activity, antimicrobial activity, anticancer activity, antiulcer activity, antidiabetic activity.

The active molecules have various biological activities and play a recognized role in maintaining a good state of health.

**Keywords:** Medicinal plants, herbal medicine, active molecules, extraction methods, evaluation of biological activities.

## Liste des Abréviations

- AAR:** Activité Antioxydante Relative
- ABTS:** Azinobis-(3éthylBenzothiazoline-6-Sulfonique)
- ASAT:** Aspartate Aminotransférase
- ALAT:** Alanine Transaminase
- BHT :** HydroxyTolueneButyle
- CMI:** Concentration Minimale Inhibitrice
- CO<sub>2</sub> :** Dioxyde de Carbone
- DMSO :** Diméthylsulfoxyde
- DPPH :** 1,1-DiPhényl-2-PicrylHydrazyl
- ELISA :** Enzyme LinkedImmunoSorbentAssay
- FCR :** Réactif de FolinCiocalteu
- FeCl<sub>3</sub> :** Chlorure Ferrique
- FRAP:** Réduction de l'ion ferrique
- IC50 :** Concentration Inhibitrice Médiane
- OMS :** Organisation mondiale de la santé
- OPC :** Oligomères ProcyanidoliquesCaroténoïdes
- PA :** Principes Actifs
- PI :** Pourcentage d'Inhibition
- PM :** Plante médicinale
- PMS :** phénazinéméthosulfate
- PP :** Pourcentage de protection
- PPT :** PolyPhénols Totaux
- PR:** Pouvoir Réducteur
- SFE:** Extraction par Fluide Supercritique
- SFME :** Solvent Free Microwave Extraction
- SOD :** Super Oxyde Dismutase
- TCs :** Tanins Condensés
- TNF- $\alpha$ :** Facteur de nécrose tumorale
- UI :** L'indice d'ulcère

## Listes des Figures

<b>Figure 1</b> : Séchage des plantes.....	6
<b>Figure 2</b> : Séchage a tige. ....	6
<b>Figure 3</b> :La conservation des plantes dans un papier carton. ....	7
<b>Figure 4</b> : Formule chimique de acide phénolique. ....	11
<b>Figure 5</b> : Formule chimique de flavonoïdes.....	11
<b>Figure 6</b> : Formule chimique de la lignine. ....	12
<b>Figure 7</b> : Formule chimique de tanins. ....	12
<b>Figure 8</b> : Formule chimique de coumarine. ....	12
<b>Figure 9</b> : Formule chimique de les anthocyanes. ....	13
<b>Figure 10</b> : Formule chimique d'alcaloïds. ....	13
<b>Figure 11</b> : Formule chimique de saponine. ....	14
<b>Figure 12</b> : Formule chimique d'huiles essentielles. ....	14
<b>Figure 13</b> : Méthode de Décoction. ....	20
<b>Figure 14</b> : Protocole schématisé du test WST-1. ....	34

## Sommaire

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

### **ChapitreI: Généralités**

<b>1. Généralités .....</b>	<b>3</b>
1.1. Les plantes médicinales .....	3
1.2. La phytothérapie .....	4
<b>2. Origine des plantes médicinales.....</b>	<b>4</b>
2.1. Les Plantes spontanées.....	4
2.2. Les Plantes cultivées.....	4
<b>3. Conditions optimales pour le meilleur des plantes .....</b>	<b>5</b>
3.1. La récolte.....	5
3.2. Le séchage .....	5
3.3 .Conservation et stockage .....	6
<b>4. Utilisation des plantes médicinales .....</b>	<b>7</b>
4.1. Avantages et efficacité de la phytothérapie .....	7
4.2. Inconvénients et limites d'utilisations de la phytothérapie .....	7

### **ChapitreII:Principes actifs des plantes médicinales**

<b>1. Principes actifs des plantes médicinales .....</b>	<b>10</b>
<b>2. Différents groupes des principes actifs.....</b>	<b>10</b>
2.1. Les Polyphénols .....	10
2.1.1. Les acides phénoliques .....	10
2.1.2. Les flavonoïdes .....	11
2.1.3. La lignine .....	11
2.1.4. Les tanins .....	12
2.1.5. Les coumarines .....	12
2.1.6. Les anthocyanes .....	13
<b>2. Alcaloïdes .....</b>	<b>13</b>
<b>3. Terpènes et stéroïdes. ....</b>	<b>13</b>
3.1. Les saponines .....	14

3.2. Huiles essentielles.....	14
-------------------------------	----

### **ChapitreIII: Préparation des extraits à la base des plantes médicinales**

<b>1. Définition d'extraction .....</b>	<b>19</b>
<b>2. Différents types d'extraction à partir des plantes.....</b>	<b>19</b>
2.1. Enflourage .....	19
2.2. Macération.....	19
2.3. Infusion .....	19
2.4. Décoction .....	19
2.5. Extraction par soxhlet .....	20
<b>3.Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....</b>	<b>20</b>
3.1 . Extraction par entraînement à la vapeur d'eau .....	20
3.1.1. Hydrodistillation.....	21
3.1.2. Hydrodiffusion .....	21
3.1.3. Expression à froid.....	21
3.2 Extraction par les solvants .....	22
3.3. Extraction assistée par micro-ondes .....	22
3.4. Extraction au CO2 (ou par fluide à l'état supercritique).....	22
<b>4. Screening phytochimique .....</b>	<b>23</b>
4.1. Analyse qualitative des extraits végétaux .....	23
4.1.1. Tests préliminaire .....	23
4.1.2. Méthodes chromatographiques .....	24
4.2. Analyse quantitative et dosages biochimiques.....	24
4.2.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT).....	24
4.2.2. Dosage des Flavonoïdeset tanins condensés (TCs).....	25

### **ChapitreIV:Evaluation des activités biologiques des plantes médicinales**

<b>1. Activité antioxydant .....</b>	<b>25</b>
1.1. Tests d'évaluation d'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	25
1.1.1. Test de DPPH.....	25
1.1.2. Test ABTS.....	25
1.1.3. Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) .....	26
1.1.4. Test du blanchissement du $\beta$ carotène .....	26
1.1.5. Test de chélation du fer.....	27
1.1.6. Test du pouvoir réducteur .....	27
1.2. Activité antioxydante <i>in vivo</i> .....	27
1.2.1. Dosage MDA (malondialdéhydes) .....	27
1.2.2. Dosage de l'activité catalase.....	28
1.2.3. Dosage de l'activité enzymatique Super Oxyde Dismutase (SOD).....	28

<b>2. Activité anti-inflammatoire.....</b>	<b>28</b>
2.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> .....	28
2.1.1. Test de stabilisation des membranes d'érythrocytes via l'induction d'hémolyse des globules rouges par hypotonie et par chaleur.....	28
2.1.2 Inhibition de l'activité des protéases .....	29
2.1.3 Méthode de dénaturation de l'albumine .....	29
2.2 Évaluation d'activité anti inflammatoire <i>in vivo</i> .....	30
2.2.1. Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris .....	30
2.2.2. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris .....	30
<b>3. Activité antimicrobienne .....</b>	<b>31</b>
3.1. Evaluation d'activité antimicrobienne .....	31
3.1.1. Méthode de diffusion.....	31
3.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice :31	
<b>4. Activité anti cancéreuse.....</b>	<b>31</b>
4.1. Evaluation d'activité anti-cancéreuse <i>in vitro</i> .....	32
4.1.1. Tests de cytotoxicité .....	32
4.1.2. Marquage des cellules par l'anticorps anti-PHH3.....	32
4.1.3. Incorporation de BrdU Les cellules.....	33
4.1.4. Test Alamar bleu .....	33
4.1.5. Test WST-1 .....	33
4.2. Evaluation d'activité anti cancéreuse <i>in vivo</i> .....	34
4.2.1. Détermination du pourcentage de cellules en phase M (IM) .....	34
4.2.2. Détermination du pourcentage de cellules en phase S . (%S).....	34
4.2.3. Détermination de la phase du cycle cellulaire ciblée .....	34
<b>5. Activité antiulcéreuse <i>in vivo</i> .....</b>	<b>35</b>
<b>6. Activité antidiabétique .....</b>	<b>35</b>
6.1. Evaluation d'activité antidiabétique <i>in vitro</i> .....	35
6.1.1. Test d'inhibition de l'alpha- amylase .....	35
6.1.2. Effet des extraits sur l'inhibition d'Alpha-glucosidase.....	36
6.2. Evaluation d'activité antidiabétique <i>in vivo</i> .....	36
6.2.1. Etude à court terme.....	36
6.2.2. Test de tolérance orale au glucose.....	36
6.2.3. Etude à long terme (7jours).....	37
<b>7- Autres activités biologiques .....</b>	<b>37</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>39</b>
<b>Références Bibliographiques .....</b>	<b>41</b>



# **Introduction**

## Introduction

Les plantes médicinales ont été utilisées comme une source importante de médicaments pour des milliers d'années de l'histoire humaine, et même aujourd'hui, elles constituent la base des pratiques systématiques de la médecine traditionnelle pendant plusieurs siècles dans le monde entier (Pan *et al.*, 2009). L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité (Gurib-fakim, 2006). En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales (Benkhniq, 2011).

En Afrique, où les médicaments à base de plantes sont toujours utilisés par de nombreuses populations pour des soins sanitaires, le pouvoir thérapeutique des plantes était connu de façon empirique (Koffi *et al.*, 2009).

La flore Algérienne, avec ses différentes espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, reste très peu explorée tant sur le plan phytochimique que sur le plan pharmacologique (Merzoug, 2009). L'abondance en principes actifs confère à la plante des propriétés pharmacologiques remarquables, ce qui pourrait justifier ses multiples indications thérapeutiques et pour lesquelles elle est utilisée en tradithérapie (Konkonet *et al.*, 2006).

Les vertus médicinales et thérapeutiques des plantes sont dues à leur richesse en métabolites secondaires dits principes actifs qui agissent directement sur l'organisme (Faraget *et al.*, 1989 ; Bulduk, 2004 ; Al-Gabbiesh, 2015). Les recherches récentes sur les métabolites secondaires sont très poussées, particulièrement dans les domaines de la phytothérapie et de l'hygiène alimentaire, en raison de leurs diverses propriétés biologiques : antioxydant, antimicrobiennes, hypoglycémiantes, anti-inflammatoires...etc. (Leong et Shui., 2002). En outre, ces métabolites peuvent avoir des effets physiologiques favorables dans la prévention des cancers et de nombreuses maladies chroniques, tels que les maladies cardiovasculaires (Middleton *et al.*, 2000 ; Raja et Sreenivasulu., 2015).

L'objectif de notre travail est de présenter les stratégies d'évaluation des effets thérapeutiques des plantes médicinales *in vitro* et *in vivo*.

Notre étude théorique englobe quatre parties :

- Partie I : Généralité sur les plantes médicinales
- Partie II : Principes actifs des plantes médicinales
- Partie III : Extraction des principes actifs (préparation des différents extraits)
- Partie IV : Evaluation des activités biologiques des plantes médicinales.



# Chapitre I

## Généralités

## 1. Généralités

Depuis longtemps, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner des maladies (Sanago, 2006), L'utilisation des plantes en phytothérapie est une technique très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S, 2003) environ 65- 80% de la population mondiale a recours au médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (Maetal., 1997).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constitutions des plantes sont utilisés directement comme agent thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmacologique (Ameenah, 2006).

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs ou certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent 70%des médicaments, environ 170000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plante (Chaabi, 2008).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires.

Plus de 80 % des populations Africaine ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé, le continent africain regroupe des plantes médicinales très diversifiées. En effet sur les 300.000 espèces végétales recensées sur la planète, plus de 200.000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique et ont des vertus médicinales. Les plantes médicinales demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement en l'absence d'un système médicinale moderne(Salhiet *al.*, 2010).

### 1.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles.

Le groupe consultatif de l'OMS qui a formulé cette définition affirme également qu'une telle description permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les composants ont été établis scientifiquement des plantes considérées comme médicinales.

## 1.2. La phytothérapie

Le terme « Phytothérapie », provient du grec « phyton » qui signifie « plante » et «therapein» qui signifie « soigner ».

La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels (Sebai et Boudali, 2012). Nous pouvons la répartir en trois types de pratiques:

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement.
- Une pratique basée sur les avancées et les preuves scientifiques, qui recherchent des principes actifs extraits des plantes.
- Une pratique de prophylaxie, déjà utilisée dans l'antiquité. L'homme est déjà phytothérapeute sans le savoir: c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage d'Ail, du Thym, du Gingembre ou simplement du Thé vert ; une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique (Boumediou et Addoun, 2017).

## 2. Origine des plantes médicinales

Elle porte sur deux origines à la fois. En premier lieu les plantes spontanées dites "sauvages" ou "de cueillette", puis en second les plantes cultivées (Chabrier, 2010).

### 2.1. Les Plantes spontanées

Beaucoup de plantes médicinales importantes se rencontrent encore à l'état sauvage. Les plantes spontanées représentent encore aujourd'hui un pourcentage notable du marché, Leur répartition dépend du sol et surtout du biotope (humidité, vent, température et l'intensité de la lumière... etc).

Dans certain cas, certaines plantes se développent dans des conditions éloignées de leur habitat naturel (naturel ou introduite). Dans ce cas leur degré de développement en est modifié, ainsi que leur teneur en principes actifs (Chabrier, 2010).

### 2.2. Les Plantes cultivées

Pour l'approvisionnement de marché des plantes médicinales et la protection de la biodiversité floristique, le reboisement des plantes médicinales est indispensable:

- Disponibilité des plantes sans besoin d'aller dans la forêt pour détruire les espèces sauvages.
- Apports substantiels de revenus pour les paysans qui les cultivent.
- Disponibilité prévisible des plantes médicinales au moment voulu et en quantité voulue.

- Disponibilité et protection des plantes actuellement rares ou en voie de disparition dans la nature.
- Contrôle plus facile de la qualité, de la sécurité et de la propreté des plantes.

La teneur en principes actifs d'une plante médicinale varie avec l'organe considéré, mais aussi avec l'âge de la plante, l'époque de l'année et l'heure de la journée. Il y a donc une grande variabilité dont il faut tenir compte pour récolter au moment le plus opportun (Bouacherine et Benrabia, 2017).

### **3. Conditions optimales pour le meilleur des plantes**

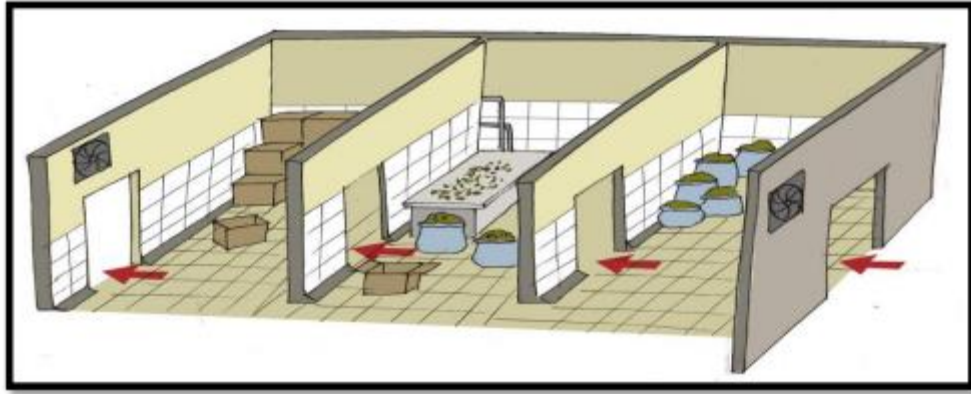
#### **3.1. La récolte**

Chaque partie de la plante concentre le maximum de principes actif à une période précise de l'année, à laquelle il s'agit de faire la récolte.

Le bon moment de cueillette peut varier selon l'altitude, particulièrement les périodes de floraison (Bouziane, 2017).

#### **3.2. Le séchage**

- Le séchage, qui élimine la majeure partie de l'eau d'une plante, doit être commencé sitôt la récolte terminée et réalisé avec soin.
- Ne mélange pas l'espèce et les différents parties de la plante, commencez par faire sécher la plante quelques heures au soleil, avant de la mettre à l'abri dans un locale sec et bien aéré.
- Lavez et brossez avec soin les racines, puis coupez-les, encore fraîches, en morceau ou en tronçons de 1 cm environ.
- Brassez les plantes une fois par jour pour les aérer.
- La durée de séchage varie de quelque jour à 15 jour, mais ne dépasser pas le cap des 3 semaines afin d'éviter tout dépôt de poussière sur les plantes. Ecorces et les racines sont les plus longue à sécher; le bon degré de séchage est atteint lorsque les feuilles et les fleurs sont rigides, mais non cassantes ou toucher (figure 1et 2) (Meddour *et al.*, 2009).



**Figure 1 :** Séchage des plantes (Lkhoumsiet *al*, 2009).



**Figure 2:** Séchage a tige.

### 3.3 .Conservation et stockage

Les plantes aromatiques et médicinales sont conservées à l'abri de la lumière, air et au sec dans des récipients en porcelaine, faïence ou verre teinté, boîtes sec en fer blanc, sacs en papier ou des caisses. Cette technique est nécessaire pour les plantes qui subissent des transformations chimiques sous l'influence des ultraviolets. Les plantes riches en produits volatiles et qui s'oxydent rapidement sont conservées dans un milieu étanche (Djeddi, 2012 ; Delille, 2013).



**Figure 3:**La conservation des plantes dans un papier carton.

## 4. Utilisation des plantes médicinales

### 4.1. Avantages et efficacité de la phytothérapie

- De nombreuses études scientifiques relatent les effets bénéfiques des plantes, parfois même supérieurs aux médicaments, et ce dans les plus grandes revues médicales.
- La phytothérapie couvre un très large champ de maladies et l'industrie pharmaceutique utilise de nombreux principes actifs végétaux pour traiter toutes sortes de maladies. Par exemple le taxol (molécule utilisée pour le traitement du cancer) (Isrin ,2001 ; Gayet ,2013).
- Les plantes médicinales sont beaucoup moins chères que les médicaments de synthèse et, accessible pour tout le monde et ne nécessite pas d'obtenir une ordonnance
- La phytothérapie peut être utilisée comme un moyen de prévention , Ainsi que le corps humain est mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapie essentiellement chimique.
- La production des plantes est très peu polluante contrairement aux médicaments chimiques. (Grunwald, 2006).

### 4.2. Inconvénients et limites d'utilisations de la phytothérapie

- Il est particulièrement difficile d'apporter des preuves d'efficacité des plantes
- Il y a aussi beaucoup d'herbes qui ne sont pas recommandés pour les enfants et sont dangereux pour eux, ainsi que pour les femmes enceintes. (Baba –aissa, 1991).
- Certaines plantes renferment des toxines si puissantes que l'ingestion d'une quantité infime risque de se révéler mortelle.
- La toxicité peut être aussi due à l'utilisation d'une dose excessive ou une erreur

d'identification de la plante, vu que pour deux plantes qui se ressemblent sur le plan botanique l'une peut être toxique. Une mal-interprétation des symptômes peut être très dangereuse du fait que la phytothérapie repose le plus souvent sur l'automédication. Les préparations domestiques ne peuvent pas être conservées pour une longue durée donc une préparation mal conservée peut donner des intoxications au lieu de nous guérir.

- Les plantes contiennent des fois des substances allergisantes (Isrin, 2001 ; Media, 2018 ; Nicov,2003).



# **Chapitre II**

**Principes actifs des plantes médicinales**

### 1. Principes actifs des plantes médicinales

Le principe actif c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments. Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines.

Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...etc). Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes (Zerari, 2016).

### 2. Différents groupes des principes actifs

Les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes (Seghaouil et Zermane ,2017).

- Les polyphénols.
- Les terpénoïdes.
- Les stéroïdes et alcaloïdes

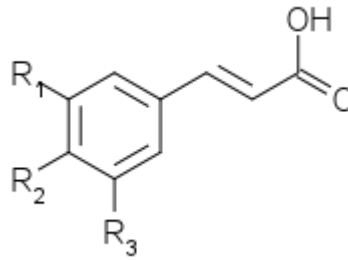
#### 2.1. Les Polyphénols

Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés photochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils subdivisent en sous classe principales; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins...etc (Chakou et Medjoudja, 2014).

##### 2.1.1. Les acides phénoliques

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants Polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Seghaouil et Zermane, 2017).

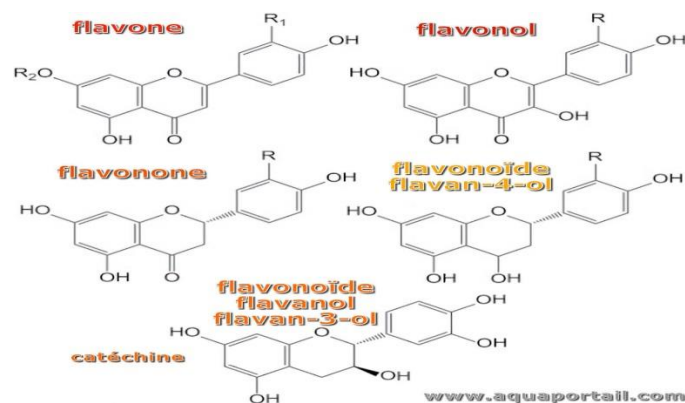
Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (figure 4) (Guelmine, 2018).



**Figure 4:** Formule chimique de l'acide phénolique.

### 2.1.2. Les flavonoïdes

Terme en latin; flavus = jaune, les flavonoïdes sont généralement des antibiotiques. Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire (Jus de citron) et de l'industrie pharmaceutique (Les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (figure 5) (Ladham, 2016).



**Figure 5:** Formule chimique de flavonoïdes.

### 2.1.3. La lignine

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (Tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (figure 6) (Guelmine, 2018).

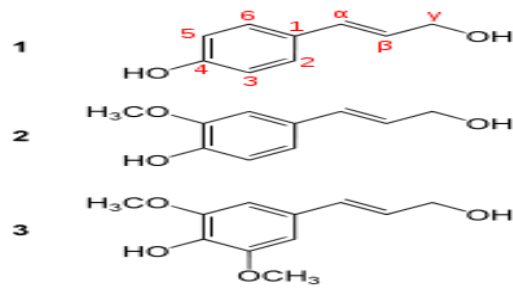


Figure 6 : Formule chimique de la lignine.

#### 2.1.4. Les tanins

Les tanins est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux. Nous pouvons distinguer deux catégories: Les tanins condensés, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines. Les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique comme la figure 7 (Ladham, 2016).

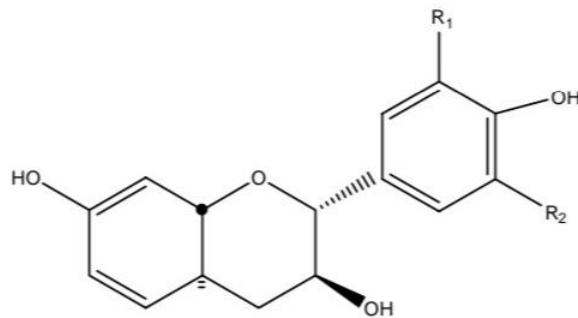


Figure 7 : Formule chimique de tanins.

#### 2.1.5. Les coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses pièces et possèdent des propriétés très diverses. Certaines coumarines contribuent à fluidifier le sang (*Melilotus officinalis*) alors que d'autre, soignent les affections cutanées (*Apium graveolens*). Rapidement métabolisées au niveau du foie en 7 hydroxy- coumarine, elles peuvent rarement induire une hépato nécrose sévère (figure 8) (Habibatni, 2009).

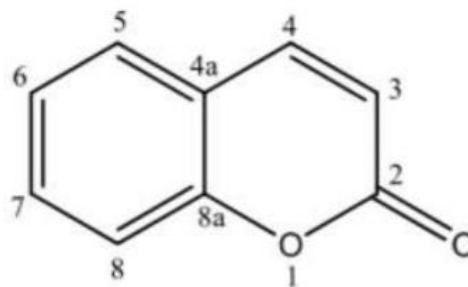
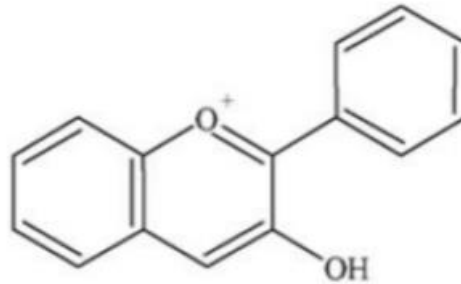


Figure 8: Formule chimique de coumarine.

### 2.1.6. Les anthocyanes

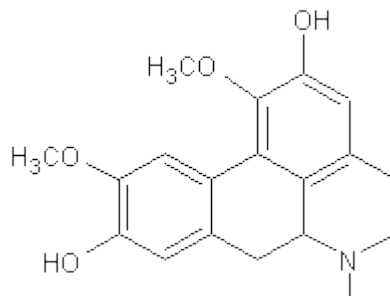
Sont issus de l'hydrolyse des anthocyanides (flavonoïdes proches des flavones), qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleue, rouge ou pourpre. Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux. La mure sauvage (*Rubus fruticosus*) et la vigne rouge (*Vitis vinifera*) en contiennent beaucoup le principe actif anthocyane (figure 9) (Messioughi, 2010).



**Figure 9:** Formule chimique de les anthocyanes.

### 2. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (Ounis et Boumaza, 2018), son rencontrer dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un gout amer et certains sont fortement toxiques (figure 10)(Gaci et Lahiani, 2017).



**Figure 10:** Formule chimique d'alcaloïds.

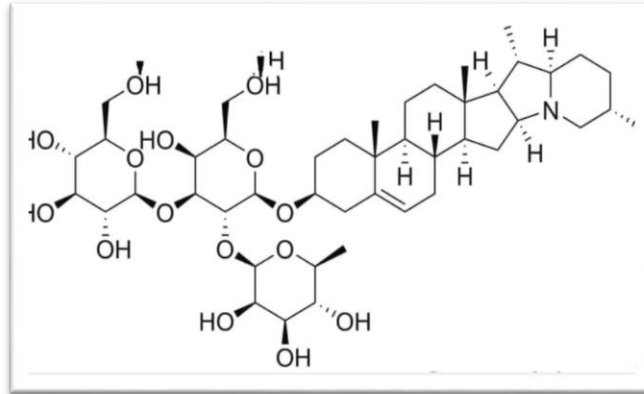
### 3. Terpènes et stéroïdes.

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principal de formule  $(C_5H_8)_n$  selon la variation de nombre n, dont les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes.

Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) (Guelmine, 2018).

### 3.1. Les saponines

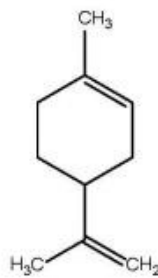
Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycosylés comme ils peuvent aussi se trouve sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre (Hopkins, 2003). Ils existent sous deux formes, les stéroïdes et les terpénoïdes (figure 11) (Guelmine, 2018).



**Figure 11:** Formule chimique de saponine.

### 3.2. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges très complexes de substances volatiles aromatiques obtenues à partir d'une matière première végétale (Nahalbouderba, 2016) offrant à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs Jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière et attirer les insectes pollinisateurs (figure 12) (Guelmine, 2018).



**Figure 12:** Formule chimique d'huiles essentielles.



# **Chapitre III**

**Préparation et caractérisation des extraits à  
la base des plantes médicinales**

## 1. Définition d'extraction

L'extraction consiste à transférer des composés d'une phase à une autre, de la phase solide à la phase liquide, elle est utilisée pour extraire sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange initial en fonction de propriétés chimiques ou physiques ( Benabdallah, 2016).

## 2. Différents types d'extraction à partir des plantes

### 2.1. Enfleurage

Il consiste à extraire naturellement le parfum des fleurs à l'absorption effectuée par les corps gras. Il existe deux types d'enfleurage : à chaud et à froid selon la résistance de la plante à la chaleur. Cette méthode est particulièrement utilisée lorsque l'hydrodistillation dénature les molécules à extraire (Benabdallah, 2016).

### 2.2. Macération

La macération est un procédé qui consiste à faire séjourner les plantes dans un solvant froid pour en extraire les composés solubles (arômes, principes actifs). L'imprégnation peut se faire dans des solutions d'alcool, d'eau, d'huile. Cette technique retient les produits chimiques fragiles car elle se fait à basse température, mais elle n'est pas toujours aussi efficace que les techniques utilisant la chaleur (Benabdallah, 2016).

### 2.3. Infusion

L'infusion est la méthode de préparation la plus simple et la plus courante. Pour réaliser l'infusion, il faut verser de l'eau bouillante sur des plantes (les feuilles ou les fleurs) finement broyées dans un récipient muni d'un couvercle, et trempée pendant 5 à 10 minutes pour dissoudre leurs principes actifs, puis filtrée (Grunwald *et al.*, 2006 ; Iserin, 2001).

### 2.4. Décoction

Cette méthode est très ancienne pour extraire les principes actifs des racines, de l'écorce, des tiges et des graines, le principe est légèrement différent : il s'agit de placer la plante dans une casserole d'eau froide, chauffé très doucement jusqu'à ébullition, couvercle fermé. Enfin on filtre le mélange comme la figure 13.

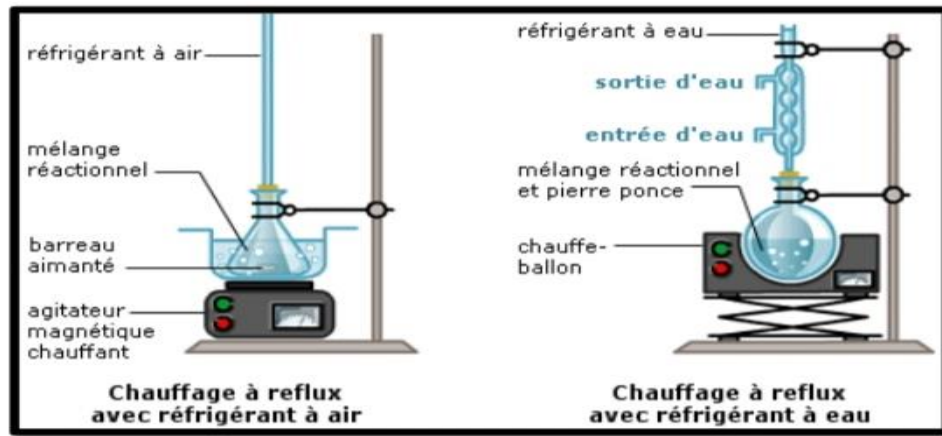


Figure 13: Méthode de Décoction.

### 2.5. Extraction par soxhlet

L'extracteur de Soxhlet est un appareil utilisé en chimie analytique pour extraire les molécules aromatiques de la plante. Cet appareil permet de faire à chaud l'extraction par solvant d'un solide avec une grande efficacité (Benabdallah, 2016).

Lorsque le ballon est chauffé, la vapeur de solvant traverse le tube adducteur, se condense dans le réfrigérant et retombe dans le corps de l'adducteur, macérant ainsi résidu dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à ce qu'il atteigne le sommet de siphon, qui fait ensuite retourner le liquide dans le ballon, ainsi que la substance extraite. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles. La taille du corps en verre étant limitée, peut nécessiter plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extrait (Berrahal, 2019).

## 3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction, chacune ayant plusieurs variantes, que l'on utilise en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'huile à extraire, de l'usage de l'extrait, de manière à pouvoir minimiser les distorsions inévitables entre l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (Harrag Abdelmalek, 2022).

### 3.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE. Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable (Boukhatemet *al.*, 2019). Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées

Décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale évitent entre l'eau et les molécules aromatiques, certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'HE obtenue est plus délicat et la distillation, régulière et plus rapide, fait que les notes de tête sont riches en esters (Boukhatemet *al.*, 2019).

Les principales variantes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont : l'hydrodistillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion(Boukhatemet *al.*, 2019).

### 3.1.1. Hydrodistillation

C'est une méthode simple dans son principe et qui ne nécessite pas un appareillage coûteux. Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide. Les vapeurs ascendantes provenant de l'alambic ou du réacteur progressent, puis se condensent par refroidissement. Le condensat est récupéré, puis l'huile est séparée de la phase aqueuse. Elle peut apporter de nombreux artéfacts. En effet, l'eau, l'acidité et la température du milieu peuvent induire des réactions d'hydrolyse, réarrangement, de racémisation, d'oxydation, d'isomérisation.....etc (Harrag, 2022).

### 3.1.2. Hydrodiffusion

Cette technique, consiste en l'expulsion de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar) à travers la masse végétale du haut vers le bas. Ainsi, le flux de vapeur traversant la masse végétale n'est pas ascendant. Le principe est de dégager et de condenser en utilisant la pesanteur, par exemple «l'azéotrope» produit par la vapeur d'eau et dispersé dans la masse végétale. Hydro diffusion, procédé développée par la firme Suisse Schmidt SA (1981), permet un gain de temps et d'énergie et évite un grand nombre d'artéfacts liés à une température excessive. En fait ce procédé correspond à la percolation en phase vapeur (Harrag, 2022).

### 3.1.3. Expression à froid

C'est une technique physique, simple, pratique, peu coûteuse, qui consiste à écraser les zestes pour en extraire les huiles. Les zestes sont lacérés et le contenu des poches sécrétrices, qui ont été rompues, est récupéré par un procédé physique (Boukhatemet *al.*, 2019).

Le principe de l'extraction consiste à rompre les poches à huile par un moyen

mécanique, pression, incision ou abrasion à froid. Le procédé classique composé à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface du fruit. Après élimination des déchets solides l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation. Dans la pratique, seules les essences d'agrumes sont préparées selon la méthode d'expression à froid (Harrag, 2022).

#### 3.2 Extraction par les solvants

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer, dans un extracteur, un solvant volatil à base point d'ébullition, et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils, mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances (Boukhatemet *al.*, 2019).

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène.

Cette technique permet de tripler la quantité d'huile essentielle récupérée, évite l'action hydrolysante de la vapeur d'eau. Face à cette situation, deux nouvelles techniques ont été mises au point, ces dernières années, pour la distillation des substances d'arômes à partir des plantes : L'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique (Boukhatemet *al.*, 2019).

#### 3.3. Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée aux micro-ondes, une nouvelle technique innovante et écologique, peut permettre de résoudre certains problèmes de la distillation. L'emploi des micro-ondes constitue, par ailleurs, une méthode d'extraction à part entière en plein développement. A titre d'exemple, La SFME (Solvent Free MicrowaveExatrcction) est une combinaison originale des techniques de chauffage par micro-ondes et de distillation sèche (Boukhatemet *al.*, 2019).

#### 3.4. Extraction au CO<sub>2</sub> (ou par fluide à l'état supercritique)

Est une nouvelle technique, permettant d'augmenter le rendement de production, et présentant l'avantage d'être bien plus rapide que les méthodes traditionnelles. L'originalité de

la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) (Boukhatemet *al.*, 2019).

La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO<sub>2</sub> et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux (Harrag, 2022). Le CO<sub>2</sub> est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie.

Il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après, le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Harrag, 2022).

Les extraits obtenus par les différentes méthodes d'extraction subissent ensuite une caractérisation chimique et valorisation biologique.

## 4. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans des extraits végétaux donnés (Elhaoud *et al.*, 2018).

### 4.1. Analyse qualitative des extraits végétaux

#### 4.1.1. Tests préliminaire

Les tests de caractérisation sont basés en partie sur l'analyse qualitative, soit sur la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation, soit sur la formation de complexes colorés, en utilisant des réactions de coloration (Elhaoud *et al.*, 2018).

##### ➤ Caractérisation des composés phénoliques

Chaque extrait est dissous dans son solvant d'origine, et quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 2% y ont été ajoutées. La présence des composés phénoliques a été marquée par l'apparition de la couleur bleu-verdâtre (Lahmer *et* Messai, 2017)

### ➤ Caractérisation des Flavonoïdes

La détection de la présence des flavonoïdes dans les extraits végétaux a été faite par la réaction à la cyanidine. Pour l'extrait végétal, on ajoute quelques gouttes de l'HCl et quelques fragments de magnésium. Il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose-orangé ou violacée, cette coloration qui a confirmé la présence de flavonoïdes (Boudjellal, 2009).

### ➤ Caractérisation des Tanins

Pour détecter la présence des tanins, on ajoute à l'extrait végétal quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> (Chlorure ferrique) à 1%. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et l'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins catéchiques (Boudjellal, 2009).

### ➤ Caractérisation des Alcaloïdes

1g de l'organe végétal laissé en décoction dans 10mL d'eau distillée pendant 10 minutes. Le macéré est filtré et testé avec quelques gouttes de réactif de MEYER et de WAGNER. Les alcaloïdes forment avec le réactif de Mayer un précipité blanc et forme avec le réactif de Wagner un précipité brun (Berrahal, 2019).

## 4.1.2. Méthodes chromatographiques

Les méthodes chromatographiques sont des méthodes permettant de séparer des constituants présents dans des mélanges variés ( Berrahal, 2019). Elle sert en analyse pour purifier, identifier et quantifier des composés au sein d'échantillons divers. Le principe de cette technique est basé sur la migration différentielle des divers solutés contenus dans un échantillon analysé (Benabdallah, 2016). Les méthodes chromatographiques les plus utilisées pour les analyses qualitatives sont : Chromatographie sur Couche Mince (CCM) et Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).

## 4.2. Analyse quantitative et dosages biochimiques

### 4.2.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Afin de caractériser les différents extraits préparés à partir des plantes médicinales, un dosage des polyphénols totaux est déterminés par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique du Folin-Ciocalteu (Ragaeet *al.*, 2006 ; Wong *et al.*, 2006 ;Anthony, 2010). Le réactif précédent est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40)

et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en un mélange d'oxydes bleus de tungstène  $W_8O_{23}$  et de molybdène  $Mo_8O_3$ . La coloration produite, dont l'absorption maximale est à 765nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits (Lahmer et Messai, 2017).

#### 4.2.2. Dosage des Flavonoïdes et tanins condensés (TCs)

##### ➤ Dosage des Flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits. Brièvement, les Flavonoïdes possèdent un groupement (OH) libre en position 5 susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) un complexe jaunâtre par chélation de l'ion  $Al^{+3}$ . L'absorbance est lue à 430nm par un spectrophotomètre UV-VIS (Lahmer et Messai, 2017).

##### ➤ Dosage des Tanins condensés (Méthode de la vanilline)

Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le groupement flavonoïde terminal (le carbone 6 du cycle A de la catéchine) pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500nm. Cependant cette réaction n'est pas spécifique aux TCs mais de manière générale aux flavanols (Lahmer et Messai, 2017).



# **Chapitre IV**

**Evaluation des activités biologique des plantes  
médicinales**

### Introduction

Actuellement les recherches s'intéressent à différent activités pharmacologiques des plantes médicinales pour développer et améliorer la médecine moderne, les plus importants effets sont :

#### 1. Activité antioxydant

Le stress oxydant est un déséquilibre entre la formation des radicaux libres et la capacité du corps à les neutraliser, cela survient s'il ya un déficit nutritionnel en antioxydants, une surproduction endogène d'agents pro-oxydants, une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (médicaments, radiations ionisantes, tabac...etc.).

L'effet antioxydant des extraits des plantes médicinales peut s'évaluer par plusieurs tests *in vitro* et *in vivo*.

##### 1.1. Tests d'évaluation d'activité antioxydante *in vitro*

Il existe plusieurs et différents tests pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des plantes médicinales dont les plus utilisés on cite :

###### 1.1.1. Test de DPPH

Dans le test du DPPH, les antioxydants réduisent le radical DPPH (diphénylpicryl-hydrayl) ayant une couleur violette en un composé jaune (diphénylpicryl-hydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Ferradji, 2011). Autrement dit, il a une forte absorption à une longueur d'onde d'environ 517 nm en raison de la présence d'un électron non apparié ; au fur et à mesure que cet électron devient apparié en présence d'un antioxydant (donneur d'hydrogène), la force d'absorption diminue (Lanseur, 2017). Le BHT (hydroxytoluenebutyle) a été utilisé comme standard antioxydant pour la comparaison de l'activité avec les extraits utilisés. La faible valeur d'absorbance de la réaction du mélange indique une activité de piégeage des radicaux libres supérieure (Marref, 2018).

###### 1.1.2. Test ABTS

L'ABTS<sup>•+</sup> a été produit par la réaction entre l'ABTS dans l'eau et de persulfate de potassium est stockée dans l'obscurité à température ambiante pendant quelques heures. L'oxydation de l'ABTS commence immédiatement mais l'absorption n'est pas maximale. Le

radical cation est stable sous cette forme depuis plus de 2 jours dans le stockage dans l'obscurité à la température ambiante. Dans ce test l'absorbance a été mesurée à 734 nm en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits (Marref, 2018).

### 1.1.3. Test FRAP (FerricReducingAntioxidant Power)

Le test de FRAP (FerricReducingantioxidant Power) a été déterminé selon la technique d'Oyaizu (1986). Cette méthode consiste à mélanger un extrait à différentes concentrations avec la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et ferricyanure de potassium [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] (1%). Les mélanges sont incubés à 50°C pendant quelques minutes. Après, l'acide trichloracétique est additionné. Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. L'absorbance est mesurée à 700 nm.

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif. La concentration IC<sub>50</sub> qui est définie comme la concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50% de la concentration initiale du thiocyanate ferrique est un indice utilisé pour comparer et exprimer la puissance des capacités réductrices des substances bioactive.

### 1.1.4. Test du blanchissement du β carotène

Dans ce test, la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative de β carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique. L'émulsion de β carotène /acide linoléique est préparée par solubilisation de 3 mg de β carotène dans :

- Un volume du chloroforme, et volume de l'acide linoléique et tween40 sont additionnés. Le chloroforme est complètement évaporé au rotavapeur, par la suite un volume d'eau oxygénée est ajouté, l'émulsion résultante est agitée vigoureusement.
- Un volume de solution d'extrait ou antioxydant de référence (BHT) (solubilisé dans le méthanol sauf l'extrait aqueux dans l'eau distillée) sont additionnés à un volume de l'émulsion précédente.
- La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant est suivie à 490nm à des intervalles de temps régulières pendant quelques heures.
- L'activité antioxydante relative des extraits (AAR) est calculée selon l'équation suivante :  $AAR = \frac{Abs_{t=48h}(\text{échantillon})}{Abs_{t=48h}(\text{BHT})} \times 100$  (Boudjellal, 2019).

### 1.1.5. Test de chélation du fer

Le pouvoir chélateur du fer est une méthode utilisée pour évaluer le pouvoir chélateur d'un extrait donné. En effet, la ferrozine forme avec le fer libre présent dans un milieu réactionnel un complexe ferrozine-Fe<sup>2+</sup> de couleur violette intense.

La quantification de ce complexe par spectrophotométrie à 562nm dans un milieu de concentration connue en fer, renseigne sur la quantité de fer non chélaté et donc sur la capacité des extraits à chélater cet élément. Plus la coloration de la solution contenant l'extrait testé est claire, plus le pouvoir chélateur n'est important.

### 1.1.6. Test du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antiradicalaire. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) présent dans le complexe K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>), la liaison de ce dernier au ligand crée une couleur bleu marine très intense. L'absorbance peut être suivie à 595 nm et elle est corrélée avec la quantité d'antioxydants. Trolox ou l'acide ascorbique ont été utilisés comme références (Lanueur, 2017).

## 1.2. Activité antioxydante *in vivo*

### 1.2.1. Dosage MDA (malondialdéhydes)

Produit d'oxydation, Les échantillons contenant des MDA ou des standards MDA réagissent avec le TBA. Cette méthode permet de déterminer la teneur relative en peroxydes lipidiques des échantillons, incluant plasma, sérum, culture cellulaire, surnageants et échantillons d'urine.

Ce dosage est communément utilisé pour comparer un ensemble d'échantillons à un autre. Après l'incubation, les échantillons et les standards peuvent être lus au spectrophotomètre ou au fluorimètre. La concentration de MDA dans les échantillons est alors calculée par comparaison avec la courbe de calibration MDA.

Donc : 2-Thiobarbituric Acid + MDA → MDA-TBA Adduct. (<https://libios.fr/solutions-analytiques/stress-oxydatif-capacite-anti-oxydante/kits-dosage-stress-oxydatif-brcapacite-antioxydante/catalase>).

### 1.2.2. Dosage de l'activité catalase

Ce dosage a été développé pour mesurer l'activité catalase dans les échantillons biologiques. La catalase est une enzyme présente dans le sang et d'autres tissus ayant une activité antioxydante. Ce dosage consiste en une réaction donnant lieu à un composé qui forme un complexe avec le chromogène. Cette réaction produit une couleur violette directement proportionnelle à l'activité catalase qui peut être déterminée au moyen d'une mesure spectrophotométrique simple et rapide.

Donc : Reagent  $\rightarrow$  Product + Chromogen (Catalase) ( $\lambda_{\max}$ = 540 nm)  
(<https://libios.fr/solutions-analytiques/stress-oxydatif-capacite-anti-oxydante/kits-dosage-stress-oxydatif-brcapacite-antioxydante/catalase>).

### 1.2.3. Dosage de l'activité enzymatique Super Oxyde Dismutase (SOD)

La SOD est dosée selon la méthode spectrophotométrique décrite par Paoletti et al. (1986). Cette méthode est basée sur l'inhibition de l'oxydation du NADH par la SOD en présence d'ion superoxyde. Cette diminution du taux d'oxydation du NADH est fonction de la concentration d'enzyme. Par définition une unité d'enzyme SOD correspond à l'activité nécessaire pour inhiber 50 % de la réaction d'oxydation. L'inhibition par la SOD de la réaction d'oxydation du beta-NADH est suivie au spectrophotomètre à 340 nm (Noury P, 2016).

## 2. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression. Elle est caractérisée par ; la rougeur, la douleur, la chaleur et l'œdème. Elle est impliquée dans l'apparition de différentes pathologies telle que : Anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité...etc

### 2.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

#### 2.1.1. Test de stabilisation des membranes d'érythrocytes via l'induction d'hémolyse des globules rouges par hypotonie et par chaleur

- Par hypotonie

La capacité des extraits à protéger la membrane des érythrocytes humains contre l'hémolyse induite par le milieu hypotonique, la rupture de leurs membranes se produira, provoquant ainsi

la libération de l'hémoglobine et d'autres composants internes dans le fluide environnant. L'effet hémolytique de la suspension hypotonique est lié à l'accumulation excessive du liquide dans la cellule (Lanseur, 2017).

L'hémolyse est détectée visuellement en montrant une teinte rose à rouge dans le sérum ou le plasma. Dans notre étude, la stabilisation de la membrane des globules rouges est effectuée par l'inhibition de l'hypotonicité. La lecture de la densité optique des surnageants récupérés est réalisée par un spectrophotomètre UV-visible (Lanseur, 2017).

### ➤ Par chaleur

Ce principe est basé sur l'effet des différents extraits des plantes médicinales sur la stabilisation de la membrane des globules rouges, après un passage à l'hémolyse par l'utilisation de température élevée (Govindappa *et al.*, 2011). Le protocole du test ( un volume de suspension érythrocytaire + un volume d' extrait de plante, puis cette solution est chauffée à 56 C° pendant 30 minutes, ensuite elle a été refroidie à température ambiante. Par la suite la solution obtenue est centrifugée 2500 rpm pendant 10 minutes. Par la suite la teneur en hémoglobine dans le surnagent est estimée par lecture d'absorbance à 560nm (Merdji et Merrakchi, 2020).

### 2.1.2 Inhibition de l'activité des protéases

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation. La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoires peut être due à la dénaturation des protéines *in vivo*. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à inhiber l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintiennent la structure tridimensionnelle des protéases (Marref, 2018).

### 2.1.3 Méthode de dénaturation de l'albumine

La dénaturation affecte presque toutes les propriétés physico-chimiques des molécules ; elle varie considérablement avec les divers agents physiques et chimiques qui l'entraîne et aussi selon le caractère et la concentration des solutions protéiniques. Cette dénaturation est souvent associée à une inflammation ; par conséquent, l'inhibition de la dénaturation des protéines a été largement utilisée comme modèle de dépistage *in vitro* pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire.

La turbidité de la solution d'albumine est suivie par la lecture de l'absorbance à 660 nm

(Lanseur, 2017).

### 2.2 Évaluation d'activité anti inflammatoire *in vivo*

#### 2.2.1. Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris

L'œdème de l'oreille est induit par l'huile de croton, selon la méthode de Manga et ses collaborateurs (2004). Pratiquement, une inflammation cutanée a été induite sur la face interne de l'oreille droit de chaque souris, et ceci par l'application de d'une solution acétone-eau (1:1 V/V) contenant d'huile de croton comme agent irritant. Les groupes de souris (n=10) reçoivent localement par oreille de l'extrait avec l'agent irritant en même temps. Le groupe contrôle reçoit d'indométacine avec l'agent irritant aussi. Les souris du groupe témoin reçoivent uniquement la solution de l'huile de croton. L'épaisseur de l'oreille est mesurée à l'aide d'un pied à coulisse digital avant le traitement et six heures après l'induction de l'inflammation.

La différence de l'épaisseur avant et après l'application de l'huile de croton est calculée. Le pourcentage d'inhibition de l'œdème est calculé par rapport au groupe témoin selon la formule suivante :

$\% \text{ inhibition} = [(Diff\acute{e}paigrp \text{ témoin} - Diff\acute{e}pai \text{ Traité}) / Diff\acute{e}paigrp \text{ Témoin}] \times 100$  (Ferradji, 2011).

#### 2.2.2. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris

La perméabilité vasculaire chez la souris a été évaluée selon la méthode de Kou et ses collaborateurs (2006). Quelques groupes des souris sont utilisés, les souris traités reçoivent un volume d'extrait ,ou d'indométacine, par voie orale. Les souris du groupe témoin reçoivent d'une solution de NaCl 0,9 %. Une heure après, les souris reçoivent une injection intraveineuse d'une solution de bleu d'Evans, suivie d'une injection intra-péritonéal. Trente minutes après, les souris sont sacrifiées par dislocation cervicale. Après lavage de la cavité péritonéale par une solution physiologique. L'exsudat est récupéré puis centrifugée et l'absorbance du surnagent est mesurée à 610 nm contre une solution NaCl 0,9% (blanc). Le pourcentage d'inhibition de la perméabilité vasculaire est calculé selon la formule:

$\% \text{ inhibition} = [(A\text{témoin} - A\text{traité}) / A\text{témoin}] \times 100$  (Ferradji, 2011).

### 3. Activité antimicrobienne

Les microorganismes présentent l'une des sources principales de pathologies humaines. Ce problème est contourné par les agents antimicrobiens qui peuvent être microbiocides ou bien microbiostatique.

#### 3.1. Evaluation d'activité antimicrobienne

##### 3.1.1. Méthode de diffusion

C'est un criblage préalable qui vise à mettre en évidence une éventuelle activité antimicrobienne sans pour autant la quantifier. Le test est réalisé par la méthode de diffusion sur gélose, qui est la même que la technique de l'antibiogramme en remplaçant les disques d'antibiotiques par des disques de papier imprégnés par la substance ou l'extrait à tester. Après l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés autour de chaque disque. Une souche est dite sensible si la zone d'inhibition est supérieure ou égale à 15mm.

- Limitée si la zone d'inhibition est inférieure à 15mm.
- Résistante si la zone d'inhibition est nulle.

##### 3.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

Afin de mieux évaluer cette activité une étude plus poussée a été menée par la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits algaux contre les différentes souches bactériennes selon la méthode de micro-dilution. La CMI est définie comme étant la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance microbienne visible à l'œil nu.

Suite à une incubation, la CMI a été déterminée en suivant le virage de la coloration rouge brique du phénol à une coloration jaune, en présence de microorganismes en croissance. Une fois la croissance a été bloquée, on remarque que la couleur rouge du phénol persiste. La CMI correspond à la première concentration en échantillon du premier puits rouge et ne présentant ni trouble ni culot bactérien.

### 4. Activité anti cancéreuse

Des études mettent en évidence les effets protecteurs des extraits végétaux vis-à-vis des promoteurs des tumeurs (Lahmer et Messai, 2017).

### 4.1. Evaluation d'activité anti-cancéreuse *in vitro*

#### 4.1.1. Tests de cytotoxicité

Les extraits végétaux sont solubilisés dans du DMSO. Ensuite, ces solutions sont diluées au 1/10<sup>ème</sup> avec du milieu de culture permettant de garder une concentration finale de DMSO. Les tests cytotoxiques sont réalisés en deux phases: un criblage préliminaire en dose unique de chaque extrait et pour les extraits actifs (%M > 50%), un test de détermination de la CI50 avec des concentrations croissantes de chaque extrait. Les cellules sont mises en plaques de 96 puits à un nombre de 4000 cellules/puits, à l'exception des lignées cellulaires HCT116 et KB pour lesquelles seulement 2000 cellules/puits sont déposées en raison de leurs croissances deux fois plus rapides. 24h après l'ensemencement, les cellules sont exposées à chaque extrait. Après 48h de traitement, le test est révélé. Pour toutes les cellules autres que les cellules KB, le protocole est le suivant. Les cellules sont lavées dans du PBS et fixées dans un mélange éthanol froid 90%/5% acide acétique pendant 20 minutes. Ensuite, les noyaux sont colorés avec le colorant de Hoechst. L'acquisition et l'analyse d'images sont effectuées à l'aide d'un lecteur VTI/HCS Cellomics ArrayScan (ThermoScientific). Les pourcentages de mortalité sont calculés comme étant le nombre de cellules après traitement par l'extrait sur le nombre de cellules après traitement par DMSO (contrôle). Pour les cellules KB, une solution de MTT à 1,5 mM dans le PBS est ajoutée dans chaque puits et mise à incuber pendant 6h. A la fin de l'incubation, les puits sont vidés puis remplis avec 100 µL de DMSO. Après 1h, les absorbances des puits sont lues à 490 nm. Les pourcentages de mortalité sont calculés comme étant l'absorbance après traitement par l'extrait moins l'absorbance du contrôle sur l'absorbance après traitement par la doxorubicine moins l'absorbance du contrôle. Grâce aux courbes dose-réponse, la CI50 est déterminée graphiquement, comme décrit par le NCI<sup>320</sup>. Les tests sont effectués en triplicats.

#### 4.1.2. Marquage des cellules par l'anticorps anti-PHH3

Les cellules sont cultivées comme pour un test cytotoxique mais sont exposées à des extraits à une concentration égale à la CI50 et à une concentration égale à 2 x CI50. Après la fixation, les cellules sont co-marquées avec du colorant de Hoescht et un anticorps primaire anti-phosphohistone H3 (Ser10) (dilution 1/5000, 2h), puis avec un anticorps secondaire détectant l'anticorps primaire couplé à un fluorophore (dilution 1/500, 1h). L'IM est calculé comme le nombre de cellules mitotiques, identifiées par la coloration positive par l'antiPHH3 sur le nombre de cellules totales marquées par le colorant de Hoechst. Les tests sont effectués

en triplicats.

### 4.1.3. Incorporation de BrdU Les cellules

Sont cultivées comme pour un test cytotoxique mais sont exposées à des extraits à une concentration égale à la CI50 et à une concentration égale à 2 x CI50. Avant la fixation, le BrdU est ajouté au milieu de culture pendant 90 minutes à 37 ° C et 5% de CO2 (dilution 1/1000 pendant 30 min). Après la fixation, les cellules sont co-marquées avec du colorant de Hoescht et un anticorps primaire anti-BrdU (dilution 1/200, 2h) puis avec un anticorps secondaire détectant l'anticorps primaire couplé à un fluorophore (dilution 1/500, 1h). Le %S est calculé comme le nombre de cellules en phase S, identifiées par la coloration positive par l'anti-BrdU sur le nombre de cellules totales marquées par le colorant de Hoechst. Les tests sont effectués en triplicats.

### 4.1.4. Test Alamar bleu

Alamar bleu est un test de viabilité cellulaire très fréquemment utilisé par les industriels et les chercheurs afin d'apprécier l'activité mitochondriale de cellules humaines, animales, bactériennes, ou fongiques. Le principe de ce test colorimétrique repose sur la résazurine, qui est le substrat actif. Cette molécule est hydrosoluble, stable en milieu de culture, non toxique pour les cellules, et traverse aisément la membrane cellulaire.

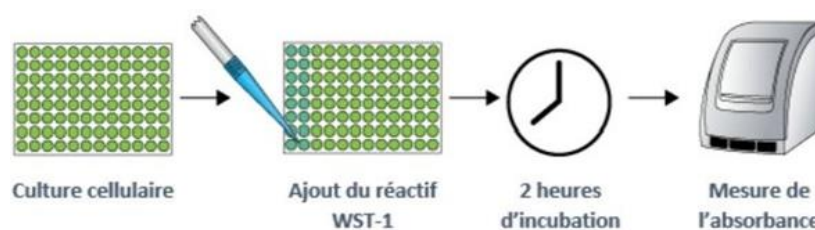
La résazurine est un indicateur de couleur bleue ; il s'agit de la forme oxydée de la molécule. Quant à la forme réduite, il s'agit de la résorufine qui est de couleur rose fluo. La conversion de la résazurine en résorufine est permise grâce à des enzymes produites par les cellules vivantes, notamment le NADPH, FADH, FMNH, NADH, mais également par des cytochromes. La coloration n'étant pas visible à l'œil nu, une technique de fluorimétrie est indispensable pour mesurer l'absorbance entre 540 et 630 nm (Marref, 2018).

### 4.1.5. Test WST-1

Il s'agit d'un test qui permet de mesurer l'activité mitochondriale des cellules. Le principe repose sur le clivage du sel de tétrazolium en formazan, via une enzyme qui est le succinate déshydrogénase. Cette enzyme joue un rôle dans la respiration mitochondriale ; elle n'est donc active que dans les cellules vivantes. Ainsi la présence de formazan, mesurée par une technique de fluorimétrie, est synonyme de viabilité cellulaire.

Le test consiste à mettre en contact le réactif WST-1 avec les puits contenant les cellules

que l'on veut tester. Après avoir respecté un temps d'incubation de 2 heures, un lecteur de microplaques permet de mesurer l'absorbance des puits à 415 nm (figure 14) (Marref, 2018).



**Figure 14:** Protocole schématisé du test WST-1.

### 4.2. Evaluation d'activité anti cancéreuse *in vivo*

#### 4.2.1. Détermination du pourcentage de cellules en phase M (IM)

Pendant la mitose, le processus de condensation de l'ADN est régulé par la phosphorylation de l'histone H3, une protéine nucléaire associée à l'ADN. L'anticorps antiphospho-histone H1 (PHH3) est un marqueur universel pour la mitose en détectant l'histone phosphorylée. Les cellules cancéreuses ont été marquées par un colorant fluorescent Hoechst et par un anticorps PHH3 afin de déterminer l'IM. Une augmentation de l'IM par rapport au contrôle signifie que les cellules sont entrées dans la mitose mais ont été bloquées avant la fin de la division. Ainsi, l'action des composés se produit pendant la phase M avant le point de contrôle. Une diminution de l'IM par rapport au contrôle signifie que les cellules ne sont pas entrées dans la phase M. Ainsi, l'action des composés se produit avant le début de la phase M.

#### 4.2.2. Détermination du pourcentage de cellules en phase S (%S)

Les cellules sont cultivées avec BrdU, un analogue de la thymidine qui est incorporé dans les cellules pendant la phase de synthèse de l'ADN (phase S). Les cellules cancéreuses ont été marquées avec un colorant fluorescent Hoechst et un anticorps BrdU afin de déterminer le pourcentage de cellules dans la phase S. Une augmentation du pourcentage de cellules dans la phase S par rapport au contrôle signifie que les cellules sont entrées dans la phase de synthèse d'ADN mais ont été bloquées avant la fin de la réplication. Ainsi, l'action des composés se produit pendant la phase S avant le point de contrôle. Une diminution du pourcentage de cellules dans la phase S par rapport au contrôle signifie que les cellules ne sont pas entrées dans la phase S. Ainsi, l'action des composés se produit avant le début de la phase S.

#### 4.2.3. Détermination de la phase du cycle cellulaire ciblée

Pour élucider la phase du cycle cellulaire ciblée par les extraits actifs, nous comparons le pourcentage de cellules dans les phases S et M entre le contrôle et les traitements par les extraits.

### 5. Activité antiulcéreuse *in vivo*

Le principe de l'activité curative des ulcérations consiste à provoquer d'abord des ulcères gastriques chez les rats, en administrant per os le mélange ulcérogène (éthanol-HCl-eau) pendant deux jours successifs et à les traiter par l'extrait testée. Cette étude a permis d'évaluer sur le plan curatif, l'efficacité de l'extrait dans le traitement des ulcères gastriques. Détermination de l'indice d'ulcère (IU) de chaque estomac a été exprimé comme la somme des points et le pourcentage de protection (PP) a été calculé par rapport au groupe témoin selon la formule suivante:

$$\text{Inhibition de ulcération} = \left( \frac{\text{indice d'ulcère du groupe contrôle} - \text{indice d'ulcère du groupe traité}}{\text{indice d'ulcère du groupe contrôle}} \right) * 100 .$$

### 6. Activité antidiabétique

Le diabète sucré se définit selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), comme un état d'hyperglycémie chronique relevant de facteurs génétiques et d'environnement agissant souvent conjointement. Il existe 04 types de diabète : Diabète de type 1, diabète de type 2, gestationnel et secondaire

#### 6.1. Evaluation d'activité antidiabétique *in vitro*

##### 6.1.1. Test d'inhibition de l'alpha- amylase

L'amylase de mammifère, sécrétée par la glande pancréatique et de la salive comme étant une enzyme glycolytique à travers le suc pancréatique dans l'intestin, est l'enzyme clé qui catalyse la première étape du processus digestif des hydrates de carbone (glucide) inhibiteurs de l'hydrolyse des hydrates de carbone par l'amylase dans le tractus digestif retardent leur digestion et prolongent son temps, causant une réduction dans le taux d'absorption du glucose (Megh-Raj *et al.*, 2008), et par conséquent diminution des niveaux de glucose plasmatique et abaissement de l'hyperglycémie. (Hong *et al.*, 2008).

### 6.1.2. Effet des extraits sur l'inhibition d'Alpha-glucosidase

Plusieurs études ont montré que les extraits des plantes médicinales peuvent améliorer le taux de la glycémie. Un des mécanismes possibles est l'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase (Marref, 2018). Alpha-glucosidase inhibe de façon compétitive l'hydrolyse des glucides complexes en monosaccharides absorbables. Cet enzyme retarde donc l'absorption des glucides et aboutit à une réduction des glycémies postprandiales. Du fait de leur mécanisme d'action, l'administration est recommandée au début des repas.

### 6.2. Evaluation d'activité antidiabétique *in vivo*

Des rats à jeun (16 heures) ont été traités par une dose intrapéritonéale unique de la streptozotocine (Flucka,  $\geq 98.0$  %) à 60 mg/kg p.c., préparée juste avant l'injection dans un tampon citrate (0.01 M, pH 4.5). Après 72 heures de l'injection de la streptozotocine, les rats qui ont une glycémie supérieure ou égale à 300 mg /dl, sont considérés comme diabétique et sont utilisé dans les expériences. Dans un but d'évaluer l'activité antidiabétique de plantes médicinales chez des rats de laboratoire, trois procédures ont été utilisées; étude à court terme, test de tolérance orale au glucose et étude à long terme.

#### 6.2.1. Etude à court terme

Groupes des rats normaux à jeun ont été répartis en trois groupes (n=5), et ont été traités par voie orale par l'extrait EA aux doses de 100, 250 et 500 mg/kg p.c. La glycémie a été mesurée à 0 min (avant le gavage), à 60, 120, 180, 240 et à 360 min, sur une goutte de sang prélevée à partir de l'extrémité caudale des animaux. Un glucomètre Accu Check Active (Roche), a été utilisé pour les mesures. Quelques rats ont servi de groupe témoin et ont été gavés avec une solution du sérum physiologique (NaCl à 0.9%, 10 ml/kg p.c.)

#### 6.2.2. Test de tolérance orale au glucose

Nombre des rats normaux à jeun ont été répartis en deux groupes (n=5), et ont été traités par voie orale par l'extrait EA à 100 et 500 mg/kg p.c., 60 min avant le gavage d'une solution de glucose (2g/kg p.c.). La glycémie a été mesurée à 0 min (avant le gavage de l'extrait aqueux), à 60 min (avant le gavage du glucose). Groupe des rats ont servi de témoins et ont été gavés par une solution de NaCl (0.9%, 10 ml/kg p.c.). Dans chaque groupe, la glycémie a été mesurée sur une goutte de sang prélevée à partir de l'extrémité caudale des animaux, en utilisant le glucomètre.

**6.2.3. Etude à long terme (7jours)**

Nombres des rats mâles diabétiques ont été répartis en deux groupes (n=7). L'extrait aqueux (EA) a été administré par voie orale, à une dose de p.c., par jour, pendant quelque jours à un groupe (expérimental), l'autre groupe est le groupe témoin, et a été traité en parallèle par du sérum physiologique.

Dans les deux groupes la glycémie à jeun des rats, a été mesurée sur une goutte de sang prélevée à partir de l'extrémité caudale le 1er jour et le 7éme jour, le poids des rats, les quantités de l'aliment et de l'eau consommées ont été aussi mesurées.

**7- Autres activités biologiques**

Il existe d'autres activités biologiques qui ont prouvé l'efficacité des extraits de plantes médicinales telles que : Activité antipyrétique, Activité anticoagulante, Cicatrisante.....etc.



# Conclusion

**Conclusion**

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Les ressources naturelles du règne végétal restent la source fiable et capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques. La recherche des molécules bioactives dans les extraits de plantes va mener à leur utilisation comme alternative des molécules de synthèse. L'utilisation des plantes médicinales dans le domaine pharmaco – thérapeutique montrent une efficacité pertinente grâce à son pouvoir.

Après ce qui a été mentionné ci-dessus, nous constatons que l'évaluation des activités biologiques des extraits de plantes médicinales passe par plusieurs étapes, en commençant par la sélection de la plante médicinale, puis en passant aux méthodes d'extraction les plus courantes telles que : la macération , diffusion , décoction .... Après l'obtention des extraits, nous constatons qu'il existe deux méthodes d'analyse. Analyse qualitative par des tests préliminaire et méthodes chromatographiques, et l'analyse quantitative qui dépend de Dosage des polyphénols totaux, Dosage des Flavonoïdes et tanins condensés. Dans la dernière étape, nous évaluons la capacité des extraits médicinaux à diverses activités biologiques *in vivo* et *in vitro* comme activité antioxydante , anti inflammatoire , antimicrobienne..... etc . Cette capacité des plantes médicinales en fait à l'avenir la matière première dans la fabrication des médicaments nouveaux et efficaces.



# **Références Bibliographiques**

---

## Références Bibliographiques.

Ameenah G. 2006. Plantes médicinales: traditions d'hier et drogues de demain, *Molecular aspects of Medicine* 27 (1). 1-93p.

Chaabi M. 2008. Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines.

Anonyme.2018. Récolter sécher et conserver les plantes aromatiques (PAM) [En ligne] consulté le 10 Avril 2018.

Anonyme.2018. Herboristerie: récolte séchage et conservation. [En ligne] consulté le 12 Avril 2018.

Athamena S, Chalghem I., Kassah-Laouar A, Laroui, S, Khebri, S. 2010.

Baba F. 1991. Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchéne et Ad-diwan : Alger.

Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda S.K. 2016. Methods for in vitro evaluation antimicrobial activity A review. *J.Pharm. Anal.*6, 71–79p.

Barnes p.1998. Anti-inflammatory a *Clinical science.*557-572p.

Beloued A. 2001. Médicinal plants in Algeria. Université publications office.

Ben A.R, Frikha D .faculté des sciences de Gabés ,tunisie.

Benkerro Z ,younici S. 2014. Évaluation in vitro de l'activité anti\_α amylase et antilipase des extraits de la pulpe de citrus limon ,Université Abdrrahmen mira ,bejaia .9,20,21p.

Boligon A.A., Machado M.M., Margareth, L.A .2014. Medicinal chemistry Technical Evaluation of Antioxidant Activity. *Med. Chem.* 4. 517,522p.

Bouacherine R, Benrabia H.2017. Biodiversité et valeur des plantes médicinales dans la phytothérapie: Cas de la région de Ben Srour (M'sila). Université Mohamed Boudiaf M'sila.35p.

Bouacherine R, Benrabia H. 2017. Biodiversité et valeur des plantes médicinales dans la phyto thérapie :Cas de la région de Ben Srour (M'sila).Université Mohamed Boudiaf M'sila.

Boudjalal K .2009. Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* , faculté des sciences, université el hadj lakhder , Batna, Algérie.

Boukhatem M N, Ferhat A , Kameli A. 2019. Méthodes d'extraction et de distillation des siles

---

[en ligne]. Algérie.

Boumediou A, Addoun S. 2017. Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen. 67p.

Bouziane Z. 2017. Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales de la région d'Azail (Tlemcen –Algérie). Université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen. 60p.

Canton M. 2019. Evaluation d'activité anti –inflammatoire .université Can.

Chabrier J.Y. 2010. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Université Henri Poincaré - Nancy 1. 165p.

Chakou F.Z, Medjoudja K .2014. Etude bibliographique sur la phytochimie de quelques espèces du genre *Nitraria*. Université Kasdi Merbah, Ouargla .24p.

Chenini B,H .2021. Contribution à l'étude phytothérapeutique: neuroprotectrice, anti-inflammatoire, anti-ulcère, antidiabétique et antioxydante des dattes Algériennes (*Phoenix dactylifera* L.) Etude in vitro et in vivo. Université Abd elhamid Ibn Badis, Mostganem. 128, 129p.

Chou C, T. 1997. The Anti-inflammatory Effect of an Extract of *Tripterygium wilfordii* Hook F on Adjuvant-induced Paw Oedema in Rats and Inflammatory.

Delille L .2007. Les plantes médicinales d'Algérie. Université d' Alger. 122p.

Djebli N, Rais M.M, Keskin M, Kolayli S. 2021. Anti-Ulcerogenic and Cytoprotective Effects of Saharian (Sidr) Honey from Algeria. CombChem High Throughput Screen.

Dr. Charlott Th. 2017. les anticancéreux dans la biodiversité végétale mondiale en Nouvelle Calédonie. Université CAEN normandie. 10-30p.

Girad B, *Euphorbia stenocla* Baill. (Euphorbiaceae), *Anogeissus liocarpus* Guill. Etperr. (Combrétaceae), *Limoniastrum feei* (Plumbaginaceae). Université, Louis Pasteur et Université Mentouri de Constantine (Alger). 179, 180p.

Gaci Y. Lahiani S. 2017. Evaluation de l'activité antimicrobienne et cicatrisante d'extraits de deux plantes de la Région de Kabylie: *Pulicaria odora* L. et *Carthamus caeruleus* L. Université Mouhamed Bougara, Boumerdes. 50p.

---

Gayet C, Michel P.2013.Guide de poche de la phytothérapie. Paris .

Ghizlane H.2017.Screening phytochimique, etude toxicologique et valorisation pharmacologique de matricariachamomilla l'et dr l'ormenismixta l;(asteraceae) . faculté de médecine et de pharmacie- Rabat. 72p.

Girad A .2008. Amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed , Journal of Food chemistry. 247 – 25p.

Govindappa M., Poojashri M N.2011. Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity of ethanolextract and active phytochemical screening of Wedelia trilobata (L.) Hitchc. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy.43-51 p.

Grunwald J. Janick C.2006. Guide de la phytothérapie. 2ème édition. Italie : marabout.

Guelmine M. 2018. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de deux plantes médicinales (*Artemisia herba alba*) et (*Nerium oleander*) dans la région de Biskra. Université Mohamed Khider-Biskra. 30p.

Habibatni Z. 2009. Effet toxicologique de quelques plantes algériennes. Université Mentouri de Constantine.77p.

Hilina R. Les bénéfices et les inconvénients de la phytothérapie

Hopkins W. G. 2003. Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier SA, Paris. 514p.

Ibrahima D.2019.Potentiel anti oxydants et anti inflammatoire de sporophores de *Leninula*, université de Montpellier.

Iserin P.2001.Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème édition. Londres : Larousse.

Khiredine, H. 2013. Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie .Université Mohamed Bougara,boumerdes.97p.

Kou J M, Dai G, Lin Y and Zhu D.2006.Anti-inflammatory activity of *Polygala japonica* extract. Fitoterapi .77- 411–415p.

Kumari S, Yasmin N, Hussain M.R, Babuselvam M. 2015. In vitro anti-inflammatory and anti-

---

arthritic property of *Rhizoporamucronata* leaves. *IJPSR*, 6:482–5p.

Ladhem N. 2016. Contribution à l'étude de l'effet antibactérien et antioxydant de l'extrait aqueux de *Tetraclinis articulata* (Thuya de Berbérie). Université Aboubakr Belkaïd–Tlemcen. 51p.

Lkhoumsi D, Chafai Elalaoui A, Guermal A, Bachar M, Boukil M. 2009. Guide Des Bonnes Pratiques De Collecte Des Plantes Aromatiques Et Medicinales Du Maroc. Rapport : Intégration de la biodiversité dans les chaînes de valeurs des plantes aromatiques et médicinales méditerranéennes du Maroc. 23p.

Ma L, Liu Z, Zhou B, Yang L, et Liu Z. 2000. Inhibition of free radical induced oxidative hemolysis of red blood cells by green tea polyphenols. *Chinese science bulletin*, 45(22), 2052-2056.

Meddour R, Meddour S. 2011. Medicinal plants and their traditional uses in Kabylia (Algeria). *Arabian journal of medicinal and aromatic plants*.

Messioughi A. 2010. Analyse des substances actives "les flavonoïdes" et action antibactérienne d'une fabacée à un intérêt médicinal "*Medicago sativa*" cultivé sur les sols du Nord-Est algérien. Université Badji Mokhtar, Annaba, 107p.

Nahal Boudierba N. 2016. Etude ethnobotanique, écologique et activités biologiques de la coloquinte (*Citrullus colocynthis* L.) et du contenu floristique de la région de Béchar. Université Mustapha Stambouli, Mascara. 138p.

Nawale S, Priyanka N, Das S, Ganga Raju M. 2019. Data of in vivo screening of antiulcer activity for methanolic extract of *Vernonia elaeagnifolia* D.

Nico V. 2003. Encyclopédie des plantes médicinales et aromatiques. Paris : Maxi livres. pp. 13. ffhal-02602440f.

Noury P. 2016. Dosage de l'activité enzymatique Super Oxyde Dismutase (SOD) sur microplaque. PP. 3. hal-02602440.

Nyilimana. 2007. Contribution à l'étude de l'activité anti-ulcéreuse de *Lebtonia hastata* (Pers.) université de Dakar.

Oktay M, Gülçin İm, Küfrevioğlu Ö. İ. 2003. Determination of in vitro antioxidant activity of

---

fennel (*Foeniculumvulgare*) seed extracts. *LWT - Food Sci. Technol.* 36p.

Ounis R ,Boumaza D. 2018. Evaluation du contenu phénolique et des activités biologiques de *Teucriumpolium*. Université L'arbi Ben Mhidi-Oum El Bouaghi.94p.

RaimiM M et Oyedapo O. 2009. Bioactivity-guidedevaluation of the rootextract of *Plumbagozeylanica*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(4).

Sakat S, Juvekar M, Gambhire M. 2010. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 146-155p.

Salhi S, Fadli M, Zidan, Douirq A. 2010. Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra .*Revue Naza* . 133p.

Sango R. 2006. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. University Bamako (Mali). 53p.

Saraf M. N.1999. Membrane stabilizingactivity—a possible mechanism of action for the anti-inflammatoryactivity of *Cedrusdeodarawoodoil*. *Fitoterapia*.70p.

Sebai M , Boudali M. 2012. La Phytothérapie entre la confiance et méfiance. Institut de formation paramédical. Alger.65p.

Seghaouil M, Zermane A. 2017. Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques in vitro de l'espèce *Myrtuscommunis* L. Université des Frères Mentouri Constantine.79p.

Singh S, Singh R.P.2008. In vitro methods of assay of antioxidants: An overview. *Food Rev. Int.* 24, 392–415p.

Umezawa T.2003.Diversity in lignanbiosynthesis. *Phytochem. Rev.* 2(3): 371-390p.

Vadivu R, Lakshmi S. 2008. In vitro and In vivo anti-inflammatoryactivity of leaves of *Symplocoscochinchnensis* (Lour) Moore ssplaurina. Bangladesh .

Zerari M.2016.Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales utilisées dans le -nord d'Algérie. Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.44p.

Zerriouh M .2015.Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de

---

Hammadascoparia (Pomel), « Remth », Université Abou BekrBelkaid ,Tlemcen .54,55p.