UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Par :

KARA Ferial
BRAHIMI Manal

Thème :

Analyse chimique et évaluation de l'activité biologique d'un extrait d'une plante médicinale.

Soutenue publiquement le 25/06/2024, Devant le jury composé de :

MIMI.N	Grade : MCA	UYFM	Président
OUAZIB.F	Grade : MCA	UYFM	Examinateur
Dr. KIRDI Rachida	Grade : MCB	UYFM	Encadreur

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Tout d'abord on rend grâce à

Allah

Le tout puissant qui nous a donné la santé et la volonté pour arriver à ce travail.

Et après nous remercions nos parents pour leurs aides.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice ***Dr KIRDI RACHIDA*** *pour l'encadrement de ce mémoire et pour son aide, sa patience et la confiance qu'il nous a accordée.*

Nous remercions tous les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous font en acceptent d'examiner et de juger notre travail.

Notre profonde gratitude va également à tous les enseignants et les Enseignantes de département de science de la matière qui ont participé Le long de ces 5 années à notre formation et pour leurs très grands dévouements.

Nous exprimons nos remerciements à l'équipe du laboratoire de faculté de la science d'université de Médéa.

Nous remercions ***AISSANI ALI*** *pour leur aide et leur soutien.*

Et bien sûr sans oublier de remercie tous les étudiants de la promotion Master 2 chimie pharmaceutique 2023/2024.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui nous ont aidé dans ce travail de près ou loin.

Dédicaces

Dédie ce travail, tout d'abord aux deux êtres, les plus chères à mon cœur, mes parents, qui sont l'idéal pour moi, d'affection, de tendresse, de sacrifices... et qui m'ont aidé à être ce que

Je suis... que dieu les garde.

A toute la famille petite et grande.

À** Ma binôme **MANAL** que j'ai partagé Avec lui des moments inoubliables**.

A mes amies chacune à son nom.

A tous mes collègues.

A tout ce qui ont consacré leur temps, patience et conseils, surtout dans les moments difficiles.

FERIAL

Dédicaces

Avec l'aide et la grâce de Dieu a achevé ce modeste travail que je dédie

À :

À Ma mère, *qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices*

Consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie,

Reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon

Éternelle gratitude.

À Mon père, *qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit.*

Merci pour vos nobles valeurs, votre éducation et votre soutien continu.

***À** ma chère sœur que j'aime du fond de mon cœur : **Manar**.*

À** mes chers frères que j'aime du fond de mon cœur : **Saif Eddin** et **Oussama.

***À** toute ma famille.*

***À** Ma binôme **Ferial** que j'ai partagé Avec lui des moments inoubliables.*

***À** tous mes collègues et chaque personne connait moi.*

MANAL

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو التحليل الكمي للفينولات الكلية والفلافونويدات وتقييم الأنشطة البيولوجية: وخاصة النشاط المضاد للأكسدة، والمضاد للميكروبات، والمضاد للالتهابات لمستخلص النبات الطبي المدروس .وتقييم السمية الفموية الحادة في الجسم الحي. أولاً، تم إجراء استخلاص المكونات النشطة من الأجزاء الهوائية للنبات المدروس (البوليفينولات والفلافونويدات) باستخدام مزيج من الإيثانول والماء (20/80) كمذيب. تم الاستخلاص على فترات 24 ساعة، 48 ساعة و72 ساعة لتحديد الوقت الأمثل لاستخلاص الفينولات الكلية والفلافونويدات.

أظهرت الدراسة على الفترات الثلاثة للاستخلاص (24 ساعة، 48 ساعة و72 ساعة) تفاوتات كبيرة في العوائد وكذلك نسب البوليفينولات والفلافونويدات. الاستخلاص الذي تم على مدى 24 ساعة أنتج عائدًا بنسبة 22.84% مع نسب عالية من البوليفينولات (57.57±6.09 ميكروغرام EAG/ملغ من المستخلص) والفلافونويدات (15.27±3.55 ميكروغرام EQ/ملغ من المستخلص). ولكن، تمديد وقت الاستخلاص إلى 48 و72 ساعة أسفر عن عوائد أعلى (33.74% و34.52% على التوالي) لكن بنسب أقل من البوليفينولات والفلافونويدات. في 48 ساعة، كانت النسب (36.63±5.60 ميكروغرام EAG/ملغ من المستخلص)، (8.78±2.57 ميكروغرام EQ/ملغ من المستخلص)، بينما في 72 ساعة، كانت (27.75±4.20 ميكروغرام EAG/ملغ من المستخلص)، (5.90±1.07 ميكروغرام EQ/ملغ من المستخلص) للبوليفينولات والفلافونويدات على التوالي. يعزى هذا التفاوت إلى أكسدة المركبات الفينولية والفلافونويدات بمرور الوقت، ولذلك تم اختيار المستخلص لمدة 24 ساعة لتقييم الأنشطة البيولوجية. أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص ضد سلالات ميكروبية مختلفة تأثيرات تثبيطية ضعيفة ضد Pseudomonas aeruginosa وBacillus Subtilis، بالإضافة إلى تثبيط متوسط ضد Escherichia coli وStaphylococcus aureus. كشف تقييم النشاط المضاد للجذور ضد DPPH عن قوة مضادة للأكسدة كبيرة لـ IC50 تبلغ 2.87 ± 0.014 ملغم / م، مقارنة بحمض الأسكوربيك.أشار اختبار انحلال كريات الدم الحمراء إلى أن المستخلص غير سام لكريات الدم الحمراء البشرية. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت دراسة استقرار الأغشية الحمراء للدم في المختبر معدلات استقرار مشابهة لتلك التي تم الحصول عليها مع الديكلوفيناك، حيث بلغت 99.20% للمستخلص و99.28% للديكلوفيناك، مما يعكس تأثيرًا مضادًا للالتهابات للمستخلص.

تم تقييم السمية الفموية الحادة لمستخلص النبات (الأجزاء الهوائية) على الجرذان (ذكور/إناث). لم يُظهر المستخلص بجرعة واحدة مقدارها 2000 ملغ/كغ أي علامات سمية أو وفيات مرتبطة بالعلاج لدى أي من الحيوانات المختبرة خلال فترة المراقبة التي استمرت 14 يومًا؛ وبالتالي، قُدرت الجرعة المميتة الوسطية (LD50) للنبات بأكثر من 2000 ملغ/كغ.

أخيرًا، تم صياغة مكمل غذائي قائم على المستخلص النباتي، ولكن لم يكن بالإمكان تقييم فعاليته بسبب قيود الوقت والموارد.

الكلمات الرئيسية: نبات طبي، بوليفينولات، فلافونويدات، مستخلص نباتي، مضاد للأكسدة، مضاد للميكروبات، مضاد للالتهابات، مكمل غذائي.

Résume

L'objectif de cette étude est d'analyser quantitativement les phénols totaux et les flavonoïdes et évaluer les activités biologiques in vitro : en particulier l'activité antioxydant, antimicrobienne et anti-inflammatoire de l'extrait de la plante médicinale étudiée et évaluer la toxicité orale aiguë in vivo. Tout d'abord on a effectué l'extraction des principes actifs à partir des parties aériennes de la plante étudiée (polyphénols et flavonoïdes) en utilisant un mélange d'éthanol et d'eau (80/20) comme solvant. L'extraction a été réalisée sur des périodes de 24h, 48h et 72h pour déterminer le temps optimal d'extraction des phénols totaux et flavonoïdes.

L'étude sur les trois durées d'extraction (24h, 48h et 72h) a révélé des variations significatives dans les rendements ainsi que les taux de polyphénols et de flavonoïdes. L'extraction réalisée sur 24 heures a produit un rendement de 22,84 % avec des teneurs élevées en polyphénols (57,57±6,09µg E AG/mg d'extrait) et en flavonoïdes (15,27±3,55µg E Q/mg d'extrait). Cependant, prolonger le temps d'extraction à 48 et 72 heures a engendré des rendements plus élevés (33,74 % et 34,52 % respectivement) mais des taux faibles en polyphénols et flavonoïdes. À 48 heures, les tenures sont de (36,63±5,60 µg E AG/mg d'extrait), (8,78±2,57 µg E Q/mg d'extrait), tandis qu'à 72 heures, elles sont de (27,75±4,20 µg E AG/mg d'extrait), (5,90±1,07 µg E Q/mg d'extrait) pour les polyphénols et flavonoïdes respectivement. Cette disparité est attribuable à l'oxydation des composés phénoliques et flavonoïdes au fil de temps pour cette raison l'extrait de 24h a été choisi pour évaluer les activités biologiques. L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait contre différentes souches microbiennes a montré des effets inhibiteurs faible contre *Pseudomonas aeruginosa*, et *Bacillus Subtilis*, ainsi qu'une inhibition moyenne contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. L'évaluation de l'activité antiradicalaire vis-à-vis du DPPH a révélé un pouvoir antioxydant significatif d'IC50 de 2,87±0,014 mg/m, comparant l'acide ascorbique. Le test d'hémolyse des globules rouges a indiqué que l'extrait n'est pas toxique pour les hématies humaines. De plus, l'étude de la stabilité membranaire des globules rouges in vitro a montré des taux de stabilité similaires à ceux obtenus avec le diclofénac, soit 99,20% pour l'extrait et 99,28% pour le diclofénac, ce qui traduit un effet anti-inflammatoire de l'extrait.

La toxicité orale aiguë de l'extrait de la plante (parties aériennes) a été évaluée chez des rats (male/femelle). L'extrait à une dose unique de 2000 mg / kg n'a produit aucun signe de toxicité ou de mortalité lié au traitement chez aucun des animaux testés pendant la période

d'observation de 14 jours ; par conséquent, la DL50 de la plante a été estimée au-dessus de 2000 mg/kg.

Enfin, un complément alimentaire à base de l'extrait végétal a été formulé, mais son efficacité n'a pas pu être évaluée en raison de contraintes de temps et de ressources.

Mots clés : Plante médicinale ; Polyphénols ; Flavonoïdes, Extrait végétal, Antioxydant, Antimicrobien, Anti-inflammatoire, Complément alimentaire**.**

Abstract

The aim of this study is to quantitatively analyze total phenols and flavonoids and evaluate the biological activities, particularly the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of the extract from the studied medicinal plant and assess acute oral toxicity in vivo. Initially, active ingredient extraction was performed from the aerial parts of the studied plant (polyphenols and flavonoids) using a mixture of ethanol and water (80/20) as the solvent. Extraction was carried out for periods of 24 hours, 48 hours, and 72 hours to determine the optimal extraction time for total phenols and flavonoids.

The study on the three extraction durations (24 hours, 48 hours, and 72 hours) revealed significant variations in yields as well as polyphenol and flavonoid levels. Extraction conducted over 24 hours yielded 22.84% with high content of polyphenols (57.57±6.09 µg GAE/mg of extract) and flavonoids (15.27±3.55 µg QE/mg of extract). However, extending the extraction time to 48 and 72 hours resulted in higher yields (33.74% and 34.52% respectively) but lower levels of polyphenols and flavonoids. At 48 hours, the levels were (36.63±5.60 µg GAE/mg of extract) and (8.78±2.57 µg QE/mg of extract), while at 72 hours, they were (27.75±4.20 µg GAE/mg of extract) and (5.90±1.07 µg QE/mg of extract) for polyphenols and flavonoids respectively. This disparity is attributed to the oxidation of phenolic and flavonoid compounds over time; hence the 24-hour extract was chosen to evaluate the biological activities. Evaluation of the antibacterial activity of the extract against different microbial strains showed weak inhibitory effects against Pseudomonas aeruginosa, and Bacillus Subtilis, as well as average inhibition against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. The evaluation of the anti-radical activity against DPPH revealed a significant antioxidant power of IC50 of 2.87±0.014 mg/m, comparing ascorbic acid. red blood cell hemolysis testing indicated that the extract is not toxic to human erythrocytes. Additionally, in vitro red blood cell membrane stability study showed stability rates similar to

those obtained with diclofenac, at 99.20% for the extract and 99.28% for diclofenac, indicating an anti-inflammatory effect of the extract.

The acute oral toxicity of the plant extract (aerial parts) was evaluated in rats (male/female). The extract at a single dose of 2000 mg/kg did not produce any signs of toxicity or treatment-related mortality in any of the animals tested during the 14-day observation period; therefore, the LD50 of the plant was estimated to be above 2000 mg/kg.

Finally, a dietary supplement based on the plant extract was formulated, but its efficacy could not be evaluated due to time and resource constraints.

Keywords: Medicinal plant, Polyphenols, Flavonoids, Plant extract, Antioxidant, Antimicrobial, Anti-inflammatory, Dietary supplement.

SOMMAIRE

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction …….1

Partie théorique

Chapitre I : Les plantes médicinales et phytothérapie

I.1 Les plantes médicinales……..…4

I.1.1 Historique……4

I.1.2 Définition des plantes médicinales…….5

I.1.3 Définition de principe actif…….6

I.1.4 Formes d'utilisation et préparation des plantes……..6

I.1.4.1 L'infusion……6

I.1.4.2 La décoction……6

I.1.4.3 La macération……..7

I.1.4.4 La fumigation……..7

I.1.5 Formes d'utilisation des plantes…….7

I.1.5.1 Tisane……...7

I.1.5.2 Sirop……7

I.1.5.3 Le cataplasme…….7

I.1.5.4 Poudre…….8

I.1.5.5 Les onguents……...8

I.1.6 Domaine d'application des plantes médicinales……8

I.1.6.1 Utilisation en cosmétiques……...8

I.1.6.2 Utilisation en alimentation……8

I.1.6.3 Utilisation en médecines……9

I.2 La phytothérapie……..9

I.2.1 Historique de la phytothérapie……..9

I.2.2 Définition de la phytothérapie……...9

I.2.3 Les types de la phytothérapie……..10

I.2.3.1 Aromathérapie……...10

I.2.3.2 Gémothérapie……11

I.2.3.3 Herboristerie……..11

I.2.3.4 Homéopathie…….11

I.2.3.5 La phytothérapie pharmaceutique……..11

I.2.4 Avantages et inconvénients de la phytothérapie…… ..12

I.2.4.1 Avantages de la phytothérapie……...12

I.2.4.2 Les inconvénients de la phytothérapie……..12

Chapitre II : Les métabolites secondaires

II.1 Les métabolites secondaires……..14

II.1.1 Définition……....14

II.1.2 Classification des métabolites secondaires……14

II.1.2.1 Les composés phénoliques……..14

II.1.2.1.1 Classification des composés phénolique……...15

II.1.2.1.1.1 Acides phénoliques…….15

II.1.2.1.1.2 Flavonoïdes……17

II.1.2.1.1.3 Les tanins……18

II.1.2.1.1.4 Les coumarines……...19

II.1.2.1.2 Propriétés biologiques des composés phénoliques……20

II.1.2.2 Les Terpénoïdes……21

II.1.2.3 Les alcaloïdes……...21

II.2 Les activités biologiques……22

II.2.1 L'activité antioxydant……..22

II.2.1.1 Le stress oxydatif……..22

II.2.1.2 Radicaux libres…….22

II.2.1.3 Les anti-oxydantes……23

II.2.1.4 Les systèmes antioxydants……...24

II.2.1.4.1 Les systèmes non-enzymatiques……...24

II.2.1.3.2 Les systèmes enzymatiques……..24

II.2.2. L'activité anti-inflammatoire……..24

II.2.2.1 Définition de l'inflammation……....24

II.2.2.2 Les types de la réaction inflammation……..24

II.2.2.2.1 L'inflammation aigue……24

II.2.2.2.2 L'inflammation chronique……25

II.2.2.3 Types des anti-inflammatoires…….26

II.2.2.3.1 Anti-inflammatoires non stéroïdien……..26

II.2.2.3.2 Anti-inflammatoires stéroïdiens……...26

II.2.2.3.3 Anti-inflammatoire d'origine végétale…….26

II.2.3 Activité antibactérienne……..27

Chapitre III : Généralités sur les compléments alimentaires

III Généralités……28

III.1 Historique des compliments alimentaires……28

III.2 Définition des compliments alimentaires……28

III.3 Le principe de la complémentation alimentaire……29

III.4 Composition des compléments alimentaires……30

III.4.1 vitamines et minéraux……30

III.4.2 Plantes ou préparations de plantes……..…30

III.4.3 Les substances à but nutritionnel ou physiologique……..30

III.4.4 Les autres ingrédients (les additifs, arômes alimentaires et auxiliaires technologiques) ……...31

III.5 Formes galéniques……31

III.5.1 Définition de sirop……32

III.5.2 La composition du sirop……32

III.5.3 Avantages de la forme pharmaceutique du sirop……33

III.6 Sécurité des compléments alimentaires……33

III.7 Contrôle qualité de compliment alimentaire……34

III.7.1 Contrôle physico-chimique……34

III.7.2 Contrôle microbiologique……..35

III.7.3 Toxicologique……35

III.8 Etiquetage……..35

III.9 Marchés des compléments alimentaires……36

III.9.1 Marché mondial……36

III.9.2 Marché algérien……36

Partie expérimentale

Chapitre IV : matériels et méthodes

IV.1 Matériels et méthodes……37

IV.1.1 Matériel biologique……37

IV.1.1.1 Matériel végétal…….37

IV 1.1.2 Les souches microbiennes…….37

IV.1.2 Produits chimiques……38

IV.1.3 Appareillages et verreries……..39

IV.2 Méthodes……..40

IV.2.1 Séchage, broyage et tamisage……40

IV.2.2 Extraction et préparation d'extrait…….40

IV.2.3 Détermination de rendement d'extraction…….42

IV.2.4 Dosage des métabolites secondaire……42

IV.2.4.1 Dosage de Polyphénols totaux……42

IV.2.4.2 Dosage de Flavonoïdes……43

IV.2.5 Evaluation de l'activité biologique des extraits végétaux……..45

IV.2.5.1 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro……45

IV. 2. 5. 2 Evaluation de l'activité antimicrobienne……..48

IV.2.5.3 Activité anti-oxydante…….50

IV.2.6 La toxicité orale aiguë……52

IV.2.6.1 Mode opératoire……..52

IV.2.6.2 Observations……53

IV.2.7. Application : préparation de complément alimentaire……..53

IV.2.7.1 Préparation du sirop simple……53

IV.2.7.2 Solubilisation des principes actifs……..54

IV.2.7.3 Préparation du liquide…….54

IV.2.7.4 Préparation du sirop final……....54

IV.2.6.5 Contrôle physicochimique du produit fini……...55

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1 Rendement de l'extraction……..57

V.2 Dosage des métabolites secondaire……58

V.3 Evaluation de l'activité biologique d' extrait végétal…….59

V.3.1 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro……59

V.3.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne…….62

V.3.3 Activité anti-oxydante…….63

V.4 La toxicité orale aiguë……65

V.4 Préparation et caractérisation physicochimique de sirop simple …… …….66

Conclusion……67

Références bibliographiques……..69

Annexes……80

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
I.1	Les plantes médicinales	**5**
II.1	Le noyau phénols	**15**
II.2	Structure d'acides hydroxybenzoïques communs	**16**
II.3	Structure des principaux acides hydroxycinnamiques communs	**16**
II.4	Structure de base des flavonoïdes	**17**
II.5	Structure des principaux flavonoïdes	**18**
II.6	Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1, 2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose)	**19**
II.7	Structure chimique de coumarines	**20**
II.8	Formation d'une coumarine	**20**
II.9	Exemples de composés terpénoïdes	**21**
II.10	Exemples de composés alcaloïdes	**22**
IV.1	La poudre de la plante médicinale	**40**
IV.2	Illustration des différentes étapes d'extrait alcoolique	**41**
IV.3	Dosages de polyphénol	**43**
IV.4	Dosage de flavonoïde	**44**
IV.5	Préparation de la suspension des globules rouges	**45**
IV.6	Protocole expérimental de détermination de l'activité hémolytique	**47**
IV.7	Etude de la stabilité de membrane des GR	**48**
IV.8	Revivification des souches bactériennes et préparation de l'inoculum	**49**
IV.9	Application des disques	**50**
IV.10	Structure chimique du radical DPPH˙ et de sa forme réduite	**51**

IV.11	Dosage d'anti oxydante	**52**
IV.12	Sirop final	**53**
IV.13	Représentation d'un pycnomètre	**54**
IV.14	Représentation d'un viscosimètre	**55**
V.1	Les rendements d'extraction en fonction de temps	**57**
V.2	Tenure en polyphénols en ug EAG /mg d'extrait	**58**
V.3	Tenure en flavonoïdes en ug EQ/mg d'extrait	**59**
V.4	Effet hémolytique de l'extraite de la plante médicinale	**60**
V.5	Résultats de l'effet de l'extrait de et le diclofénac de potassium sur la stabilité de la membrane des GR	**61**
V.6	Le sirop préparé dans la présente étude	**66**

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
IV.1	Liste des produits chimiques utilisés	**38**
IV.2	Liste des Appareillages et verreries utilisés	**39**
IV.3	Estimation de la sensibilité des souches	**50**
V.1	Les résultats des tests antimicrobiens	**63**
V.4	Résultat du test antioxydant exprimant la concentration efficace 50% en mg/ml	**64**
V.5	Résultats des contrôles organoleptiques et physicochimiques	**66**

Liste des abréviations

% : Pourcentage

µg : microgramme

µl : microlitre

Abs : absorbance

Ac : absorbance de control

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AMM : Autorisation mise sur le marché

At : absorbance de l'échantillon

BHA: Butylated Hydroxy anisole

BHT: Butylated Hydroxytoluene

C° : Degré Celsius

CA : Complément alimentaire

CAT : Catalase

CI_{50} : concentration inhibitrice de 50%

COX-2 : Cycloxygénase

DGCCRF : Direction générale de la concurrence consommation et de la répression des fraudes

DO : densité optique

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EAG /mg : d'extrait équivalent d'acide gallique par milligrammes d'extrait

EC_{50} : Efficient concentration 50

ED : Eau distillé

g : gramme

GPX : Glutathion peroxydase

GR : globules rouges

GR : Glutathion réductase

GST : Glutathion S-transférase

h : heure

HT : Tanin hydrolysable

INOS : Oxyde nitrique synthèse inductible

J : jour

J.C : Jésus christ

LOX : Lipoxygénase

m0 : Masse en (g) de l'extrait récupérée

m1 : Masse en (g) de la matière végétale initiale utilisée pour l'extraction

mg : milligramme

MH : Muller-Hinton

Min : minute

ml : millilitre

nm : nanomètre

OMS : Organisation mondiale de la santé

PA : Principe actif

PAM : Plantes Aromatique et médicinales

PBS : tampon phosphate salin

PC : pas de changement

Ph : Potentiel hydrogène

Phe : la Phénylalanine

PLA_2 : phospholipase A_2

Rdt : rendement en pourcentage

Rpm : Revolutions Per Minute

SOD : Superoxyde dismutase

Tyr : la tyrosine

UFC : unité formatrice de colonie

UV : rayonnement ultra-violet

V/V : Volume/ Volume

Introduction

Introduction

Depuis l'Antiquité, l'homme a utilisé les plantes dans tous les aspects de sa vie, que ce soit pour se nourrir, se soigner, s'habiller ou encore pour le lavage **(Mahdi, 2018).** On estime que le nombre d'espèces de plantes à fleurs connues s'élève à environ 500 000. Parmi ces espèces, environ 34 000 restent encore inconnues à ce jour, et près de 80 000 possèdent des propriétés médicinales **(Quyou, 2003).**

Aujourd'hui, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaires **(Donatien, 2009).**

Les plantes médicinales contiennent des métabolites secondaires, qui sont des molécules non essentielles à la vie des plantes de manière directe, contrairement aux métabolites primaires impliqués dans les principales voies du métabolisme central. Ces métabolites secondaires jouent un rôle crucial dans la tolérance des plantes aux divers stress. Actuellement, de nombreuses études portent sur la recherche, l'identification et l'utilisation des composés d'origine naturelle afin d'évaluer les vertus thérapeutiques de ces plantes **(Benabdelkader, 2012**).

Aussi, l'extraction des métabolites secondaires et notamment les polyphénols, qui suscitent beaucoup d'intérêt grâce à leur pouvoir antioxydant, antimicrobien, anti-inflammatoire est une étape très importante dans l'isolement ainsi que dans l'identification de ces composés **(Mahmoudi et al, 2013)**. Aujourd'hui, il est possible de synthétiser un grand nombre de ces substances actives, qui agissent souvent en synergie, complétant ou potentialisant leurs effets respectifs **(Cadet, 2017**).

Le développement de l'industrie pharmaceutique a entraîné une transformation de la médecine moderne. La nature n'était plus la seule source de soins. Grâce aux avancées en chimie, il a été possible de créer des molécules inédites et complexes qui peuvent traiter des maladies qui étaient auparavant considérées comme incurables.

Cependant, avec la mondialisation et l'accès facilité à l'information via internet, l'aspect "artificiel" et "chimique" des médicaments, ainsi que leurs effets indésirables potentiels, ont suscité une tendance croissante vers un retour au naturel et à des moyens de santé plus sains. Cet engouement, caractérisé par un comportement d'automédication, a

poussé les industriels à intégrer des plantes dans de nombreux produits, en particulier les compléments alimentaires (CA) **(Tamimy, 2021).**

Au cours de ces dernières années les résultats des recherches conduit par des spécialistes(médecins, biologistes, pharmaciens, botanistes, agronomes, écologistes et économiste) concourent à démontrer les effets néfastes des médicaments à base de produit chimiques pour l'organisme de l'être humain, c'est pour cela que ces produits naturels sont très demandés dans le monde, donc il est temps de multiplier nos efforts pour faire évaluer ce domaine «plante médicinale et culture biologique», par l'application des résultats de recherches scientifiques, de techniques appropriées de production et de dosage **(Messaoudi, 2005**).

Ce mémoire s'inscrit dans le contexte mentionné précédemment, visant à développer un complément alimentaire à base d'une plante médicinale. L'objectif de cette étude est d'analyser quantitativement les polyphénols et les flavonoïdes et évaluer les activités biologiques de l'extrait végétal préparé à l'aide de solvant non toxique et respectueux de l'environnement. Les activités biologiques ciblées comprennent notamment l'activité antioxydant, l'activité antibactérienne et l'activité anti-inflammatoire de l'extrait préparé.

Ce mémoire se divise en deux grandes parties :

- La première partie, qui correspond au chapitre I, II et III est une étude bibliographique qui commence par des généralités sur les plantes médicinales et leurs métabolites secondaires suivi par les activités Biologiques notamment l'activité antimicrobienne et l'activité anti-inflammatoire et l'activité antioxydant Cette partie se termine par aperçu sur les généralités des compléments alimentaires.

- La deuxième partie comporte l'étude expérimentale, et subdivisée en deux chapitres :

  - Le premier chapitre regroupe l'ensemble de matériels utilisé pour la réalisation de cette étude ainsi que la méthodologie de travail qui a commencé par la préparation d'extrait végétal avec le solvant éthanolique, analyse chimiques et l'évaluation de l'activité biologique d'extrait. Un essai de formulation sous forme sirop à base d'extrait végétale de plante étudiée a été réalisé au sein du Laboratoire de Département SM, Faculté des Sciences de l'Université de Médéa.

- Le deuxième chapitre présente tous les résultats obtenus et ainsi que leurs discussions.

Finalement, Nous achevons notre travail par une conclusion et perspectives.

Chapitre I :

Les plantes médicinales et phytothérapie

I.1 Les plantes médicinales

I.1.1 Historique

Il est extrêmement difficile de déterminer précisément le moment où les plantes ont été utilisées à des fins médicinales. Des indications suggèrent que les plantes étaient cultivées à cet effet il y a environ 60 000 ans. Les premières traces écrites sur l'utilisation de plantes médicinales remontent à près de 5 000 ans en Inde, en Chine et en Égypte, et à au moins 2 500 ans en Grèce et en Asie centrale. Depuis des temps immémoriaux, les êtres humains ont cherché à guérir leurs maladies en se tournant vers la nature. Tout comme l'utilisation des animaux était initialement instinctive, cette même intuition a également conduit à l'utilisation des plantes à des fins médicinales.

Étant donné qu'à cette époque il n'y avait pas suffisamment d'informations sur les causes de la maladie, les plantes utiles pour les traiter et les moyens de les utiliser à cette fin, tout était empirique. Au fil du temps, les raisons de l'utilisation de certaines plantes médicinales pour le traitement de certaines maladies ont été découvertes ; par conséquent, l'utilisation des plantes médicinales a progressivement rejeté le cadre empirique et s'est limitée aux faits. Les premières preuves écrites de l'utilisation de plantes médicinales pour la préparation de médicaments ont été trouvées sur une dalle d'argile sumérienne de Nagpur datant d'il y a près de 5 000 ans. Selon certaines inscriptions, les Égyptiens et les Chinois qui utilisaient les plantes comme médicaments depuis plus de 27 siècles avant JC étaient parmi les premiers êtres humains à l'avoir fait. Les Grecs de l'Antiquité connaissaient également les propriétés médicinales de certaines plantes médicinales, et Hippocrate, fondateur de la médecine grecque, et Aristote, élève d'Hippocrate, utilisaient des plantes médicinales pour traiter les maladies. Après cela, Théophraste, un scientifique grec, fonda l'École des plantes médicinales. Ensuite, Pedanius Dioscorides (Il vécut au premier siècle après JC), médecin et chirurgien dans les années 75-45 avant JC, écrivit une encyclopédie, appelée De Materia Medica, pour décrire 600 plantes médicinales thérapeutiques sous la forme d'une série d'études scientifiques. Sur les plantes médicinales **(jamshidi –Kia et al ,2017)**.

En Algérie, les plantes médicinales sont utilisées depuis plus d'un millier d'années. Dans le Maghreb et en Algérie, les premières mentions des plantes médicinales remontent au 9ème siècle lorsque le docteur Ishâ-Ben-Amran a écrit différents traités sur la médecine et les drogues simples. Abdallah-Ben-Lounès, originaire d'Oran, a évoqué l'emploi de nombreuse plantes médicinales. En 1942, Fourment et Roques ont publié un livre consacré aux PAM en Algérie, où 200 espèces ont été examinées, la majorité venant du Nord de l'Algérie, tandis que

seulement 6 provenaient du Sahara. Les ouvrages de Beloued sont les plus récents travaux publiés sur les plantes médicinales algériennes **(Latreche Douar, 2019).**

I.1.2 Définition des plantes médicinales

Ces plantes incluent toutes les substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la fabrication de drogues bénéfiques (**Sofowora**, **2010**).

La Pharmacopée Française (11e édition en vigueur) définit les plantes médicinales comme des drogues végétales dont au moins une partie présente des propriétés médicamenteuses. Les utilisations de ces plantes médicinales peuvent également être alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (**Limonier ,2018**).

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) n'établit pas de définition précise de plante médicinale, mais de médicament à base de plantes, tout en classant l'usage de plantes médicinales et de médicaments à base de plantes parmi les médecines et formes habituelles de médication. Par conséquent, selon l'organisme international, les médicaments à base de plantes englobent « des plantes, des matières végétales, des préparations à base de plantes et des produits finis qui contiennent des parties de plantes, d'autres matières végétales ou des associations de plantes ». Ce terme est très similaire à celui adopté par les autorités sanitaires françaises (**OMS, 2000**).



Figure I.1 : Les plantes médicinales **(Saidi, 2022).**

I.1.3 Définition de Principe actif

Il s'agit d'une substance qui a un potentiel thérapeutique curatif ou préventif pour l'être humain ou l'animal. On retrouve le principe actif dans une substance végétale ou une préparation à base de substance végétale. Une substance végétale, qu'elle soit en état ou sous forme de préparation, est perçue comme un actif complet, que ses composants aient ou non un effet thérapeutique (**Chabrier, 2010**).

I.1.4 Formes d'utilisation et préparation des plantes

I.1.4.1 L'infusion

Les infusions sont la méthode la plus facile d'utiliser les feuilles et les fleurs pour obtenir des remèdes ou des fortifiants à partir d'une seule plante ou d'un mélange de plusieurs, et elles sont consumées chaudes ou froides. Il est recommandé de découper en morceaux la substance végétale, puis de la mettre dans un récipient. Déposez la quantité d'eau bouillante requise et laissez reposer pendant 5 à 20 minutes, ou jusqu'à ce que les principes actifs se refroidissent, afin de collecter le plus de substances actives possible. Il est recommandé de consommer les infusions chaudes, jamais bouillantes, bien sûr, et pas du tout froides. Il arrive parfois que certaines infusions plutôt amères soient plus acceptables lorsqu'elles sont consommées à température ambiante ; elles peuvent être utilisées pour des compresses, des lavages, des bains et des rinçages (**Benhamza, 2008**).

I.1.4.2 La décoction

Afin de préparer une décoction, le remède peut être découpé en petits morceaux et écrasé pendant quelques heures dans la quantité d'eau froide appropriée, ou directement dans de l'eau bouillante, en fonction des cas. La préparation est ensuite laissée à ébullition pendant quelques dizaines de minutes, puis filtrée et éventuellement pressée pour en extraire intégralement le suc. Il est recommandé d'utiliser une quantité légèrement plus élevée d'eau afin de compenser celle qui s'est évaporée. Il convient de noter que la décoction n'est pas adaptée à toutes les plantes médicinales, notamment celles qui contiennent des huiles essentielles volatiles. Il est important d'utiliser les décoctions selon les recommandations en termes de méthode et de température, comme pour les infusions. Les matériaux durs ou grossiers, tels que les écorces ou les tiges, ne peuvent être extraits que par la méthode de la décoction. La macération ou le trempage ne sont pas suffisants, mais la cuisson à feu doux du procédé de décoction offre de bons résultats. On parle de décoction simple lorsque cela

concerne une seule plante, et de décoction composée lorsqu'il s'agit d'un mélange de plantes **(Benhamza, 2008).**

I.1.4.3 La macération

Il s'agit de l'utilisation d'un liquide froid (eau, alcool, vin, huile) sur une ou plusieurs plantes pendant plusieurs heures afin d'en extraire les composés actifs ; le produit final est appelé macéré. Il s'agit d'une méthode de préparation utilisée principalement avec les racines ; dans cette situation, il est nécessaire de les écraser avant de les macérer afin d'assurer une meilleure diffusion des principes actifs (**Benhamza, 2008**) .

I.1.4.4 La Fumigation

La fumigation consiste à utiliser des vapeurs contenant des principes actifs d'une plante spécifique. On peut la faire bouillir en utilisant soit un inhalateur, soit en posant la tête sur une serviette éponge, le visage étant placé au-dessus du bol d'eau fumante contenant les plantes **(Bensalek, 2018**).

I.1.5 Formes d'utilisation des plantes

I.1.5.1 Tisane

Sont la méthode d'utilisation la plus classique et la plus facile des plantes médicinales traditionnelles. Depuis un certain temps, les tisanes sont employées en tant que moyens de traitement dans les systèmes médicaux chinois, indiens et d'autres systèmes indigènes. Certaines des tisanes les plus populaires sont composées de camomille et de lamenthe poivrée, avec des propriétés anti-inflammatoires et antimutagènes de la camomille, ainsi que des effets relaxants de l'huile de menthe poivrée sur le système digestif (**El Mitia ,2023).**

I.1.5.2 Sirop

Le miel et le sucre non raffiné sont des conservateurs efficaces qui peuvent être mélangés à des infusions et des décoctions pour donner des sirops. Ils ont en outre des propriétés adoucissantes qui en font d’excellents remèdes pour soulager les maux de gorge **(Iserine, 2001)**.

I.1.5.3 Le cataplasme

Les plantes sont soigneusement hachées, puis mises à chauffer avec un peu d'eau. On peut les broyer à chaud ou à froid, ou les mélanger à de la farine de lin pour obtenir une consistance adéquate. Permettez-vous de frémir pendant deux à trois minutes. **(Jandi, 2017).**

I.1.5.4 Poudre

Les végétaux sont préparés en poudre en les pulvérisant dans un mortier ou un moulin, puis les poudres sont ensuite tamisées. Une granulométrie comprise entre 90 et 125 µm peut être utilisée pour des soins internes ou externes **(Jandi, 2017).**

I.1.5.5 Les onguents

Les onguents sont des préparations crémeuses fabriquées à partir d'huile ou d'autres corps gras, dans lesquelles les composés actifs des plantes sont dissous. Les huiles essentielles sont des composants médicinaux actifs qui y sont inclus. On les met sur les blessures afin de prévenir l'inflammation. Les onguents sont performants pour traiter les hémorroïdes, les gerçures des lèvres ou l'érythème fessier chez les nourrissons **(Iserine, 2001).**

I.1.6 Domaine d'application des plantes médicinales

Au fil du temps, la consommation de substances naturelles a connu une augmentation significative en raison de leurs propriétés thérapeutiques, gustatives et parfumées. La parfumerie, l'agro-alimentaire, l'aromathérapie, la pharmacie, la phytothérapie et les produits cosmétiques naturels sont des domaines où les essences et les extraits obtenus à partir des plantes peuvent être employés **(Yahyaoui**, **2020).**

I.1.6.1 Utilisation en cosmétiques

Les produits de beauté tels que les savons, les crèmes, les aérosols et les déodorants sont de nouvelles connaissances qui sont basées sur les connaissances traditionnelles à base de plantes et sont habituellement utilisés localement. De même, en raison de l'activité importante de l'huile sur le microbiote cutané, elle est donc employée dans le domaine de la cosmétique. En outre, l'emploi d'huiles et de gels naturels permet de préserver ces produits cosmétiques grâce à leur action antiseptique et anti-oxydante, tout en préservant leur parfum plaisant (**Ouled chikh yahya**, **2001**).

I.1.6.2 Utilisation en alimentation

Les épices et les herbes aromatiques employées dans l'alimentation jouent un rôle essentiel dans le plaisir de la table, car elles sont perçues comme des condiments et des arômes. La renommée des épices et des herbes aromatiques a toujours été fortement liée à leurs caractéristiques gustatives. La notion de saveur des épices et des aromates englobe toutes les sensations olfacto-gustatives. Ces perceptions découlent de stimuli produits par divers composés organiques, dont certains sont volatils et forment ce qu'on appelle

communément l'huile essentielle. Les autres composés organiques non volatils sont plus spécifiquement responsables de la saveur et de la couleur **(Chennouf et al**, **2020**).

I.1.6.3 Utilisation en médecines

Les plantes médicinales ont la capacité de traiter des maladies simples telles que le rhume, ou de prévenir des maladies plus graves telles que l'ulcère, la migraine, l'infarctus, ainsi que certaines allergies ou infections. En incluant leurs effets réparatoires, tonifiants, sédatifs, revitalisants ou immunologiques, on peut mesurer plus précisément l'aide précieuse qu'elles peuvent nous apporter au quotidien (**Berreghioua, 2016**).

I.2 La phytothérapie

I.2.1 Historique de la phytothérapie

Depuis la nuit des temps, dans sa quête de survie et d'évolution, l'homme s'est toujours tourné vers la nature, que ce soit pour se protéger, se nourrir ou se soigner. En s'appuyant sur son instinct et son sens de l'observation, il a développé un savoir empirique des vertus curatives des plantes, transmis et enrichi de génération en génération, à travers les civilisations.

À ses débuts, la phytothérapie était entourée de mystère et réservée aux druides et aux chamans. Pendant des millénaires, les plantes étaient collectées pour leurs supposées vertus magiques plutôt que pour leurs propriétés médicinales. Au fil des siècles, les avancées de la science médicale ont conduit à une rationalisation des pratiques et à l'émergence d'une connaissance des plantes basée sur la science **(Fethi, 2021).**

I.2.2 Définition de la phytothérapie

La phytothérapie, du grec « phyton » (plante) et « therapein » (soigner), représente le plus ancien et le plus largement utilisé des traitements. La phytothérapie a évolué avec le progrès scientifique et industriel et a aujourd'hui des pratiques diverses, étroitement liées à l'herboristerie, à l'utilisation médicale prévue des plantes et des extraits de plantes à des fins thérapeutiques. Cependant, une distinction possible avec l'herboristerie réside dans le fait que la phytothérapie peut demander une normalisation des composants présents dans l'extrait de plante, en respectant un niveau minimal d'un ou plusieurs composés actifs dans le produit thérapeutique. Cette approche est associée aux médecines parallèles ou aux médecines douces (**bouhaous, 2022**).

On distingue deux types de phytothérapies :

1. Phytothérapie traditionnelle

D'après l'OMS, la médecine traditionnelle englobe toutes les pratiques médicales. Les connaissances et les pratiques, qu'elles soient explicables ou non, sont transmises de génération en génération. La génération, qu'elle soit verbale ou écrite, est employée dans une société humaine pour établir un diagnostic, éviter ou supprimer un déséquilibre dans le bien-être physique, mental ou social, moral et émotionnel spirituel. La phytothérapie traditionnelle est perçue comme une forme de médecine. Traditionnelle et toujours largement utilisée dans certains pays, y compris les pays en développement croissance. Il s'agit d'une médecine alternative en raison de l'absence d'études établissement médical (**Chaachouay et al**, **2020**).

2. Phytothérapie moderne

Une pratique qui utilise les progrès scientifiques pour extraire les ingrédients actifs des plantes est utilisée pour créer des phytomédicaments. Il est important de noter que la circulation des phytomédicaments est soumise à l'autorisation de la réglementation de commercialisation du pays. On parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique (**Chaachouay et al**, **2020**).

I.2.3. Les types de la phytothérapie

La phytothérapie comporte différents types :

I.2.3.1 Aromathérapie

L'aromathérapie se base sur l'utilisation des essences des plantes, également appelées huiles essentielles, qui sont des substances aromatiques produites par diverses familles de plantes, comme les astéracées, les laminacées ou les opiacées, et extraites par distillation. Ces huiles nécessitent une utilisation prudente et en suivant les doses recommandées, car elles ne sont pas entièrement sans danger. La voie percutanée (à travers la peau) est la méthode d'administration la plus intéressante, car elle est la plus rapide et la moins toxique **(Strang 2006**).

I.2.3.2 Gémothérapie

La gémothérapie utilise des extraits alcooliques et glycérinés provenant de tissus jeunes de végétaux, comme les bourgeons et les radicelles d'environ 60 plantes différentes.

Les préparations sont exposées avec une dilution de dixième. Il est courant que chaque extrait ait une affinité avec un organe ou une fonction spécifique. Prenons l'exemple du macérat glycériné de bourgeons de Ribes nigrum, ou cassis, qui, dilué au dixième, agit comme un stimulant de la zone corticale des glandes surrénales, de la même manière que la cortisone lui-même (**Strang, 2006).**

I.2.3.3 Herboristerie

L'herboristerie est la méthode la plus traditionnelle et la plus ancienne de phytothérapie. Suite à sa disparition, elle est maintenant prise en compte à nouveau. L'herboristerie emploie des plantes fraîches ou séchées ; elle peut utiliser soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fleur, fruit, racine). La préparation se fait en utilisant des techniques simples, généralement à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces produits sont consommés par voie orale ou inhalée, appliqués sur la peau ou incorporés dans l'eau doux. Les gélules de poudre de plantes sèches sont également disponibles sous une forme plus contemporaine, que le sujet consomme. Cette présentation présente le bénéfice de préserver les principes actifs, qui sont vulnérables. Afin d'obtenir un traitement efficace en profondeur, il est nécessaire que les prises se déroulent sur une période de 3 semaines à 3 mois **(Strang, 2006).**

I.2.3.4 Homéopathie

L'homéopathie utilise principalement les plantes, mais pas exclusivement : les trois quarts des souches proviennent de plantes, tandis que le reste provient d'animaux et de minéraux. Les plantes fraîches sont employées lors de la macération alcoolique. Ces alcoolats sont connus sous le nom de teintures mères : c'est à partir de ces alcoolats que sont fabriquées les dilutions qui sont utilisées pour imprégner les granules et les globules de saccharose et de lactose. La teinture mère la plus couramment employée est la Calendula officinalis, également appelée fleur de souci **(Strang, 2006).**

I..2.3.5 La phytothérapie pharmaceutique

La phytothérapie pharmaceutique se base sur l'extraction de produits végétaux qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Les quantités de ces extraits sont adaptées afin d'obtenir une action durable et rapide. Les produits pharmaceutiques sont proposés sous différentes formes, telles que le sirop, les gouttes, les suppositoires, les gélules, les lyophylisats, les nébulisats (extraits de plantes desséchées par la chaleur), etc. Les niveaux sont plutôt élevés et la toxicité de ces médicaments peut parfois être relative **(Strang, 2006).**

I.2.4 Avantages et inconvénients de la phytothérapie

I.2.4.1 Avantage de la phytothérapie

Cependant, malgré les avancées considérables accomplies par la médecine contemporaine, la phytothérapie présente de nombreux bénéfices. Il est important de se rappeler que depuis toujours, à l'exception des cent dernières années, les hommes ont utilisé uniquement les plantes pour se soigner, que ce soit pour des maladies bénignes comme le rhume ou la toux, ou pour des maladies plus graves comme la tuberculose ou la malaria. De nos jours, les traitements naturels sont de plus en plus pris en compte, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (que l'on considère comme la solution quasi universelle aux infections graves) diminue. Peu à peu, les bactéries et les virus se sont adaptés aux médicaments et sont de plus en plus résistants à eux. C'est la raison pour laquelle l'absinthe chinoise (Artemisia annua) et en particulier son principe actif sont utilisés à nouveau pour traiter la malaria lorsque les protozoaires infectieux résistent aux médicaments.

La phytothérapie, offrant des traitements naturels et bien accueillis par le corps, est fréquemment liée aux traitements traditionnels. De nos jours, elle est en plein essor en Occident, notamment dans le domaine du traitement des maladies chroniques telles que l'asthme ou l'arthrite. En outre, les utilisateurs sont préoccupés par les effets secondaires causés par les médicaments, ce qui les pousse à opter pour des traitements moins agressifs pour leur organisme. Selon les estimations, entre 10 et 20% des cas d'hospitalisation sont causés par les effets secondaires des médicaments (**Iserine, 2001**).

I.2.4.2 Les inconvénients de la phytothérapie

-Certaines plantes contiennent des toxines si puissantes que même une petite quantité peut être fatale.

- L'utilisation d'une quantité excessive ou une erreur d'identification de la plante peut également entraîner la toxicité, car même si deux plantes se ressemblent sur le plan botanique, l'une peut être toxique. Il est extrêmement dangereux de mal interpréter les symptômes, car la phytothérapie repose généralement sur l'automédication. Il est impossible de conserver les préparations domestiques pendant une longue période, ce qui peut entraîner des intoxications plutôt que de nous guérir.

-Heureusement, de nos jours, les phytothérapeutes sont conscients de l'efficacité des plantes médicinales et de leurs limites dans le traitement de certaines affections. Ils ne prendraient

jamais le risque d'affronter une maladie infectieuse aiguë sans l'utilisation d'antibiotiques ni de traiter une affection séreuse, comme le diabète, exclusivement à l'aide de plantes. Cependant, leurs patients atteints de maladies bénignes peuvent être traités et soulagés de manière efficace grâce à un traitement à base de plantes, tels que les troubles gastro-intestinal, les problèmes dermatologiques ou les troubles légers du système nerveux (stress et insomnie).

- Parfois, les plantes renferment des composés allergisants (**Boukherouba et al, 2022**).

Chapitre II :

Les métabolites secondaires

II.1 Les métabolites secondaires

II.1.1 Definition

Chaque organisme possède un métabolisme primaire qui fournit les composés essentiels (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). De plus, les plantes génèrent de nombreux composés qui ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais qui découlent de réactions chimiques ultérieures. On les désigne sous le nom de métabolites secondaires **(Mohammedi, 2013).**

Les métabolites secondaires sont des substances produites par les plantes qui améliorent leur compétitivité dans leur environnement naturel. Ces petites molécules ont des impacts divers sur la plante elle-même et sur d'autres organismes vivants. Ils favorisent des processus tels que la floraison, la formation des fruits et la chute des feuilles, et permettent une croissance pérenne ou indiquent un comportement à feuilles caduques. De plus, ils possèdent des propriétés antimicrobiennes et peuvent fonctionner comme attractifs ou répulsifs. Le règne végétal contient plus de 50 000 métabolites secondaires **(Akula , Ravishankar, 2011).**

Actuellement, de nombreux composés sont largement utilisés en médecine moderne, une proportion importante étant issue de pratiques traditionnelles**(Mohammedi, 2013).**

II.1.2 Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires ou spécialisés, dont la composition est plus complexe, sont généralement classés en familles chimiques étendues, notamment les polyphénols, les terpénoïdes et les alcaloïdes **(Ouedraogo et al, 2021).**

II.1.2.1 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires connus pour avoir un cycle aromatique contenant des groupes hydroxyle attachés à un glucide. Ces composés peuvent être trouvés dans diverses parties des plantes, notamment les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, les pollens, les fruits, les graines et le bois. Ils jouent un rôle important dans de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines et la maturation des fruits **(BOIZOT et al, 2006).**

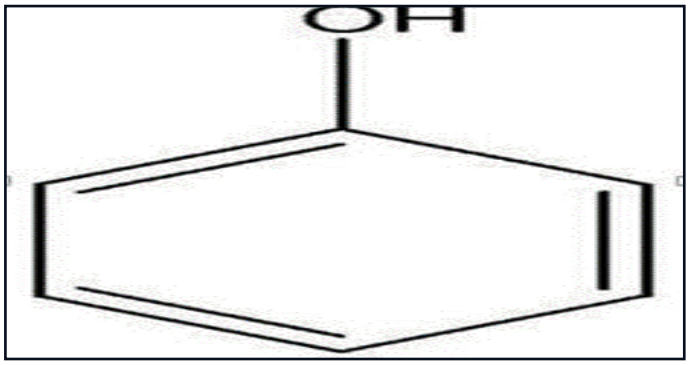


Figure II.1 : Le noyau phénols **(Herzi, 2013).**

Les composés phénoliques des plantes sont issus de deux des voies principales de production, à savoir la voie du shikimate (qui est également responsable de la synthèse acide aminés Phe et Tyr) et la voie des polyacétates, impliquant la condensation des molécules d'acétyle et de coenzyme A. Cette biosynthèse Le processus permet la création d'une grande variété de molécules uniques à une espèce végétale, un organe ou un tissu particulier **(Achat**, **2013).**

II.1.2.1.1 Classification des composés phénolique

Les principales classes de composants phénoliques comprennent les acides phénoliques tels que (l'acide caféique, l'acide hydroxycinnamique, l'acide férulique et l'acide chlorogénique), ainsi que les flavonoïdes, les tanins et les coumarines **(Belhadj-tahar, 2018**).

II.1.2.1.1.1 Acides phénoliques

Les acides phénols, également appelés acides phénoliques, ne sont pas couramment trouvés dans la nature. Ces composés organiques possèdent au moins une fonction carboxylique et une fonction hydroxyphénolique. Ils présentent des propriétés biologiques intrigantes, notamment des effets anti-inflammatoires, des propriétés antiseptiques urinaires, des qualités antioxydantes, des stimulateurs du flux biliaire, des protecteurs du foie et des boosters du système immunitaire**(Zakkad, 2016).**Cette classe comprend une variété de composés phénoliques classés en acides hydroxybenzoïques et acides hydroxycinnamiques en fonction de la quantité et de l'emplacement des groupes hydroxyle sur le cycle aromatique(**Benbouguerra, 2020).**

a) Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1)

Les acides hydroxybenzoïques sont formés par hydroxylation de l'acide benzoïque et ont une structure basique de type C6-C1. On les trouve couramment dans les gymnospermes

et les angiospermes, où ils sont souvent libérés par hydrolyse alcaline ou enzymatique. Ces acides se présentent fréquemment sous forme d'esters ou de glycosides dans lesplantes. Lesprincipaux acides hydroxybenzoïques présents dans les plantes comprennent les acides p-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, gallique et salicylique. La structure de quelques exemples de ce groupe est présentée à la **(figure II.2) (Aissani, 2022).**

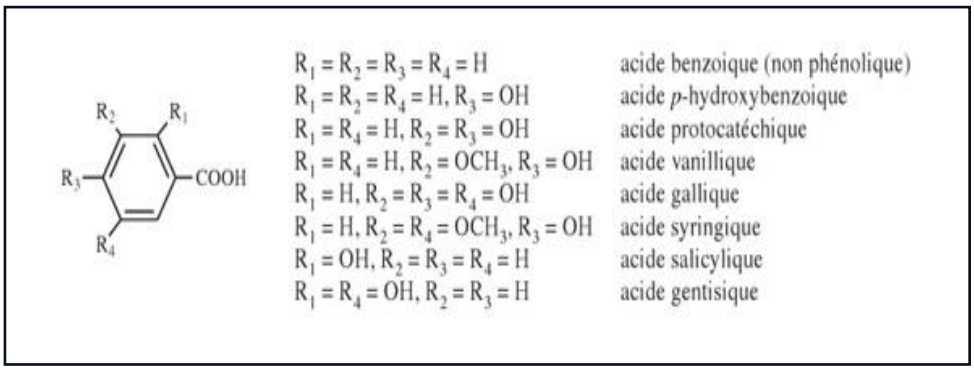


Figure II. 2: Structure d'acides hydroxybenzoïques communs **(Macheix et al, 2005).**

b) Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3)

Les acides hydroxycinnamiques sont considérés comme une classe importante de composés, caractérisés par un cycle aromatique lié à trois carbones C6-C3 (comme le montre la **(figure II.3).** Les exemples incluent l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique (ainsi que ses isomères o- et m-coumarique) et l'acide sinapique. Il est rare que ces acides se trouvent sous leur forme libre, car ils existent généralement sous forme d'esters ou de glycosides **(Aissani, 2022).**

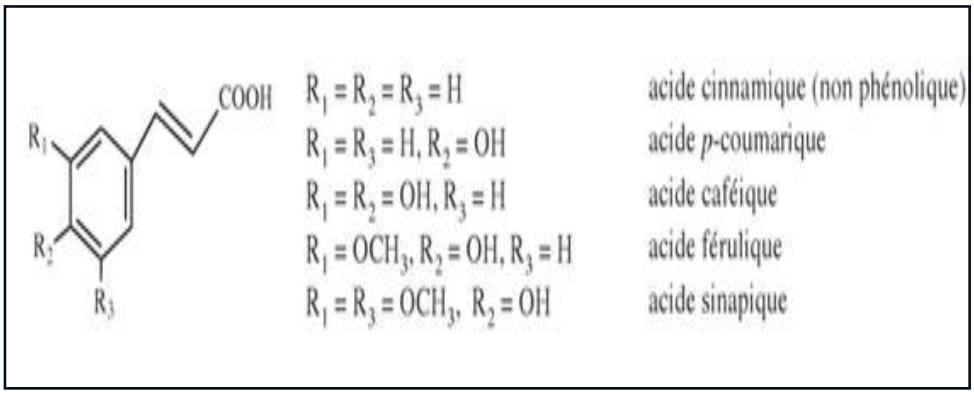


Figure II.3 : Structure des principaux acides hydroxycinnamiques communs.

(Macheix et al, 2005).

II.1.2.1.1.2 Flavonoïdes

Le terme flavonoïde, dérivé du mot latin signifiant « jaune », fait référence à une gamme diversifiée de composés appartenant naturellement à la famille despolyphénols. Ces composés agissent comme des pigments, donnant aux plantes leurs couleurs jaune, orange et rouge. Les flavonoïdes peuvent être trouvés dans les fruits (en particulier dans le genre Cirtus, où ils représentent jusqu'à 1 % des fruits frais), les légumes et diverses boissons comme le vin rouge, le thé, le café et la bière. De plus, ils sont présents dans plusieurs plantes médicinales **(Fellah, 2018).**

Les flavonoïdes sont largement reconnus pour leurs puissantes capacités antioxydantes en laboratoire, ainsi que pour leurs nombreuses autres propriétés biologiques bénéfiques, telles que la protection vasculaire, les effets anti-inflammatoires, les propriétés antibactériennes et les activités anti-tumorales **(Emeraux, 2019).**

Tous les flavonoïdes, au nombre de plus de 6 000, partagent un élément structurel commun constitué d'un squelette de quinze carbones. Ce squelette est composé de deux anneaux phényle, appelés anneaux A et B, reliés par un pont à trois carbones connus sous le nom de structure C6-C3. Le pont C3 entre les anneaux A et B est souvent cyclisé pour créer l'anneau C **(Fettah, 2019).**

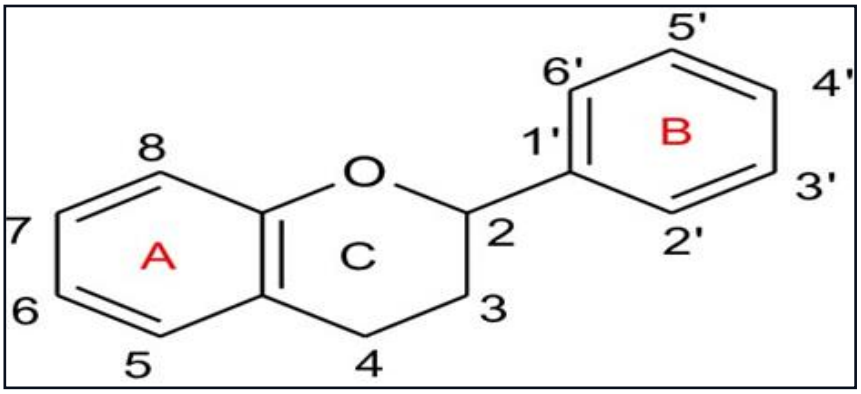


Figure II.4: Structure de base des flavonoïdes (**Fettah, 2019).**

Les flavonoïdes peuvent être classés en six sous-classes principales. Les variations de leur structure moléculaire au sein d'une même classe de composés sont déterminées par des facteurs tels que la position de la connexion entre les cycles B et C, le degré de saturation du cycle C et le degré d'oxydation et d'hydroxylation de l'hétérocycle central C **(Emeraux, 2019)**.

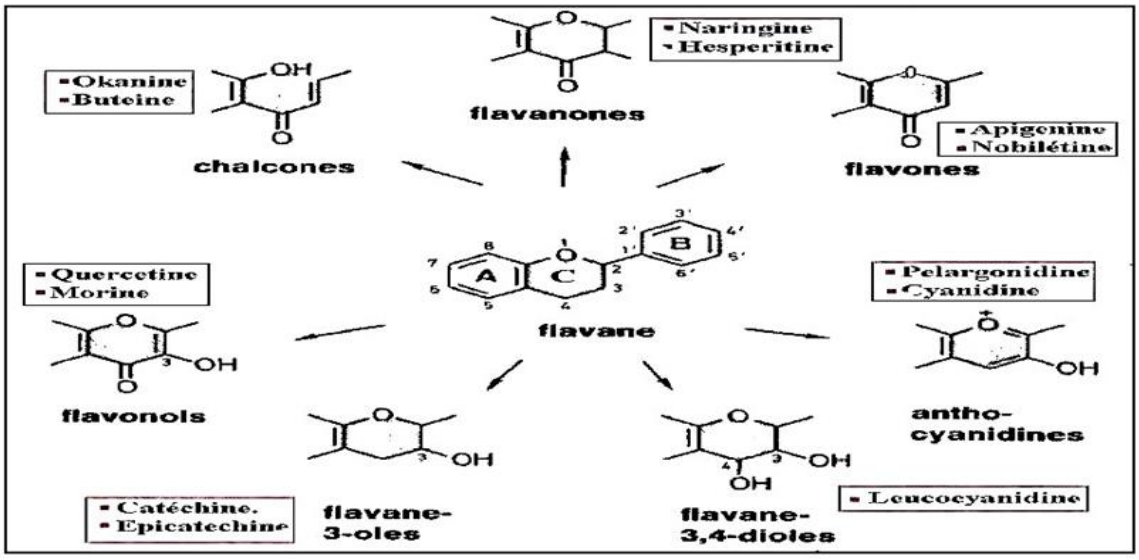


Figure II.5 : Structure des principaux flavonoïdes **(LOUIS, 2004).**

II.1.2.1.1.3 Les tanins

Le terme « tanin » est un nom descriptif général pour un groupe de substances phénoliques qui ont la capacité de tanner le cuir ou de faire précipiter la gélatine dans une solution, communément appelée astringence **(BACK CHAPPELL, 1996).**

D'autre terme les tanins, qui sont des polyphénols solubles dans l'eau, possèdent la particularité de pouvoir précipiter des protéines comme la gélatine à partir d'une solution. Cette propriété, également connue sous le nom d'astringence, est à l'origine de leur utilisation historique et actuelle dans le tannage des peaux animales. Les tanins se trouvent couramment dans divers types de plantes, herbacées et ligneuses, et peuvent s'accumuler en quantités importantes (dépassant parfois 10 % du poids sec de la plante) dans différents organes ou tissus tels que l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits ou les racines **(Scalbert, 1991)**

Ils peuvent être divisés en deux groupes principaux : les HT (tanins hydrolysables), qui regroupent les gallotanins, les ellagitanins, les tanins complexes et les tanins condensés **(Kabera et al, 2014).**

a) Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des composés appelés esters de glucose, constitués d'un noyau central de glucose auquel sont attachés des acides (acide gallique pour les gallotanins et acide ellagique pour les ellagitanins). Lorsqu'ils sont hydrolysés par des acides, des bases ou des enzymes spécifiques, ces composés libèrent du glucose ainsi que des acides galliques ou d'autres composés phénoliques **(Chung et al, 1998).**

b) Les tanins condensés

En termes de structure, il convient de noter que les tanins condensés (proanthcyanidines) sont abondamment présents dans diverses plantes vasculaires, allant des dicotylédones aux plantes plus anciennes comme les fougères et les gymnospermes. Les proanthocyanidines sont essentiellement constituées de flavan3-oles (catéchine) et de flavan-3,4-dioles (leucoanthocyanidines), ou parfois d'une combinaison des deux **(Chung et al, 1998).**

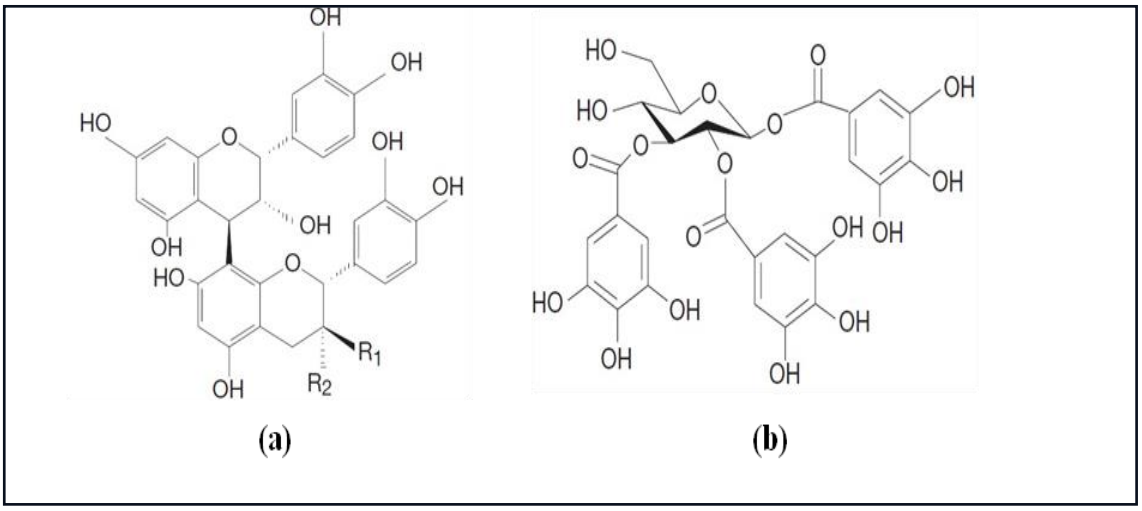


Figure II. 6 : Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1, 2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose) **(Achat, 2013).**

II.1.2.1.1.4 Les coumarines

Le nom de la famille chimique des coumarines a été dérivé de Coumarouna odorata Aube (DipteryxOdorata), à partir duquel le membre le plus simple a été isolé pour la première fois. Les coumarines appartiennent chimiquement à la famille des benzopyrones **(Kontogiorgiset al, 2012).**

Les coumariens (connus sous le nom de 1,2-benzopyrone ou o-hydroxycinnamic acid-8-lactone) constituent une très grande classe de dérivés phénoliques trouvés dans les plantes et ils sont composés d'anneaux de benzène et d'a-pyrone fusionnés. Le remplacement peut se produire à l'un des six sites disponibles. Il y a beaucoup de permutations possibles offertes par substitution et conjugation et cela pourrait expliquer pourquoi tant de dérivés de cumarin se produisent naturellement **(Kontogiorgis et al, 2012).**

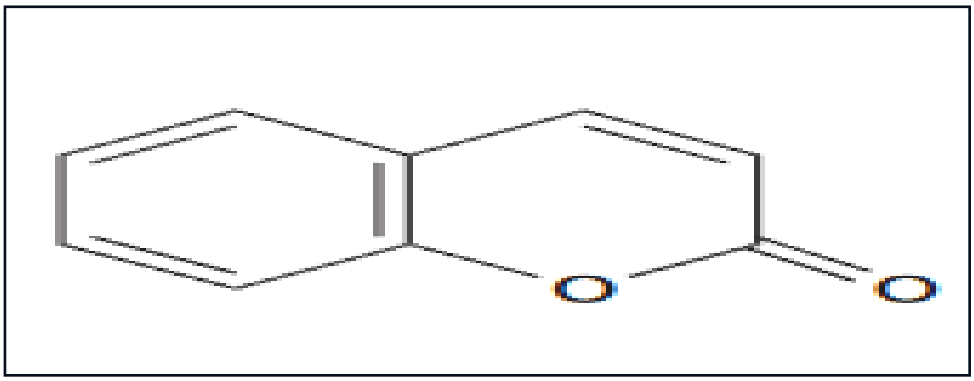


Figure II.7 : structure chimique de coumarines **(Kontogiorgis et al, 2012).**

Les coumarines sont des composés obtenus par le processus de l'actinisation de l'acide orthocoumarique. Une fois ces coumarines hydroxylées sur le noyau aromatique, elles deviennent des composés phénoliques de structures diverses **(Ghnimi, 2015).**

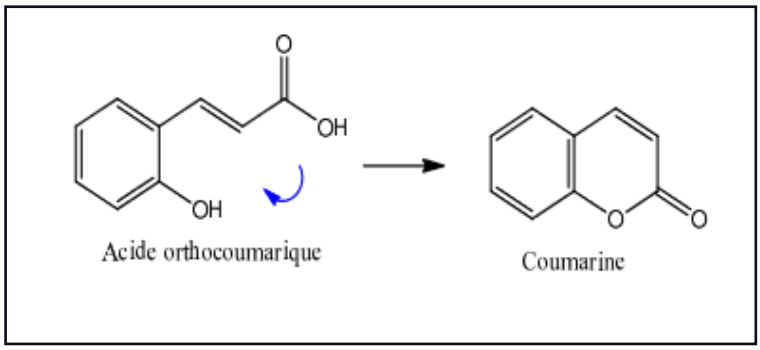


Figure II.8 : Formation d'une coumarine **(Ghnimi, 2015).**

II.1.2.1.2 Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les polyphénols présentent un large éventail d'activités biologiques en fonction de leur composition chimique, ce qui en fait un groupe crucial d'antioxydants dans le règne végétal. Contrairement aux antioxydants synthétiques tels que le BHA et le BHT, il n'a pas été démontré que les polyphénols ont des effets négatifs sur la santé humaine. Ils jouent également un rôle dans la régulation de la croissance et du développement des plantes en interagissant avec diverses hormones végétales, en aidant à se défendre contre les rayons UV et en agissant comme phytoalexines pour lutter contre les infections fongiques et bactériennes. Les pigments non azotés jouent un rôle dans la pollinisation en attirant les insectes pollinisateurs ou en dissuadant les prédateurs, tandis que certains agissent comme inhibiteurs d'enzymes pour protéger contre certaines maladies. De plus, les polyphénols sont utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs, colorants, arômes et conservateurs **(Crépin, 2017).**

II.1.2.2 Les Terpénoïdes

Les terpénoïdes, en tant que métabolites secondaires des plantes, jouent un rôle crucial dans le monde naturel et sont largement disponibles. Ils sont chimiquement classés comme hydrocarbures insaturés sous forme liquide, que l'on trouve principalement dans les résines et les huiles essentielles. Les terpénoïdes sont généralement composés d'unités isoprène dérivées de l'acétate via l'acide mévalonique. Ces unités se combinent pour former diverses molécules, les terpénoïdes ayant une formule générale de (C5H8) n et classés en catégories telles que lesmonoterpènes, les diterpénoïdes, les triterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes en fonction du nombre d'unités de carbone. Certains monoterpénoïdes importants comprennent le menthol et l'eugénol **(velu et al, 2018).**

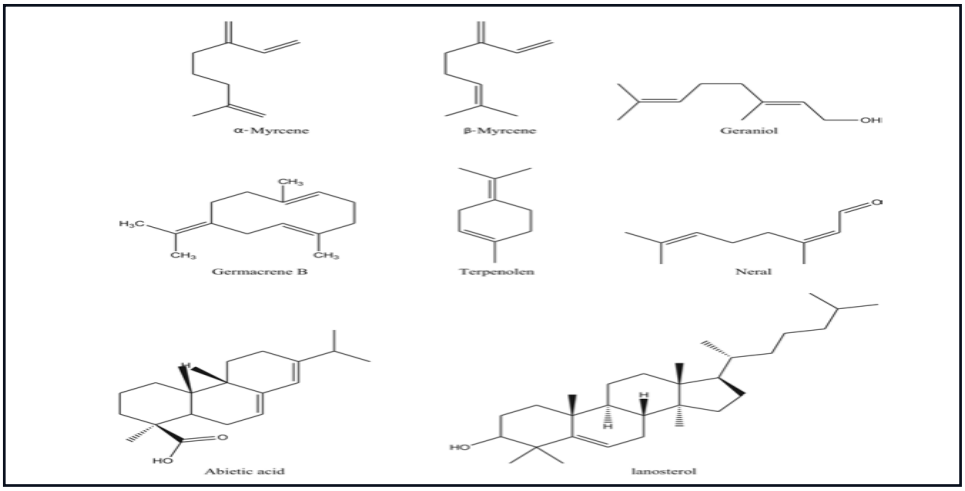


Figure II.9 : Exemples de composés terpénoïdes **(Velu et al, 2018).**

II.1.2.3 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels principalement obtenus à partir de plantes, caractérisés par une structure hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome. Ils ont une composition moléculaire complexe et appartiennent à un groupe diversifié de molécules chimiquement variées et solubles dans l'eau. En raison de la présence d'atomes d'azote capables d'accepter un proton, les alcaloïdes présentent une nature légèrement basique en solution, (d'où leur nom d'alcaloïdes) **(Bensekrane, 2015).**

Les alcaloïdes se trouvent généralement dans les parties florales, les fruits ou les graines de nombreuses plantes, ces substances étant généralement concentrées dans les vacuoles **(Krief, 2003).** On les retrouve dans environ 20 % des espèces végétales **(Roberts, 2013).**

Si certaines substances, comme la strychnine ou l'aconitine, peuvent être toxiques, d'autres, comme la morphine et la codéine, sont utilisées en médecine pour leurs propriétés analgésiques **(Muanda, 2010).**

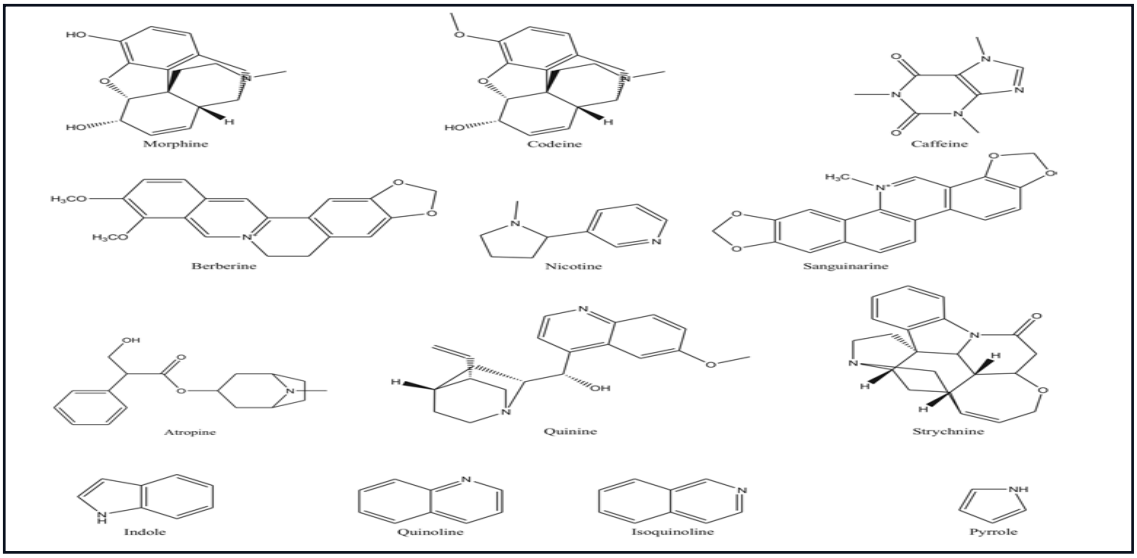


Figure II.10 : Exemples de composés alcaloïdes **(Velu et al, 2018).**

II.2 Les activités biologiques

II.2.1 L'activité antioxydant

II.2.1.1 Le stress oxydatif

On définit le stress oxydant comme un déséquilibre entre la présence de substances réactives telles que l'oxygène et le nitrogène, ainsi que la capacité de l'organisme à neutraliser leur action grâce à ses systèmes antioxydants. Cette perturbation peut causer des dommages à certaines macromolécules (acides nucléiques, lipides et protéines), ce qui peut entraîner l'émergence de différentes maladies **(Kada, 2018).**

II.2.1.2 Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, un atome ou une molécule qui contient un électron non apparié sur l'atome d'oxygène. Il est très instable et a la capacité de réagir même avec les molécules les plus stables afin de coupler son électron. Il peut soit retirer un électron (agissant comme un oxydant), soit en abandonner un (agissant comme un réducteur). Cette réaction initiale aboutit généralement à la création de nouveaux radicaux sous forme de chaîne. Les radicaux libres, étant très instables, réagissent facilement avec d'autres composants pour tenter d'obtenir l'électron nécessaire à la stabilité. Une « réaction en chaîne

» se produit lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en prenant son électron, faisant de cette molécule elle-même un radical libre **(Ziani, 2017).**

Les espèces réactives de l'oxygène sont les radicaux libres les plus importants dans le système biologique. Ces radicaux libres comprennent non seulement les radicaux centrés sur l'oxygène tels que le radical superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), le radical hydroxyle (OH•), mais également certains dérivés de l'oxygène non radicalaires (n'ayant pas d'électron célibataire) tels que l'oxygène singulet ($^1O_2$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'acide hypochloreux (HOCl)qui sont des agents oxydants et/ ou sont facilement convertis en radicaux libres. Un terme apparenté, espèces réactives de l'azote, est également couramment utilisé **(Belmokhtar, 2015).**

II.2.1.3 Les anti-oxydantes

Les antioxydants sont des molécules qui possèdent la capacité de neutraliser les radicaux libres qui sont à l'origine de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui entravent ou retardent efficacement le processus d'oxydation en empêchant l'initiation ou la poursuite des chaînes de réactions oxydatives (**Koudou, 2009**).

Le β-carotene (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocopherol (vitamine E) et les composés phénoliques sont les antioxydants les plus connus. Effectivement, la majorité des antioxydants synthèse ou naturels contiennent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures, ce qui explique en partie leur capacité à neutraliser les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH•) et les superoxydes (O_2•) **(Hammoud, 2015).**

Les antioxydants naturels ou synthétiques sont utilisés pour prévenir diverses maladies, notamment les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, l'inflammation, le diabète, etc., ainsi que pour ralentir le processus de vieillissement, attribuable à la production excessive de radicaux libres. Dans les aliments, on utilise également des antioxydants afin de prévenir la dégradation, le rancissement ou la décoloration, qui sont souvent causés par l'oxydation provoquée par la lumière, la chaleur et certains métaux **(Koudou, 2009).**

II.2.1.4 Les systèmes antioxydants

Afin de prévenir ou de minimiser les dommages cellulaires, les organismes ont développé des systèmes de défense antioxydants très complexes constitués de divers composants enzymatiques et non enzymatiques **(Béguel, 2012).**

II.2.1.4.1 Les systèmes non-enzymatiques

On retrouve principalement le glutathion, la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et l'acide urique comme antioxydants non-enzymatiques. Ces substances vont perturber le processus de réaction radicalaire **(Béguel, 2012).**

II.2.1.4.2 Les systèmes enzymatiques

Le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPX), la glutathion réductase (GR) et la glutathion S-transférase (GST) sont les principales enzymes anti-oxydantes. Il s'agit d'enzymes qui ont des séquences très bien conservées tout au long de leur évolution et qui agissent de manière coordonnée **(Béguel, 2012).**

II.2.2 L'activité anti-inflammatoire

II.2.2.1 Définition de l'inflammation

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse de l'organisme à une agression afin de protéger son intégrité. Il s'agit d'une série de réactions se produisant dans la zone affectée en raison d'un agent pathogène. Les symptômes de ce processus comprennent la chaleur, la rougeur, l'enflure et la douleur, ainsi qu'une altération potentielle de la fonction de l'organe affecté.

La réponse inflammatoire est généralement un processus bénéfique, mais dans certains cas, elle peut devenir nocive en raison de facteurs tels que l'agressivité de l'agent pathogène, sa persistance, la localisation de l'inflammation ou des régulations anormales du processus inflammatoire. La réaction implique divers systèmes biologiques qui travaillent ensemble pour éliminer la substance étrangère, notamment des réactions biochimiques, l'activation cellulaire, la coagulation et la fibrinolyse (**Loukhaoukha, 2019).**

II.2.2.2 Les types de la réaction inflammation

II.2.2.2.1 L'inflammation aigue

Il s'agit d'une réponse à un agresseur immédiat qui se caractérise par une série de réactions tissulaires qui peuvent se produire dans les premières heures qui suivent la blessure. Son évolution est assez brève, de quelques jours ou semaines, souvent brusque et marquée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. La guérison spontanée ou avec un traitement de l'inflammation aiguë peut entraîner des séquelles si la destruction tissulaire est significative **(Douaouri, 2019).**

Cette affection se caractérise par quatre phénomènes typiques, à savoir le gonflement, la douleur, la chaleur et la rougeur. Ces symptômes sont considérés comme des signes cardinaux d'inflammation. De plus, selon la gravité de la maladie, cela peut également provoquer des lésions fonctionnelles régionales.

L'inflammation aiguë peut être divisée en trois étapes principales :

- Phase vasculaire : immédiate d'une durée d'environ 1 minute, caractérisée par des modifications microcirculatoires locales.
- Une phase cellulaire : va se produire après la mobilisation de nombreuses cellules. Cette mobilisation des cellules va faciliter l'élimination des micro-organismes pathogènes et des tissus endommagés.
- Phase de résolution et de cicatrisation : qui conduira au bout de quelques jours à la restauration tissulaire **(Weill et Batteux, 2003).**

II.2.2.2.2 L'inflammation chronique

L'inflammation chronique est un problème persistant qui affecte le corps. Les premiers signes d'une inflammation chronique sont similaires à ceux d'une inflammation aiguë, mais les lésions tissulaires sont plus graves et ont des implications fonctionnelles significatives. L'inflammation chronique, tout aussi courante que l'inflammation aiguë, peut entraîner des problèmes anatomiques et fonctionnels durables. Déterminer si l'inflammation est chronique peut être difficile, mais une durée supérieure à six semaines est généralement considérée comme chronique. Dans certains cas, l'inflammation chronique est évidente dès le début, avec des processus tels que le remodelage, la destruction et la réparation du tissu conjonctif. Les raisons de l'inflammation chronique peuvent varier, certains cas impliquant l'incapacité de l'organisme à éliminer une substance nocive, tandis que dans d'autres, l'inflammation peut persister même après que le déclencheur ait été supprimé. Dans l'ensemble, l'inflammation chronique se distingue de l'inflammation aiguë par sa durée prolongée et ses effets continus **(Weill et Batteux, 2003).**

II.2.2.3 Types des anti-inflammatoires

II.2.2.3.1 Anti-inflammatoires non stéroïdien

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) étaient un ensemble varié de médicaments qui pouvaient diminuer ou éliminer les effets de la réaction inflammatoire, sans

prendre en compte ni l'origine ni le mécanisme de celle-ci. Leurs effets se manifestent par une inhibition plus ou moins sélective des iso-enzymes de la COX. Ces molécules sont couramment employées en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques, antalgiques et pour certaines inhibitrices de l'agrégation plaquettaire. Cependant, elles peuvent entraîner des effets indésirables graves, qui dépendent ou non de leur mécanisme d'actions (**Athamena, 2021).**

II.2.2.3.2 Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les glucocorticoïdes sont couramment employés afin de lutter contre l'inflammation dans les affections inflammatoires chroniques comme l'asthme, la polyarthrite rhumatoïde, les affections inflammatoires de l'intestin et les affections auto-immunes, toutes celles-ci étant liées à une augmentation de l'expression des gènes inflammatoires **(Athamena, 2021).**

II.2.2.3.3 Anti-inflammatoire d'origine végétale

Les polyphénols forment le groupe le plus vaste et le plus commun des métabolites du règne végétal. Les substances phénoliques ont la capacité d'influencer les cellules en interagissant avec une variété de cibles moléculaires indispensables au processus de signalisation cellulaire. Les activités anti-inflammatoires des polyphénols sont également liées à des mécanismes moléculaires, tels que l'inhibition des enzymes pro-inflammatoires telles que la cycloxygénase (COX-2), la lipoxygénase (LOX), l'oxyde nitrique synthèse inductible (INOS) (**Boudjouref, 2020).**

II.2.3 Activité antibactérienne

L'utilisation d'antibiotiques entraîne souvent le développement de populations microbiennes résistantes. Cette résistance peut survenir en raison de modifications des chromosomes ou de l'acquisition de gènes de résistance provenant d'autres éléments génétiques. Par suite de ces résistances, il a été nécessaire de rechercher de nouveaux agents antimicrobiens qui présentent une efficacité supérieure aux composés synthétiques, tout en étant bien acceptés par l'organisme **(Ghedadba, 2018).**

Une stratégie potentielle qui pourrait être envisagée est l'exploration de molécules naturelles aux propriétés bioactives, principalement dérivées de plantes. Des recherches récentes ont attiré l'attention sur les propriétés antibactériennes d'une variété de plantes abondantes en métabolites secondaires tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins, les terpènes, les glycosides, les quinones et les saponines. Ces résultats

suggèrent que ces plantes pourraient constituer une source prometteuse de nouveaux agents antimicrobiens **(Ouahchia, 2018).**

Les métabolites secondaires ont un mécanisme d'action différent d'une molécule à l'autre. La membrane cytoplasmique des bactéries est endommagée par certains acides phénoliques, ce qui entraîne une perte de l'intégrité de la membrane et une fuite des composants intracellulaires **(Ouahchia, 2018).**

Les méthodes les plus couramment employées pour évaluer l'activité antimicrobienne d'une substance naturelle ou d'un extrait végétal sont la dilution ou la diffusion. La dilution, qui peut être effectuée dans un environnement liquide ou solide, implique de mettre en contact l'inoculum microbien avec des concentrations croissantes de l'échantillon. Le pouvoir antimicrobien des substances testées est déterminé par le niveau d'inhibition de la croissance microbienne. La façon de diffuser, qui se fait uniquement sur un support solide **(Fedoul, 2022)**

Chapitre III:

Généralités sur les compléments alimentaires

III Généralités

III.1 Historique des compliments alimentaires

Le complément alimentaire a une histoire ancienne. Comme souvent dans le domaine des sciences et de la médecine, tout a commencé par l'observation. C'est ainsi que l'on a observé les navigateurs sur le long terme et le rôle de la vitamine C.

Pendant les voyages maritimes, l'équipage passait plusieurs semaines, voire plusieurs mois, sans descendre sur terre ; le scorbut frappait alors les pirates ; il se traduisait par une fatigue intense, des dommages à la peau et des hémorragies. Cependant, lorsque les navires transportaient des agrumes dans leurs cargaisons pour nourrir les marins, ceux-ci se sentaient mieux et ne souffraient pas de scorbut. Quelques siècles après, les scientifiques découvertes dans ces agrumes la substance efficace contre le scorbut, la célèbre vitamine C.

Une autre illustration, le rachitisme et la vitamine D. Au XIXe siècle, les jeunes enfants étaient confrontés à la maladie du rachitisme, qui se traduisait par un retard de croissance et des déformations osseuses. Cependant, lorsque certains poissons étaient consommés, les enfants semblaient être protégés. Plus tard, la molécule qui assure cette protection fut découverte, c'est la vitamine D. Plus tard, des vitamines peuvent être produites en usine, sans même avoir besoin de les extraire des aliments.

Finalement, cette notion s'est étendue aux maladies classiques telles que le cancer, l'obésité, les maladies cardiovasculaires, voire la maladie d'Alzheimer. Chacune de ces affections est liée à une problématique multifactorielle où il n'y a pas seulement un seul nutriment (comme la vitamine C dans le scorbut), mais toute l'alimentation (**Khalfaoui**, **2018**).

III.2 Définition des compliments alimentaires

D’après le décret du 20 mars 2006 on entend par : « Les compléments alimentaires sont des aliments qui viennent compléter le régime alimentaire classique et qui se présentent sous diverses formes, telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules et autres formes similaires. On les trouve sous diverses formes : sachets de poudre, ampoules de liquide, flacons avec compte-gouttes et autres formes similaires de préparations liquides ou en poudre à prendre en petites quantités ». (**Genevey et al** ,**2009**).

La définition distingue clairement les compléments alimentaires des médicaments. Les conséquences peuvent être à la fois physiologiques et nutritionnelles. Les médicaments ont

une action pharmacologique, ce qui les rend efficaces pour combler des lacunes ou des carences nutritionnelles. L'effet thérapeutique des suppléments alimentaires est inexistant : ils ne sont pas destinés à prévenir ou à guérir des maladies (**Valette**, **2015**).

- **Selon la loi du commerce algérienne**

Les produits alimentaires contenant des vitamines et des sels minéraux sont des sources concentrées de ces éléments nutritifs, qu'ils soient seuls ou en combinaison, et sont disponibles en gélules, comprimés, poudre ou solution. Ils ne sont pas consommés comme des produits alimentaires classiques, mais en petite quantité, dans le but de combler le manque de vitamines et/ou de sels minéraux dans le régime alimentaire conventionnel (**Rabiai et al** ,**2018**).

III.3 Le principe de la complémentation alimentaire

De moins en moins d'individus pratiquent de l'activité physique et consomment une alimentation riche en graisses saturées, glucides, sucre, sel, etc. Cela entraîne de nombreuses maladies chroniques telles que l'obésité, le diabète, l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie, les maladies coronariennes et les accidents vasculaires cérébraux. L'OMS met en garde, estimant qu'il est nécessaire de prendre des mesures urgentes. De nombreuses études ont été menées sur l'influence de l'alimentation sur la santé et la mortalité (cancer, maladies cardiovasculaires, etc.). Il est devenu crucial de prendre en compte une alimentation équilibrée lors des décisions alimentaires. Les conseils des médecins sur la santé et la nutrition, de plus en plus repris par les médias, ont un impact sur le comportement.

Les compléments alimentaires ont la capacité d'éviter certains défauts ou de satisfaire des besoins particuliers (tels que les activités sportives ou autres), tandis que l'enrichissement de certains aliments peut également compenser la carence. Par exemple, de l'iode est ajouté au sel dans de nombreux pays afin de prévenir le crétinisme et le goitre. Puisque les plantes ne contiennent pas de vitamine B12, les végétaliens doivent prendre des suppléments ou consommer des aliments enrichis afin d'obtenir un apport adéquat. La vitamine D est essentielle pour les bébés et les enfants, et elle devrait être apportée par l'alimentation, mais elle est souvent consommée sous forme de compléments alimentaires en raison de sa faible disponibilité dans les rations quotidiennes. De la même manière, les femmes nécessitent 77% de fer supplémentaire que les hommes dès l'adolescence, tandis que le calcium est essentiel pendant la ménopause (pour prévenir l'ostéoporose, résultant des changements hormonaux).Les quantités de vitamine D, de fer ou de calcium dans les aliments varient.

Ainsi, il est essentiel d'adopter une alimentation équilibrée et de combiner divers types de nutriments afin de garantir l'apport d'éléments essentiels pour la santé humaine (**Charai, 2022**).

III.4 Composition des compléments alimentaires

III.4.1 vitamines et minéraux

Plus que des nutriments populaires, les vitamines et les minéraux jouent un rôle essentiel dans le bon fonctionnement et la constitution de notre organisme. Les compléments alimentaires sont autorisés à contenir des vitamines et des minéraux, qui peuvent être utilisés dans leur production (**Rabiai et al**, **2018**).

-Les vitamines : même en petites quantités, elles jouent un rôle essentiel car notre corps ne peut pas les synthétiser, à l'exception de la vitamine D. Il est donc nécessaire de les apporter à travers l'alimentation ou les compléments alimentaires. Les vitamines B (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9 et B12) jouent un rôle dans les processus métaboliques, la vitamine C favorise la vitalité et les défenses naturelles, ainsi que les vitamines liposolubles telles que la vitamine A pour la santé visuelle, la vitamine D pour la santé osseuse et la vitamine E avec des propriétés antioxydants.

-**Les éléments minéraux et oligo-éléments :** Le magnésium, le calcium, le chrome, le fer et les minéraux jouent un rôle essentiel dans notre bien-être corporel. Ils jouent un rôle essentiel dans le développement des enfants, les fonctions biologiques et la régulation de notre métabolisme... Chacun a son propre supplément alimentaire. Les minéraux, tels que le carotène pour le bronzage, le chrome pour la régulation de la glycémie, le magnésium pour combattre la fatigue, le zinc pour une peau saine, le calcium pour renforcer le capital osseux, peuvent être consommés en tant que compléments alimentaires pour une action spécifique ou en combinaison pour créer des synergies (ménopause, minceur,...).

III.4.2 Plantes ou préparations de plantes

Les plantes et préparations à base de plantes sont couramment présentes dans les compléments alimentaires, notamment ceux utilisés pour leurs bienfaits traditionnels sur la santé. Ces ingrédients sont dérivés de plantes et ne sont pas destinés à des fins pharmacologiques ou thérapeutiques. Il est important de reconnaître que les plantes sont utilisées à des fins médicinales depuis l'Antiquité et que des réglementations sont en place pour garantir la sécurité des consommateurs. Ces réglementations s'appuient sur les

utilisations traditionnelles des plantes, mais peuvent également exiger des méthodes de test modernes pour vérifier leur efficacité. Les plantes peuvent être utilisées sous diverses formes, telles que des poudres, des extraits secs, des extraits aqueux ou des substances isolées (**Rabiai et al, 2018**).

L'arrêté du 24 juin 2014 prévoit une liste de 540 plantes (hors champignons, lichens et algues) pouvant être utilisées dans les compléments alimentaires . Cette liste a été élargie par La Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) aux plantes traditionnelles supplémentaires et à celles autorisées par reconnaissance mutuelle, totalisant plus de 1 000 plantes identifiées. DGCCRF a également créé un registre des algues (23) et des lichens (24) autorisés, tandis que la liste des champignons est encore en cours de finalisation **(Warzecka, 2020).**

III.4.3 Les substances à but nutritionnel ou physiologique

Selon l'article 2 du décret n°2006/352 du 20 mars 2006, il s'agit de "substances chimiques définies qui ont des propriétés nutritionnelles ou physiologiques spécifiques, à l'exception des nutriments et des substances de nature pharmacologique exclusivement". La liste des substances à but nutritionnel ou physiologique autorisées à être utilisées dans les compléments alimentaires est établie par l'arrêté du 26 septembre 2016. La chondroïtine, la créatine et le lycopène sont mentionnés comme exemple (**Boukli**, **2020**).

III.4.4 Les autres ingrédients (les additifs, arômes alimentaires et auxiliaires technologiques)

Lors de la production ou dans le produit fini, des additifs, des arômes et des auxiliaires technologiques sont ajoutés en petites quantités dans le but de renforcer la technologie : diminuer les phénomènes d'oxydation, améliorer la conservation, colorer les denrées, renforcer leur goût... Les compléments alimentaires peuvent être utilisés avec des additifs, des arômes et des auxiliaires technologiques, conformément à l'article 4 du décret n°2006-352 du 20 mars 2006 (**Boukli**, **2020**).

III.5 Formes galéniques

En examinant les éléments mentionnés précédemment, afin d'assurer la facilité d'utilisation et la sécurité de la consommation des CA, ils sont proposés en doses.

On définit ces doses comme des unités de prise mesurables et de faible quantité par rapport à l'apport habituel d'aliments (**HOUDA** ,**2021**).

On peut donc trouver sur le marché différent formes galéniques :

- Gélules.
- Pastilles.
- Comprimés.
- Pilules.
- Sachets de poudre,
- Ampoules de liquide,
- Flacons avec compte-gouttes,
- Autres formes similaires de préparations liquides permettant la délivrance de doses unitaires similaires.

La forme galénique faisant l'objet de ce travail est la forme liquide « sirop ».

III.5.1. Définition

Selon la Pharmacopée Européenne 9 édition 2017« les sirops sont des solutions sucrées de consistance visqueuse qui sont généralement préparées avec du saccharose à une concentration minimale de 45% m/m. Un pourcentage de 65% m/m assure même une protection antimicrobienne » **(Druckerei, 2017).**

Le saccharose peut être remplacé par des polyols (sorbitol, glycérol, xylitol) ou des édulcorants (aspartam, saccharine). Des épaississants peuvent alors être ajoutés afin d'obtenir une viscosité proche du sirop de saccharose. Les sirops peuvent contenir un ou plusieurs principes actifs, Des aromatisants, des colorants et des antimicrobiens. Grâce à leur gout sucré, Les sirops masquent la saveur désagréable de nombreux principes actifs **(Wehrle, 2007).**

III.5.2 La composition du sirop

Les sirops peuvent contenir un ou plusieurs principes actifs et des substances auxiliaires (colorant, aromatisants, agents antimicrobien). Le nom et la concentration des édulcorants et des polyols doivent être indiqués sur l'étiquette.

Conservateurs anti microbienne : Les conservateurs sont ajoutés dans le cas des préparations qui n'ont pas elle-même des propriétés antimicrobiennes suffisantes pour se protéger de la prolifération de microorganismes.

Les colorants : Les colorants sont des entités chimiques bien définies, ils permettent d'augmenter l'acceptabilité et l'attirance esthétique de la formulation.

Aromatisants : Les aromes sont, dans le domaine pharmaceutique des substances destinés à être introduites dans certains médicaments pour en masquer ou améliorer la saveur ou l'odeur (**Wehrle, 2007).**

III.5.3 Avantages de la forme pharmaceutique du sirop

Par rapport aux autres formes pharmaceutiques, les sirops permettent de :

- Avoir un aspect attrayant pour les jeunes.

- Masquer le goût désagréable de certains principes actifs.

- Faciliter l'administration du principe actif chez les petits enfants.

- Résister à la croissance microbienne grâce au taux élevé en sucre.

- Assurer une meilleure biodisponibilité avec un délai d'action plus court par rapport aux formes sèches **(Denine, 2008).**

III.6 Sécurité des compléments alimentaires

La qualité et la toxicité d'une drogue végétale sont en partie à l'origine de la sécurité d'un complément alimentaire à base de plantes, et il revient à nouveau au fabricant de vérifier que ses produits sont sûrs et conformes à la réglementation pour protéger le consommateur.

Afin d'assurer la sécurité sanitaire, l'arrêté du 24 juin 2014 établit les « renseignements à fournir aux entreprises du secteur alimentaire concernant la sécurité des préparations de plantes ». Selon cette annexe, il est demandé aux industriels d'évaluer le niveau d'exposition des consommateurs en se basant sur les données toxicologiques existantes, en effectuant une analyse des risques qui prouve l'innocuité dans les conditions proposées (**Papadopoulos charlotte**, **2021**).

Les niveaux d'exposition doivent être consignés :

- La consommation prévue de la plante et de la préparation de plante, y compris la quantité (exposition maximale et moyenne), la fréquence et la durée ;

- La consommation potentielle par le biais d'autres sources alimentaires ;

- Les modalités d'utilisation de la préparation de plante ;

- Les données connues de consommation de la plante et de la préparation de plante.

Il est nécessaire de les inclure dans les données toxicologiques :

- Les éléments qui causent des effets secondaires (identification, mesure) ;

- La bibliographie pour la préparation de plantes et des préparations similaires fournit des informations sur la toxicologie (limites de sécurité ou doses tolérables en substances actives ou en traceurs, limites en métabolites secondaires potentiellement toxiques) ;

- Les changements dans la méthode de production, en particulier en ce qui concerne l'utilisation traditionnelle et les conséquences supposées et/ou objectives sur la composition ;

- L'évaluation des risques qui prouvent l'innocuité dans les conditions suggérées (cible, portion quotidienne recommandée) ;

- Les données collectées dans le cadre de la surveillance des incidents internationaux ;

- Les éventuelles contre-indications, en particulier pour certaines populations (femmes enceintes, femmes allaitantes, enfants...) ;

- Les interactions moléculaires connues et supposées ;

III.7 Contrôle qualité de compliment alimentaire

Les contrôles des compléments alimentaires comprennent des évaluations physico-chimiques, des analyses microbiologiques, et des tests toxicologiques. Ces contrôles sont essentiels pour assurer la qualité, la sécurité, et l'efficacité des compléments alimentaires.

III.7.1 Contrôle physico-chimique

Le contrôle physico-chimique a pour objectif de :

- Identifier les propriétés organoleptiques des diverses formes pharmaceutiques (apparence, couleur).
- Repérer et ajuster la dose des principes actifs.
- Évaluer la présence d'impuretés potentielles et les mesurer.
- Identifier les propriétés pharmaco-techniques liées à la forme pharmaceutique (désintégration, dissolution sécabilité, pH, osmolarité, taille des particules...) (**Gurfa et Boulazreg, 2020).**

III.7.2 Contrôle microbiologique

Les tests microbiologiques doivent assurer une qualité hygiénique et marchande optimale du produit fabriqué, tout en réduisant au minimum les pertes causées par des conditions de fabrication inappropriées. L'objectif des essais microbiologiques est de recenser les bactéries mésophiles, les moisissures et les levures qui peuvent se développer en aérobiose. L'objectif de ces essais est d'abord de vérifier si un produit mentionné dans une monographie de la pharmacopée répond aux exigences microbiologiques définies dans cette monographie. Des éléments tels que la nature du produit et le nombre de microorganismes supposés influencent le choix de la méthode. Peu importe la méthode sélectionnée, elle doit être validée de manière adéquate **(Ait Abed et al, 2020).**

III.7.3 Toxicologique

La toxicologie (du grec toxikon qui signifie poison et logos qui signifie science) se concentre sur l'analyse des poisons, leur détection et leurs conséquences. Comme tout médicament à une dose donnée peut être considéré comme un poison, la toxicologie est également l'étude de la toxicité des médicaments **(Ait Abed et al, 2020).**

III.8 Etiquetage

Le règlement européen 1169/2011 apporte des modifications aux règlements mentionnés précédemment et est directement applicable dans tous les pays membres. Donc, il ajoute les éléments suivants à indiquer sur l'étiquetage au décret français 2006-352 : Le poids net, la composition des ingrédients en ordre croissant, ainsi que la mention « Complément nutritionnel » (**Othman**, **2012**).

Selon l'article 10 du décret n° 2006-352 du 20 mars 2006, les mentions requises dans l'étiquetage des compléments alimentaires doivent être obligatoirement mentionnées :

- Les catégories de nutriments ou substances qui caractérisent le produit ou une indication concernant la nature de ces nutriments ou substances.

- La quantité quotidienne de produit recommandée à consommer.

Un avertissement précisant qu'il est déconseillé de dépasser la quantité quotidienne recommandée.

- Une déclaration qui vise à prévenir l'utilisation des compléments alimentaires comme substituts d'un régime alimentaire diversifié.

- Une indication selon laquelle les produits doivent être conservés à l'écart des enfants.

III.9 Marchés des compléments alimentaires

III.9.1 Marché mondial

Selon les données du Synadiet, en 2008, le marché mondial des compléments alimentaires était évalué à 45 milliards d'euros, dont 30% étaient vendus en Europe. Trois pays sont les principaux acteurs du marché européen, représentant à eux seuls deux tiers du marché :

- L'Italie (21 % de part de marché).
-L'Allemagne (21% de part de marché).
- La France (12 % de parts de marché).

Dix autres pays se partagent le tiers restant : la Scandinavie (10 % des ventes), l'Espagne, la Belgique et les Pays-Bas (4% des ventes), l'Autriche, la Suisse et la Turquie (2% du marché), le Portugal, l'Irlande et la Grèce (1% du marché).

Les français consomment en moyenne 17,5 euros en moyenne par habitant en 2008 contre 20 euros pour les britanniques, 24 euros pour les Allemands, 28 euros pour les Italiens (**Jamel**, **2016**).

III.9.2 Marché algérien

L'autorisation mise sur le marché (AMM) n'est pas requise pour la commercialisation des compléments alimentaires, car elle repose sur l'évaluation par un comité d'experts d'un dossier comprenant les preuves d'efficacité et d'innocuité. La responsabilité de l'industriel est de garantir que les compléments alimentaires commercialisés respectent les réglementations en vigueur, tant en ce qui concerne la sécurité que l'information du consommateur (non-tromperie du consommateur).

En Algérie, les conditions d'utilisation des compléments alimentaires sont définies dans l'annexe III (article 6) du décret exécutif n°12-214 du 23 Joumada Ethania 1433, daté du 15 mai 2012. Il est également nécessaire que les compléments alimentaires respectent les critères d'identité et de pureté établis par les normes algériennes, ou à défaut par les normes internationales acceptées (article 8) (**Amel**, **2016**).

Chapitre IV :

Matériels et Méthodes

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique de département science de la matière d'université Yahia farés pendant une durée de 5 mois.

L'objectif de ce travail est de démontrer les activités biologiques et analyse chimique d'extrait à base de plante médicinale. Les expériences sont réalisées comme suite :

1- Préparation d'extrait éthanolique de la plante.
2- Un dosage de polyphénol totaux et flavonoïde et la détermination de leur teneur d'extrait.
3- Déterminer les activités biologiques d'extrait.
4- Déterminer La toxicité orale aiguë de l'extrait.
5- Préparer de compliment alimentaire sous forme sirop à base de l'extrait de la plante médicinal.

IV.1 Matériels et méthodes

IV.1.1 Matériel biologique

IV.1.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé a été récolté au mois de février 2023 dans la wilaya de Médéa. La partie utilisée est la partie aérienne, qui a été séchée à l'aire libre et l'bri de la lumière afin d'obtenir un poids sec et constant.

IV.1.1.2 Les souches microbiennes

- **Les souches bactériennes**

L'activité antimicrobienne d'extrait a été testé contre :

- ✓ Escherichia coli ATCC 8739
- ✓ Staphylococcus aureus ATCC 25923
- ✓ Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027
- ✓ Bacillus Subtilis ATCC 6633
- ✓ Salmonella ATCC 14028

Le matériel bactérien utilisé dans cette étude a été fourni par Laboratoire de Microbiologie de Service de Contrôle Qualité de groupe SAIDAL, Médéa. Ces souches de référence et souches sauvages ont été conservées au réfrigérateur à 4°C.

IV.1.2 Produits chimiques

- **Les produits utilisés**

Les produits chimiques utilisés dans ce travail sont illustrés dans le tableau. **(Tableau IV.1)**

Tableau IV.1 : Liste des produits chimiques utilisés.

Produit	La formule Brute	La masse molaire g/mol	La marque	La pureté
Nitrite de sodium	$NaNO_2$	68.995	BIOCHEM	95
Chlorure d'aluminium	$AlCl_3$	133.34	BIOCHEM	98.5
Chlorure de sodium	NaCl	58.443	BIOCHEM	98
Carbonate de sodium	Na_2CO_3	106.014	CHEMICALS	97
Iodure de Potassium	KI	166.01	SIGMA-ALDRICH	99
Hydroxyde de sodium	NaOH	39.997	BIOCHEM	98
Ethanol	C_2H_5OH	46.07	BIOCHEM	99.8
Acide chlorhydrique	HCL	36.46	HONEYWELL-FLUKA	36
Folin	$C_6H_3(OH)_3COOH$	260.2	SCHALAU	/
Acide gallique	$C_7H_6O_5$	170.12	BIOCHEM	99
Quercitine	$C_{15}H_{10}O_7$	302.236	BIOCHEM	99.5
Hydrogénophosphate de sodium	Na_2HPO_4	141.958	BIOCHEM	98
Méthanol	CH_2OH	32.04	BIOCHEM	99
dihydrogénophosphate de potassium	KH_2PO_4	136.085	BIOCHEM	98
Tampon phosphate	PBS	239.26	BIOCHEM	98

salin				
Acide ascorbique	$C_6H_8O_6$	176.12	THERMOSCIENTIFIQUE ACROS	99
2,2-diphényle-1-picrylhydrozyl	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	394.32	THERMO SCIENTIFIQUE ALFA AESAR	98
Diclofénac de sodium	$C_{14}H_{11}C_{l2}No_2$	296.149	THERMO SCIENTIFIQUE ALFA AESAR	98
Saccharose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342.2965	/	/

IV.1.3 Appareillages et verreries

Tous les Appareillages et verreries utilisés dans ce travail illustré dans le tableau. **(Tableau IV.2)**

Tableau IV.2 : Liste des Appareillages et verreries utilisés.

Appareillage	Verreries	Autre consommable
Balance électrique, bain marie, plaque chauffante, thermomètre, pH mètre, densitomètre, étuve, Rota-évaporateur, broyeur domestique, autoclave, spectrophotomètre, vortex, centrifugeuse, micropipette, conductimètre, Viscosimètre, Réfractomètres.	Cristallisoir, béchers, verre de montre, flacons, burettes graduées, erlenmeyer, entonnoirs, tubes à essais.	papier filtre, boites de pétri, disques en papier filtre, écouvillons, pince, bec bunsen, bouteille en verre.

IV.2 Méthodes

IV.2.1 Séchage, broyage et tamisage

La plante a été séchée à l'air libre et à température ambiante puis broyées grâce à un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine puis tamisée par un tamiseur, la poudre obtenue a été conservée dans des sacs en papier et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'utilisation.



Figure IV.1 : La poudre de la plante médicinale (Photo originale).

IV.2.2 Extraction et préparation d'extrait

- **Principe**

L'extraction consiste à séparer les parties actives médicalement des tissus végétaux ou animaux des parties inactives ou inertes en utilisant des solvants sélectifs selon les procédures d'extraction habituelles. Les produits obtenus à partir de plantes sont généralement de nature liquide, semi-solide ou poudre impure, pour un usage oral ou externe (**Handa et al**, **2008**).

Dans cette étude, nous avons opté pour l'extraction par macération, une méthode qui se déroule à température ambiante et qui offre l'avantage de préserver les substances thermosensibles. Pour obtenir des extraits enrichis en molécules d'intérêt, on utilise le mélange éthanol/eau (80 :20 ; v/v) comme solvant. D'après les études ultérieures, les solvants tels que le mélange hydroalcoolique servent à améliorer l'extraction d'une part et sont non toxiques et respectueux de l'environnement, ces solvants sont donc largement utilisés pour l'extraction sélective des composés polaires.

Les solutions obtenues sont filtrées et ensuite conservés à température - 4°C, à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation **(Pagliari, Cannavacciuolo et al. 2022).**

❖ **Mode opération**

Les extraits utilisés au cours de notre étude sont préparés en fonction de temps (24 h, 48 h, 72 h). La méthode d'extraction est faite selon le protocole suivant :

Une quantité de 2,5g de poudre a été macérer dans 250 ml d'éthanol (80/20%) sous agitation magnétique pendant (24 h, 48 h, 72 h) à une température ambiante. Les macéras sont ensuite filtrés à l'aide d'un papier filtre et évaporé par un évaporateur rotatif à 60 C° afin d'éliminer le solvant. Les extraits obtenus sont ensuite conservés dans des boites stériles jusqu'à leur utilisation.

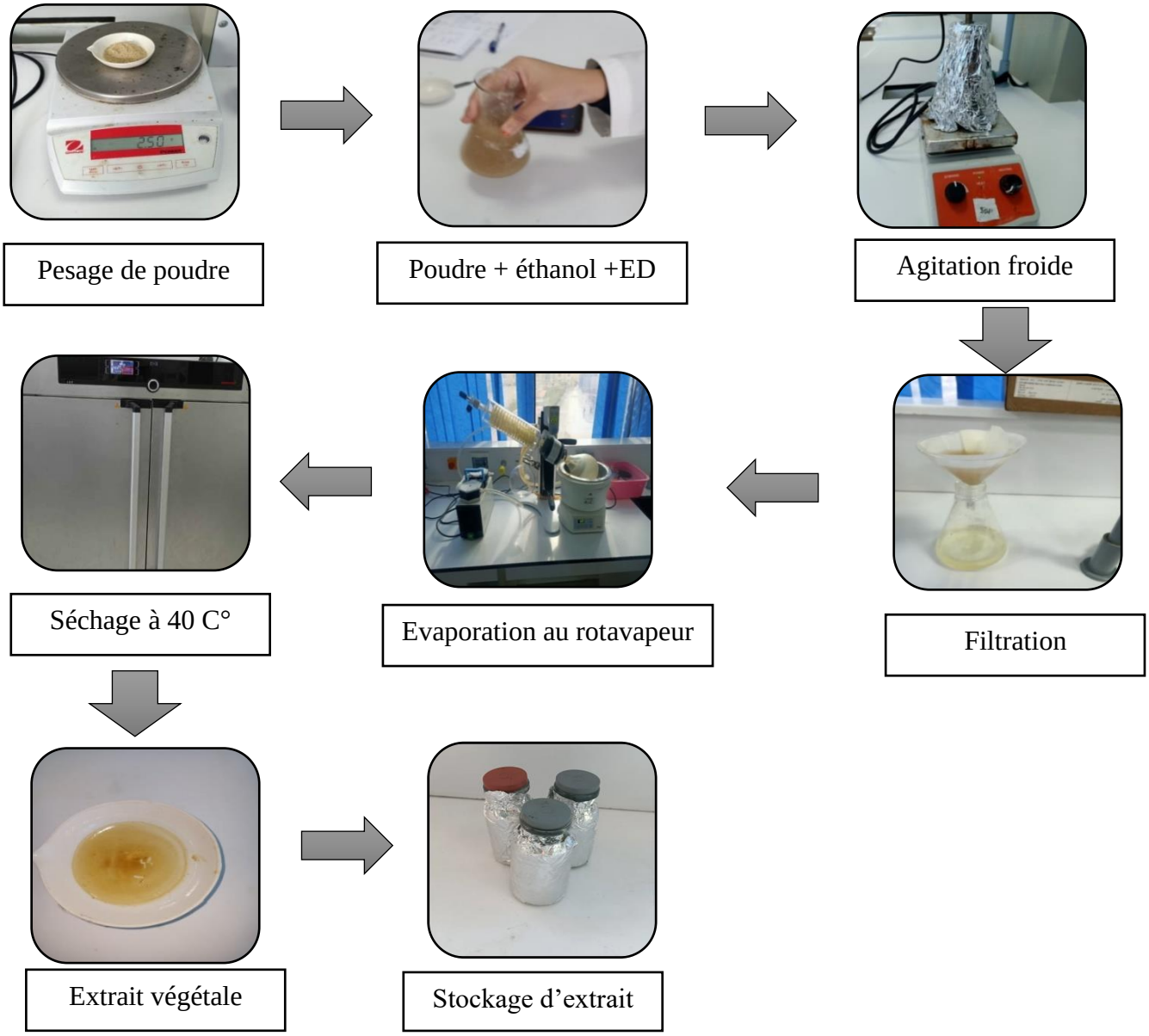


Figure IV.2 : Illustration des différentes étapes d'extrait alcoolique.

IV.2.3 Détermination de rendement d'extraction

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait obtenue et la masse de la matière végétale sèche. Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$Rdt\ (\%) = (m0/m1) \times 100$$

Avec

Rdt : rendement en pourcentage.

m0 : Masse en (g) de l'extrait récupérée.

m1 : Masse en (g) de la matière végétale initiale utilisée pour l'extraction.

IV.2.4 Dosage des métabolites secondaire

IV.2.4.1 Polyphénols totaux

- **Principe**

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentir**, **2006**).

- **Protocol**

Pour évaluer la teneur des extraits végétaux en polyphénols, on a pris 0.1ml de chaque extrait auquel on a ajouté à 100 µl du réactif de Folin- ciocalteux (dilué 10 fois dans l'eau distillée). Après agitation, on a laissé le mélange reposer 5 minutes, puis on a ajouté 2ml de solution de carbonate de sodium (2%), fraichement préparée. Après incubation de 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité, on a effectué une lecture de l'absorbance à 700 nm par un spectrophotomètre UV (**Boumerfeg et al**, **2009**).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations.

Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par Milligrammes d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

La teneur en composés phénoliques d'échantillon analysé est calculée par la formule Suivante :

[Polyphénol] =A.F/B.V

A : concentration des polyphénol (µg/ml) détermine à partir de courbe étalon ;

F : facteur de dilution ;

B : masse de l'extrait (1 mg).

V : volume initial de la solution d'extrait (1ml).

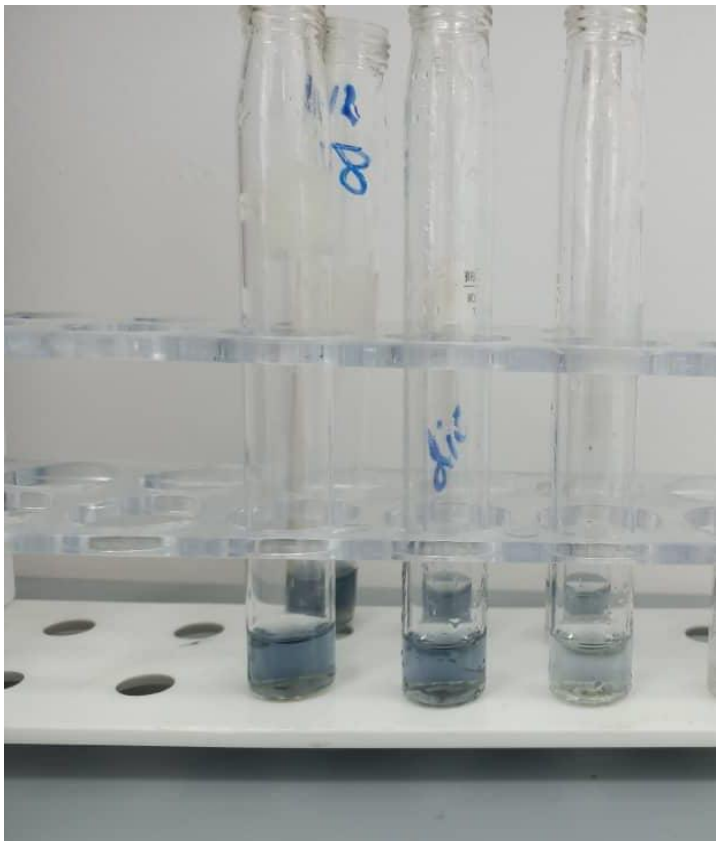


Figure IV. 3 : Dosages de polyphénol (Photo originale).

IV.2.4.2 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 flavanols. 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).**

- **Protocol**

Un volume de 500µl de chaque extrait ou de quercitrine est mélangé avec 2 ml d'eux distillée, et par la suite on ajoute 150 µl d'une solution de nitrite de sodium ($NaNO_2$) à 15%. Après, incubation de 6 min à température ambiant, on ajoute au mélange 150 µl de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$, $6H_2O$) à 10% suivie par une 2eme incubation 6 min à température ambiante. Par la suite 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4 % est ajouté, le volume totale est complété à 5 ml d'eau distillée. Après agitation puis incubation pendant 15 min, la lecture se fait à 510nm contre le tube blanc **(Zhishen, Mengcheng et al. 1999)**.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant différentes concentrations de l'étalon : la quercitrine.

Les résultats sont exprimés en µg équivalent de quercitrine par mg d'extrait.

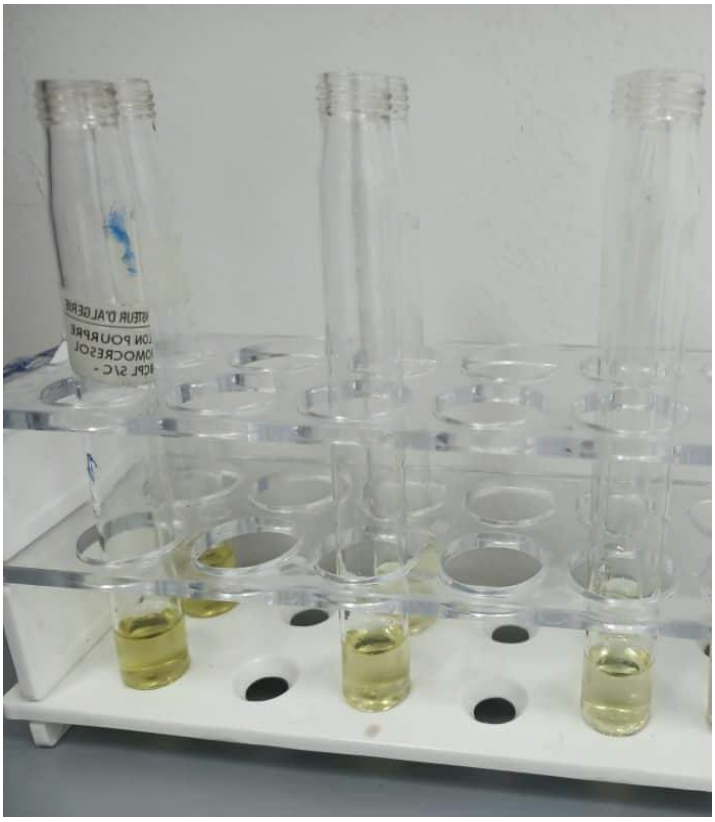


Figure IV. 4 : Dosages des flavonoïdes (Photo originale).

IV.2.5 Evaluation de l'activité biologique d'extrait végétal

Tous les tests biologiques sont réalisés sur l'extrait de 24 heures.

IV.2.5.1 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro

- **Echantillons de sang humain**

Des échantillons de sang frais (environ 6ml) ont été récupérés dans des tubes héparinisés, à partir du laboratoire où les patients n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires, durant les deux dernières semaines avant le prélèvement.

- **Préparation de la suspension des globules rouges humains**

Les échantillons de sang récupérés ont été centrifugés à 3000rpm, pendant 10min. Le surnageant est, par la suite, éliminé et le culot de globules rouges a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique, jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair, en centrifugeant à chaque fois à la vitesse 3000 rpm, pendant 5 min. Le volume de globules rouges a été mesuré afin de préparer une suspension de 10% (v/v) de globules rouges humains, avec de l'eau physiologique.



Figure IV.5 : Préparation de la suspension des globules rouges. (Photo originale)

- **Evaluation de l'activité hémolytique (la toxicité des extraits vis- à- vis des globules rouges)**

Le test d'effet hémolytique d'extrait végétal étudié est réalisé selon la méthode de**(Haddouchi, Chaouche et al. 2018).**Dans un tube à hémolyse, 20µl de l'extrait est ajouté à

1980µl de la suspension érythrocytaire préparée. Ce tube est ensuite incubé à 37°C pendant 60 minutes. Après l'incubation, un prélèvement de 250µl est réalisé pour être repris dans 750µl de PBS ; la mixture obtenue est mélangée délicatement et mise dans un bain glacé pour arrêter la réaction, puis centrifuger à 2500 tours/min durant dix minutes.

La lecture de des absorbances est effectuée à 548 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc contenant du PBS.

Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, nous avons préparé un tube d'hémolyse totale (témoin positif) qui contient 100µl de la suspension érythrocytaire et 1900µl d'eau distillée et un tube témoin négatif composé de 250µl de la suspension érythrocytaire et de 750 µl de PBS.

Nous avons utilisé l'acide gallique comme molécule de référence avec les mêmes démarches expérimentales que l'extrait de plante.

Le taux d'hémolyse d'extrait est calculé par rapport à l'hémolyse totale, après 60 minutes d'incubation selon la formule suivante

Taux d'hémolyse (%) = (DO extrait – DO témoin négatif) /DO témoin positif

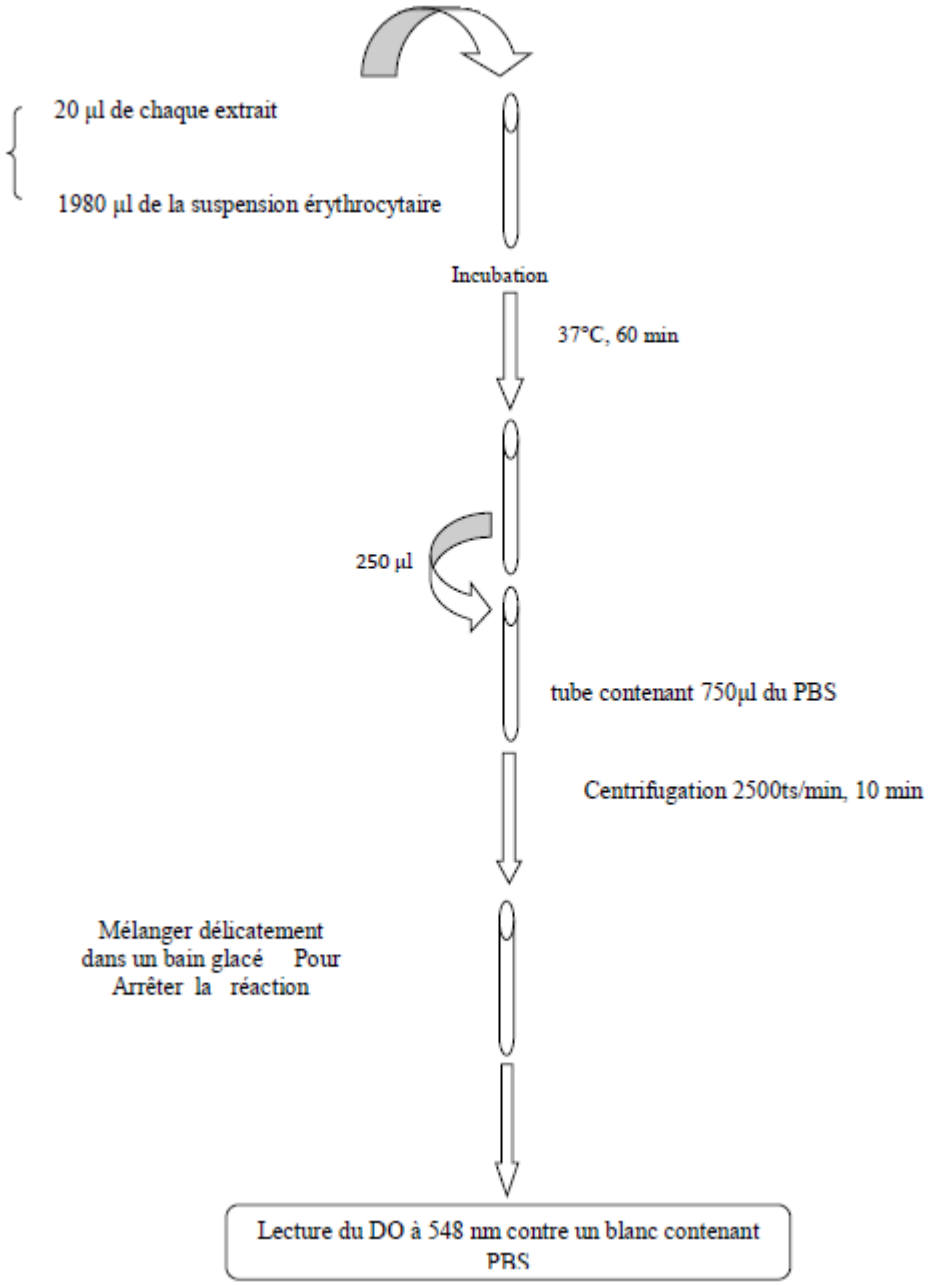


Fig. IV.6 : Protocole expérimental de détermination de l'activité hémolytique.

- **Evaluation de l'effet des extraits sur la stabilisation de la membrane des globules rouges**

Le test se base sur l'étude de l'effet d'extrait végétal, étudié dans notre travail, sur la stabilisation des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée, selon le protocole de **(Ganesh et al. 2013).**

Dans un tube à hémolyse, 0.5 ml d'extrait, 1.5 ml du tampon phosphate (0.15 M, pH 7.4) et 2 ml de la solution hyposaline (NaCl à 0.36 %) ont été mélangés et incubés, à 37°C pendant 20 min. Par la suite, un volume de 0.5 ml de la suspension des érythrocytes (20%) a

été rajouté, enchainé d'une incubation, à 56°C pendant 30 min. Le tube a été mis dans de l'eau froide pendant 20 min, afin d'arrêter la réaction ensuite centrifugé, à 3000 rpm pendant 5 min. La lecture d'absorbance du surnageant est faite à 560nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. Le contrôle consiste en un mélange de 2.5ml de la solution hyposaline, 1.5 ml du tampon PBS, 0.5 ml de la suspension de globules rouges.

Le diclofénac est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, avec les mêmes concentrations que l'extrait. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante : % de stabilité des membranes des GR = 100-[At / Ac]

Ac : *absorbance de control,* ***At :*** *absorbance de l'échantillon (test)*

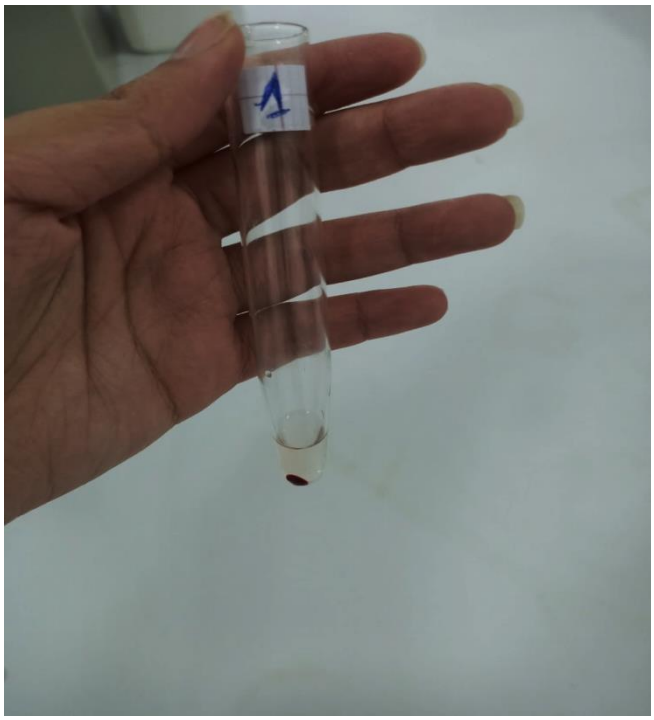


Figure IV.7 : Etude de la stabilité de membrane des GR (photo originale).

IV. 2. 5. 2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Les tests de sensibilité et résistance antimicrobienne ont été effectués selon la méthode de diffusion sur milieu solide (**Rota et al**, **2008**).

Le principe de l'activité antimicrobienne d'extrait de plante consiste à réaliser une culture microbienne sur milieu Muller- Hinton (MH), en présence des disques imbibés d'extrait de plante. Si ce dernier a une activité antimicrobienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque.

IV.2.5.2.1 Revivification des souches

Les souches bactériennes ont été revivifiées et repiquées dans le bouillon nutritif, puis incubées à des températures optimales de développement (37°C) pendant 18 heures.

IV.2.5.2.2 Préparation de l'inoculum

Chaque souche est ensemencée au préalable sur une gélose nutritive puis incubées à 37°C pendant 24h, pour l'obtention d'une culture jeune. Par la suite, des suspensions microbiennes seront réalisées en prélevant 3 à 5 colonies jeunes, bien isolées et identiques. Tremper dans 5 ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex à fin d'avoir une turbidité cellulaire (10^6 à 10^8UFC/ml) correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,12 lue à 625 nm. Préparation des milieux de culture

La gélose de Muller- Hinton (milieu spécifique pour la réalisation de l'antibiogramme (chez les bactéries), prêt à l'usage, a été coulée, une quantité équivalente à 18 ml dans des boites de pétrie stériles. Laisser les boites entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification avant leur emploi.



Fig. IV.8 : Revivification des souches bactériennes et préparation de l'inoculum. (Photo originale)

IV.2.5.2.3 Ensemencement par écouvillonnage

L'écouvillon stérile, trempé et agité dans la suspension bactérienne, préalablement préparée, est essoré sur la paroi de tube à essai. L'ensemencement consiste en l'étalement par écouvillonnage d'un milieu Muller –Hinton. L'écouvillon doit passer 2 à 3 fois sur toute la surface de manière à obtenir un ensemencement homogène et une culture abondante.

Laisser sécher les boîtes 10 minutes avant de déposer les disques.

IV.2.5.2.4 Préparation des disques

Des disques (en papier filtre type Wattman Nº1) stériles de 6mm de diamètre ont été déposé stérilement à l'aide d'une pince stérile sur la boîte ensemencée, les disques sont préalablement imbibés de 10µl d'extrait à la surface de la gélose Muller –Hinton ou la gélose Saboraud. Les boites de pétri sont placées à basse température (+4°C) pendent 2h afin de permettre aux extraits de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplie ; Retirer les boites du réfrigérateur et les placer à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C) pendent 24 h.

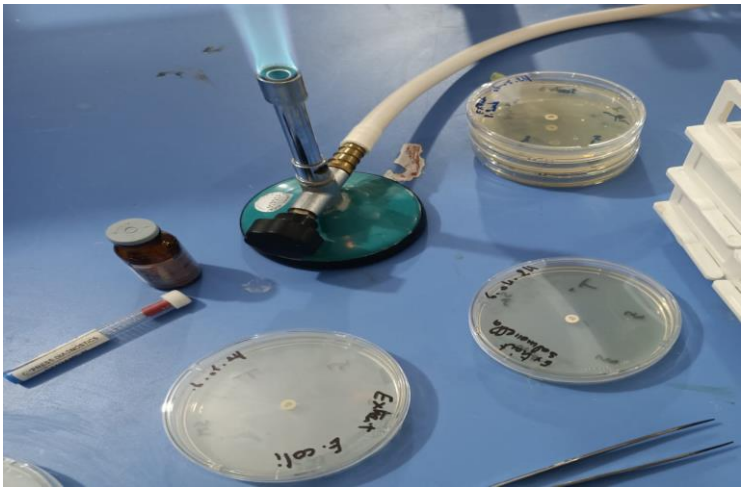


Fig. IV.9 : Application des disques. (Photo originale)

IV.2.5.2.5 Lecture des résultats

Les disques apparaissent, après incubation à l'étuve entourée d'une zone d'inhibition, dont le diamètre permet de déterminer la sensibilité des germes vis-à-vis de l'extrait. La lecture des résultats se fait en se basant sur la mesure des zones d'inhibition obtenues. La sensibilité aux différents extraits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition.

Tableau IV .3 : Estimation de la sensibilité des souches **(Moreira et al., 2005).**

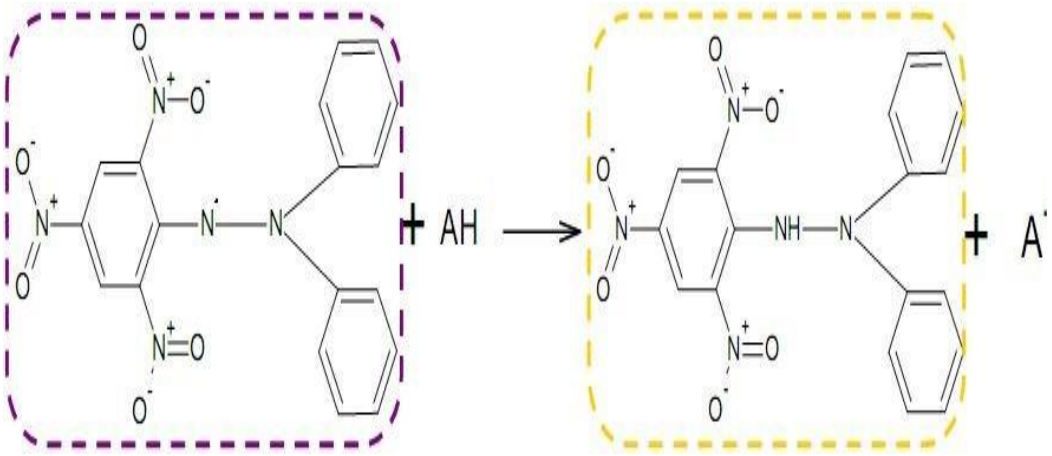
Diamètre (mm)	Activité antimicrobienne	Souche
D<7	Nulle	Résistante
D[4-7]	Faible	Sensible
D[15-19]	Moyenne	Très sensible
D>20	Forte	Extrêmement sensible

IV.2.5.2.6 Activité anti-oxydante

❖ **Principe**

La molécule de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH˙) est un radical libre stable, dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Quand une solution de DPPH˙ est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, anti oxydante, il y'a formation de la forme réduite.

Ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm (**Brand-Williams**, **1995**).



FigIV.10 : Structure chimique du radical DPPH˙ et de sa forme réduite (**Elmouloud**, **2016**).

❖ **Protocol**

Pour l'extrait, Un volume de 1,95 ml de la solution de DPPH (0,05mg/ml) est mélangé avec 50 µl d'extrait à différentes concentrations. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm.

L'acide ascorbique utilisé comme contrôle positif est testé selon le même mode opératoire à différentes concentrations

L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

% d'activité anti oxydante = [(Abs contrôle –Abs échantillon) /Abs contrôle] ×100

- **Détermination des CI50**

IC50 ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de

radical DPPH•. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées (**Ouldyerou et al**, **2018**).



Figure IV.11 : Dosage d'anti oxydante (Photo originale).

IV.2.6 La toxicité orale aiguë

Les expériences toxicologiques chez les animaux sont effectuées afin de déterminer le type d'effet des extraits des plantes sur un système biologique et la gravité de l'effet qu'ils présentent. Les données obtenues dans de tels tests sont ensuite utilisées pour extrapoler les doses et les effets sur les humains **(Wallace, 2011 ; Kevin et al. 2012).**

Le test de la toxicité orale aiguë a été réalisée dans laboratoire de **CRD -groupe SAIDAL -site de production de gue de Constantine.**

IV.2.6.1 Mode opératoire

L'étude de la toxicité orale aiguë a été réalisée en se référant à :

- La ligne directrice 423 de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) pour la procédure à dose fixe de toxicité orale aiguë

• La ligne directrice pour les essais de toxicité non clinique in vivo de l'Agence nationale du médicament et de l'alimentation contrôle (NADFC) de l'Indonésie.

Le matériel animal utilisé pour l'étude de la toxicité aiguë est la souris blanche. Une seule administration d'extrait à la dose de 2000 mg/kg (dose maximale) de poids corporel a été administrée par voie orale à un groupe de neuf souris mâles et femelles, dont le poids corporel était compris entre 17 et 20 g.

Tous les animaux ont été traités et manipulés selon les normes des manuels sur le soin et l'utilisation des animaux de laboratoire. L'examen des signes cliniques de toxicité a été effectué pendant 14 jours.

IV.2.6.2 Observations

Après traitement, les animaux étaient observés individuellement au moins une fois pendant les premières 30 minutes et régulièrement pendant les premières 24 heures après le traitement, avec une attention particulière pendant les quatre premières heures. Ils étaient ensuite observés quotidiennement pendant 14 jours après l'administration des extraits. Les observations portaient sur des signes toxicologiques ; les modifications de la peau, des poils, de l'activité somato-motrice et du comportement ou bien de mortalité. L'attention se portait en particulier sur l'observation des diverses manifestations de tremblement, convulsion, salivation, diarrhée, léthargie, sommeil et coma**.**

IV.2.7 Application : préparation de complément alimentaire

IV.2.7.1 Préparation du sirop simple

Nous avons préparé le sirop simple selon la formule décrite à la Pharmacopée Européenne 6ème édition :

Saccharose…….... 165 g
Eau ....……..…….. 100 g

Le protocole suivi est le suivant :

Dissoudre 165 g de saccharose dans 100 g d'eau distillée.

Porter l'ensemble à ébullition (105°C).

Récupérer la solution chaude lorsque la densité atteint 1,26.

Filtrer immédiatement la solution chaude avec un filtre préalablement chauffé.

IV.2.7.2 Solubilisation de principe actif

Les principes actifs ayant une bonne solubilité dans l'eau sont directement dissous dans le sirop simple, sans qu'il soit nécessaire d'utiliser un solubilisant supplémentaire. Pour cette expérience, nous avons choisi l'eau comme solubilisant.

IV.2.7.3 Préparation du liquide

Nous avons dissous 0,7g d'extrait dans 50ml d'eau distille et ajoutez du colorant vert. Après quelques minutes d'agitation, nous avons procédé à une filtration par un micro filtre pour éliminer les impuretés.

IV.2.7.4 Préparation du sirop final

Nous avons ajouté au liquide déjà préparé une quantité de sirop simple suffisante pour atteindre 100 ml de préparations liquides. Le mélange est soumis à une agitation douce pendant10 minutes.

Le sirop final est conditionné dans un flacon opaque et conservé à température ambiante.



Figure IV.12: Sirop final (Photo original).

IV.2.7.5 Contrôle physicochimique du produit fini

Dans le but d'apprécier la qualité de notre préparation, nous avons procédé aux contrôles suivants :

- ✓ **Contrôle organoleptique**

Il s'agit de vérifier la couleur, l'odeur et la saveur du sirop.

- ✓ **Contrôle du pH**

La mesure du pH se fait par méthode potentiométrique à l'aide d'un pH-mètre calibré dont l'électrode est directement immergée dans le sirop final.

La valeur obtenue est lue sur l'écran de l'appareil.

- ✓ **Densité**

La densité d'une substance est le rapport entre la masse d'un certain volume à 20 C° de température et la masse d'un volume égale d'eau à la même température.

La mesure de la densité se fait à l'aide d'un pycnomètre.

d= (M2 – M0) / (M1 – M0).

d : la densité du produit.

M0 : le poids du pycnomètre vide.

M1 : le poids du pycnomètre rempli par l'eau distillée.

M2 : le poids du pycnomètre rempli par le produit.



Figure IV.13 : Un pycnomètre.

- ✓ **Viscosité**

La viscosité est la mesure de la résistance interne d'un fluide à l'écoulement. Ceci est généralement désigné en centipoises ou en poises, mais peut également être exprimé en mesures acceptables.

Certains facteurs de conversion sont les suivants :

100 Centpoises = 1 Poise

1 Centipoise = 1 mPa s (Millipascal Second) ▪ 1 Poise = 0,1 Pa.s (Pascal Second).

Les appareils les plus utilisés pour mesurer la viscosité sont le viscosimètre à écoulement par un capillaire et le viscosimètre à mobile tournant.

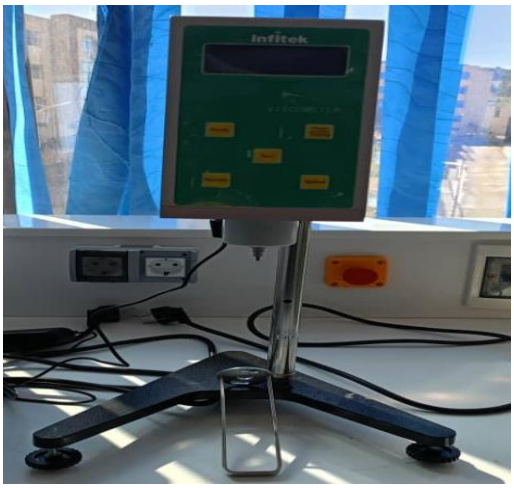


Figure IV.14 : Un viscosimètre.

✓ **Contrôle de la limpidité**

La limpidité est caractérisée par la capacité de transmission de la lumière par le sirop et l'absence de substances en suspension.

La limpidité du sirop a été appréciée par l'observation à l'œil nu contre la lumière du jour.

✓ **Évaluation de la cristallisation**

Il s'agit d'examiner l'apparition de tout précipité après avoir placé le sirop au réfrigérateur pendant une semaine.

✓ **Verrouillage du bouchon**

Les flacons de sirop sont retournés et conservés ainsi pendant une semaine. Le verrouillage serait confirmé au cas où le bouchon ne pourrait pas être facilement ouvert.

Chapitre V:

Résultats et discussion

V.1 Rendement de l'extraction

La plante étudiée a été macérée dans un mélange d'éthanol-eau (80/20 %) pendant des périodes de 24 heures, 48 heures et 72 heures. Les rendements ont été déterminés à partir du poids des extraits obtenus, après évaporation à sec par rapport au poids initial. Les résultats obtenus ont été illustrés sur la **figure V.1.**

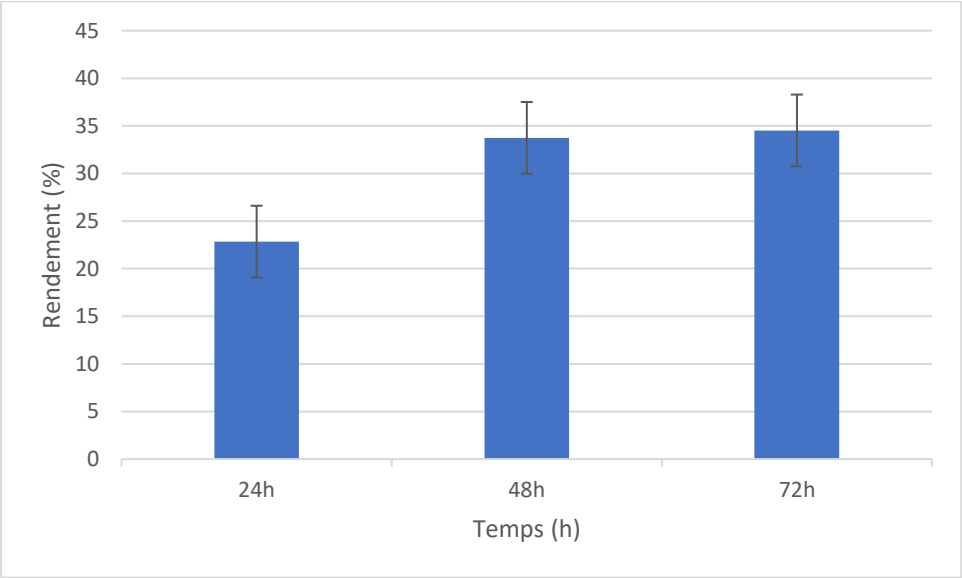


Figure V.1 : Les rendements d'extraction en fonction de temps.

L'extraction à partir des parties aériennes par macération a montré des variations significatives dans les rendements obtenus en fonction du temps d'extraction. Les résultats indiquent un rendement initial de 22,84% après 24 heures d'extraction, qui a considérablement augmenté à 33,74% après 48 heures et a légèrement augmenté 34,52% après 72 heures. Ces résultats suggèrent une évolution du rendement au fil du temps, avec une amélioration marquée après 48 heures d'extraction. Cela peut être attribué à la capacité de la macération à permettre au solvant de pénétrer efficacement dans la poudre.

On peut dire que le rendement des extraits naturels d'une même espèce n'est pas influencé seulement par le temps d'extraction mais aussi par d'autres facteurs à savoir la technique d'extraction, la température, le choix de solvant d'extraction et son volume, il est lié aussi au cycle végétatif, la période, la saison de récolte et la localisation géographique, ainsi qu'au temps de séchage de la plante **(Fettah ,2019 ; Khaled-khodja et al ,2014).**

V.2 Dosage des métabolites secondaire

➢ **Dosage des polyphénols totaux**

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon la méthode utilisant le réactif Folin Ciocalteu. La teneur des polyphénols a été calculée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique **(Annexe 3)** et les résultats exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 700 nm.

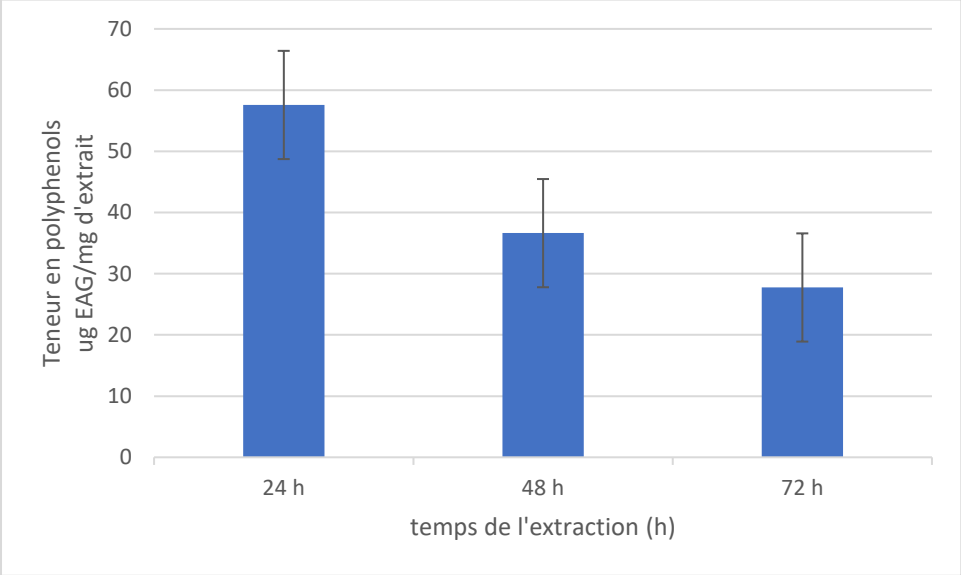


Figure V.2 : tenure en polyphénols en µg EAG /mg d'extrait.

➢ **Dosage des flavonoïdes**

La teneur des flavonoïdes est déterminée selon la méthode utilisant le réactif de trichlorure D'aluminium. La quantification des flavonoïdes a été déterminée à partir l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine **(Annexe2)** et la teneur exprimée en microgramme équivalent en quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 510 nm.

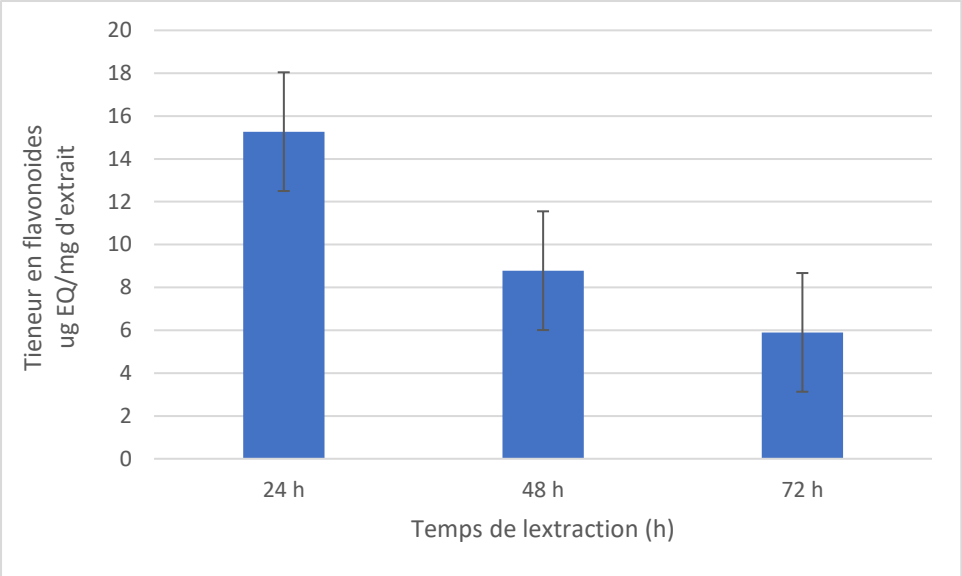


Figure V.3 : teneur en flavonoïdes en µg EQ /mg d'extrait.

D'après les résultats en peut dire que l'extrait obtenu après 24 heures présente la concentration la plus élevée en composés phénoliques et flavonoïdes, avec un taux de 57,57±6,09 µg E AG/mg d'extrait et 15,27±3,55 µg E Q/mg d'extrait respectivement. En revanche, celui obtenu après 72 heures montre la concentration la plus faible en composés phénoliques, avec un taux de 27,75±4,20 µg E AG/mg d'extrait et un taux de 5,90±1,07 µg E Q/mg d'extrait pour les flavonoïdes.

L'extrait obtenu après 48 heures donne un taux intermédiaire de 36,63±5,60 µg E AG/mg d'extrait et 8,78±2,57 µg E Q/mg pour les polyphénols totaux et les flavonoïdes respectivement. Ces résultats indiquent que la durée d'extraction a un impact significatif sur le rendement en polyphénols totaux et en flavonoïdes de notre plante.

Plusieurs études ont souligné que des temps d'extraction prolongés peuvent conduire à une diminution de la teneur en polyphénols, potentiellement due à l'oxydation de ces composés **(Santos-Buelga et al. 2012 ; Al-Farsi et Lee, 2008**).

Ainsi, bien que des périodes d'extraction plus longues puissent être envisagées, elles doivent être gérées avec précaution pour éviter une perte excessive de composés phénoliques par oxydation ou polymérisation en composés insolubles **(Bouterfas etal, 2014).**

En effet, le contenu phénolique (y compris les flavonoïdes) d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique), extrinsèques (environnement et stockage) **(Falleh et al, 2008),** ainsi que de la période de récolte et du stade de développement de la

plante **(Locatelli et al, 2010).** En plus la méthode de quantification peut également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux et les flavonoïdes **(LEE et al. 2003).**

Des études récentes ont souligné l'importance de prendre en compte ces facteurs dans l'évaluation et l'optimisation des processus d'extraction pour obtenir des extraits riches en polyphénols et flavonoïdes **(Aktumsek et al. 2013**).

V.3 Evaluation de l'activité biologique de l'extrait végétal

Tous les tests biologiques sont réalisés sur l'extrait de 24 heures.

V.3.1 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire in vitro de l'extrait, deux tests sont réalisés : le test de stabilisation membranaire des globules rouges et le test d'hémolyse.

- **Evaluation de l'activité hémolytique (la toxicité des extraits vis- à- vis des globules rouges)**

Certaines plantes utilisées à visée thérapeutique peuvent présenter une menace pour la santé de l'homme. Il est donc nécessaire d'effectuer un test hémolytique, qui un indicateur de cytotoxicité **(Haddouchi et al. 2016).**

Les résultats des tests d'hémolyse de l'extrait préparé dans notre travail et de l'acide gallique sont illustrés dans la **figure V.4**.

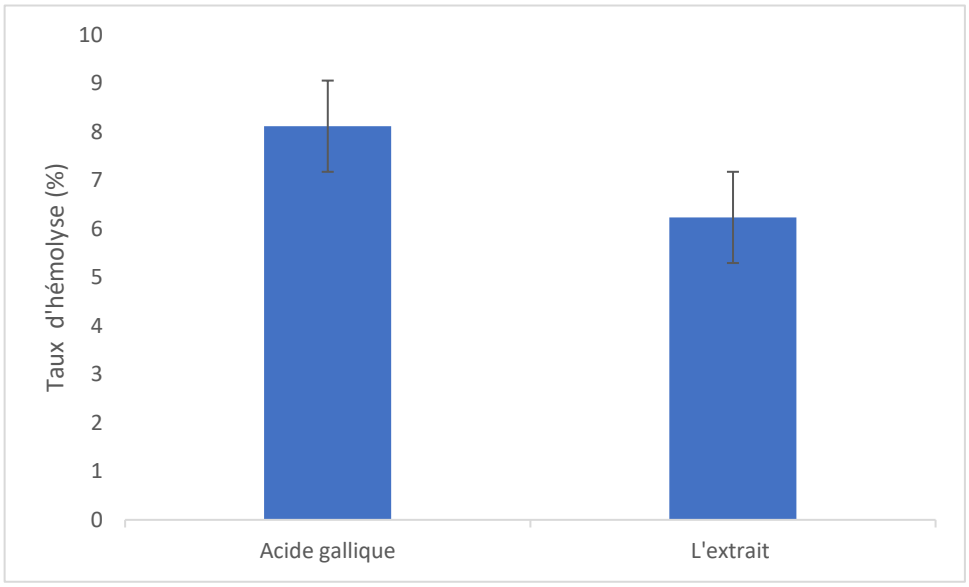


Figure V.4 : Effet hémolytique de l'extraite de la plante médicinale.

Le taux d'hémolyse obtenu dans notre étude nettement inférieure au taux d'hémolyse provoqué par l'acide gallique (8,11%), qui est de l'ordre de 6,36%. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **(Haddouchi et al, 2016),** qui ont étudié le pouvoir hémolytique de plantes sahariennes algériennes telles qu'Asteriscus graveolens et Piturants scoparius. Des résultats similaires ont été observés par (**Ganesh et, al 2013**) lors de leurs travaux sur la plante Mimusops eleng.

- **Evaluation de l'effet de' extrait sur la stabilisation de la membrane des globules rouges**

Le test de stabilité de la membrane est basé sur la découverte qu'un certain nombre d'agents anti-inflammatoires non stéroïdiens inhiber la lyse des érythrocytes induite par la chaleur, probablement en stabilisant la membrane de la cellule. La membrane érythrocytaire peut être considéré comme un modèle de la membrane lysosomale qui joue un rôle important dans l'inflammation. Les composés qui empêchent la lyse de la membrane provoquée par la libération des enzymes hydrolytiques contenues dans les lysosomes peuvent soulager certains symptômes de l'inflammation. Lorsque le GR humain est soumis à une hypotonie le stress, la libération d'hémoglobine par les globules rouges, sera prévenue par les anti-inflammatoires en raison de la stabilisation membranaire.

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'extrait de notre plante un test de stabilisation membranaire de globules rouges humains a été réalisé. Ce test consiste à incuber une suspension de globules rouges humains, traitée avec une solution hypotonique associée à une température élevée, avec les extraits ou la molécule de référence (le diclofénac comme anti-inflammatoire). Les résultats sont représentés dans la **figure V.5**.

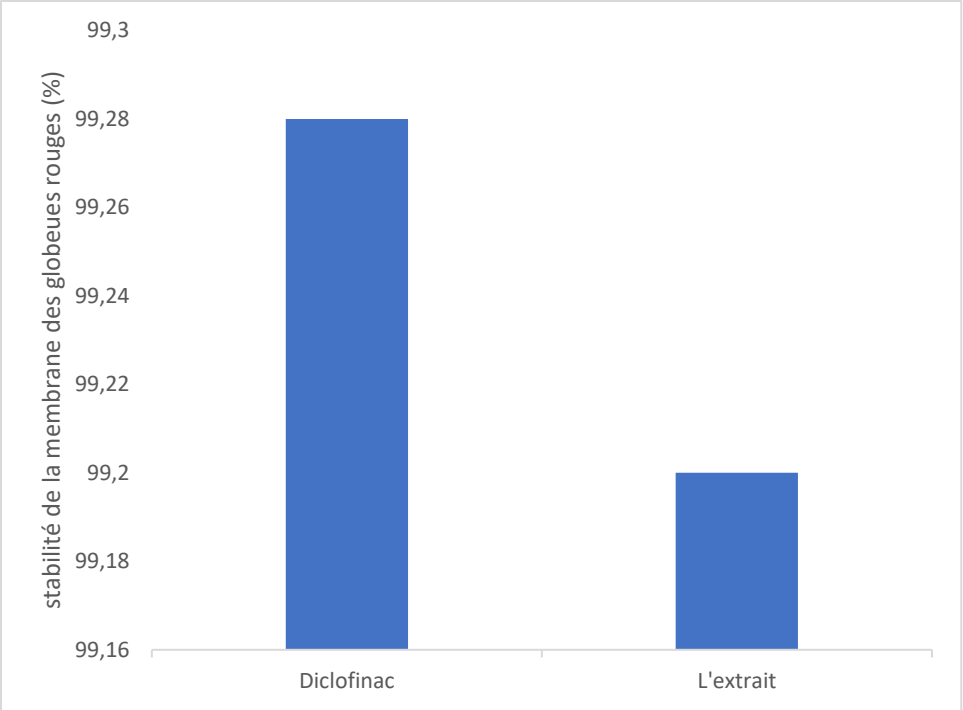


Figure V.5 : Résultats de l'effet de l'extrait de et le diclofénac de potassium sur la stabilité de la membrane des GR.

La stabilisation de la membrane des globules rouges a été utilisée comme méthode pour étudier l'activité anti-inflammatoire In- vitro parce que la membrane érythrocytaire est analogue à la membrane lysosomale **(Qamar, Akhtar et al, 2021)**. Les lysosomes sont des organites cellulaires, présents dans le cytosol de toutes les cellules eucaryotes animales à l'exception des hématies. Ils ont pour fonction d'effectuer la digestion intracellulaire grâce à une quarantaine d'enzymes (lipases, protéases, nucléases, glycosidases, phosphatases, sulfatases), dont le relargage est impliqué dans le processus inflammatoire. Vu les similitudes existantes entre la membrane érythrocytaire et la membrane lysosomale, l'effet de l'extrait sur la stabilisation des hématies pourrait être extrapolé à la stabilisation de la membrane lysosomale. Cette stabilisation est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération des constituants lysosomaux **(Alqahtani, Aleanizy et al. 2019).**

Les résultats obtenus montrent que l'extrait présente une stabilisation très hautement significative de la membrane des globules rouges avec un pourcentage de stabilisation de 99,20%. C'est-à-dire que l'extrait a donné un effet plus important par rapport à la molécule de référence le diclofénac.

D'après **(Gershfeld et Murayama ,1988)** les érythrocytes exposés à des températures relativement élevées, se déforment progressivement pour devenir sphériques. Ainsi la

perturbation de leurs membranes diminue leur capacité à résister à l'hémolyse. L'effet protecteur contre la lyse érythrocytaire induite par la chaleur peut s'expliquer par l'interaction de l'extrait végétal avec les protéines membranaires inhibant ainsi leur dénaturation **(Lepock et al. 1989).** De plus, les polyphénols retarderaient la solubilisation et inhiberaient l'oxydation de la trame lipidique.

Selon **(Vidhya et al, 2016),** l'activité anti-hémolytique des extraits végétaux serait probablement due à leur effet inhibiteur sur les enzymes impliquées dans la production des médiateurs chimiques de l'inflammation ainsi que sur le métabolisme de l'acide arachidonique. Certains polyphénols se fixent sur les protéines membranaires induisant un changement de leur conformation **(Chaudhuri et al, 2007).** D'autres se lient à la PLA2 par des interactions hydrophobes avec trois acides aminés du site actif de l'enzyme (**Da Silva et al, 2008)**

V.3.2 L'activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait a été étudiée vis-à- vis 5 souches bactériennes de référence. Les résultats sont présentés dans le **tableau V.1**. Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries fournies par le laboratoire de Microbiologie de l'Institut de Saidal.

L'activité antibactérienne des extraits, a été estimée selon le **tableau IV.3 (voire chapitre IV)**. En utilisant les souches suivantes : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Salmonella* ATCC14028.

Tableau V.1 : Les résultats des tests antimicrobiens.

	Les souches bactériennes	**Activité Antimicrobienne**
Gram (+)	*Staphylococcus aureus*	++
	Bacillus subtilis	+
Gram (-)	*Escherichia coli*	++
	Pseudomonas aeruginosa	+
	Salmonella	-

+++ : forte ++ : moyenne + : faible - : nulle

Les résultats de l'activité antibactérienne obtenue in vitro à l'aide de la méthode diffusion sur gélose montrent que l'activité antibactérienne de l'extrait varie en fonction des bactéries testées (les souches Gram positives et les souches Gram négatives).

Le résultat des tests d'activités antibactériennes montre que l'extrait des parties aériennes de la plante étudier possède une activité antibactériennes importante vis-à-vis certaine souches (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli*) et faible vis-à-vis *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'extrait ne montre aucune inhibition cotre *salmonella*, soulignant une absence d'effet antibactérien contre cette souche spécifique. Ces résultats suggèrent que l'extrait possède un potentiel antibactérien notable, avec une variation de l'efficacité selon les souches bactériennes.

V.3.3 Activité anti-oxydant

Il existe plusieurs méthodes utilisées pour déterminer l'activité antioxydante d'un échantillon. Dans cette étude, les propriétés antioxydantes de l'extrait, a été déterminée par la méthode de Le piégeage du radical libre DPPH.

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir anti-radicalaire d'un antioxydant pur, ou d'un extrait antioxydant. La solution méthanoïque du DPPH de couleur mauve-foncé est caractérisée par son spectre UV présentant un maximum d'absorbance à 517 nm. Sous l'action d'un antioxydant AOH qui le réduit en DPPHH, sa couleur change et devient jaune **(Noureddine et al. 2015).**

La CI50 (Concentration inhibitrice à 50 %) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % du radical libre. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées. La CI50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé. Plus la valeur de la CI50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande **(Bentabet et al. 2014).**

Le résultat du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait est illustré dans le **tableau V.2**.

Tableau V.2 : Résultat du test antioxydant exprimant la concentration efficace 50% en mg/ml.

	L'extrait	Acide ascorbique
IC50 ± Ecart type	2,87± 0,014	0,1325± 0,010

Nos résultats indiquent que notre plante présente un pouvoir antioxydant significatif pour le piégeage du radical DPPH, avec une concentration IC50 de 2,87 ± 0,014 mg/mL. Ce pouvoir est comparable à celui de l'acide ascorbique, dont l'IC50 est de 0,1325 ± 0,010 mg/ml.

Les polyphénols contenus dans nos extraits sont probablement responsables de l'activité antioxydant.

La complexité de la composition de l'extrait en substances phénoliques et la synergie entre elles sont à l'origine d'une meilleure activité antioxydant **(Miguel, 2010**).

A travers la recherche bibliographique, de très grandes différences de points de vue sont notées à propos de cette corrélation. Certains travaux ont montré une bonne corrélation entre les CI50 et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes, à l'opposé d'autre études n'ont pas établie cette corrélation **(Athamena et al. 2010 ; Mariod et al. 2010).** Par ailleurs, il est bien établi que l'activité antioxydant est corrélée positivement avec la structure des polyphénols.

Généralement, les polyphénols avec un nombre élevé du groupements hydroxyles présentent l'activité antioxydant la plus élevée **(Heim et al., 2002)** due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres **(Torres de pinedo et al., 2007**), ce qui peut expliquer en partie que l'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituant sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, metaxylés, glycosylés) et le degré de polymérisation **(Popovici et al., 2010**). Ainsi, l'effet antioxydant n'est pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant **(Rodriguez-Bernaldo et al. 2010).**

V.4 La toxicité orale aiguë

En tenant compte des applications ethnobotaniques et pharmacologiques de notre plante, le but de cette étude était d'évaluer les effets toxiques potentiels des parties aériennes de la plante chez les souris. D'après les résultats de cette étude, il est possible de conclure que

l'extrait de la plante est pratiquement non toxique pour les souris après administration orale. Aucun comportement anormal ni décès n'a été observé chez les animaux traités, et aucun symptôme de toxicité n'a été détecté pendant la période d'étude de 14 jours. De plus, aucun changement de l'aspect général des souris (pilosité, peau, état des yeux, des oreilles et de la bouche) n'a été noté. Les animaux n'ont présenté ni diarrhée, ni mouvements non coordonnés, ni détresses respiratoires durant la période d'observation. Tous les animaux ont survécu aux 14 jours d'observation, ce qui indique que la DL50 de l'extrait est supérieure à 2000 mg/kg de poids corporel. Cela soutient l'utilisation des parties aériennes dans les systèmes de médecine traditionnelle. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer les toxicités à long terme.

La présente étude fournit des informations précieuses sur les profils de toxicité aiguë de l'utilisation orale de l'extrait des parties aériennes de la plante. Ces données sont essentielles pour le développement de notre complément alimentaire.

L'évaluation de l'action toxique des extraits végétaux doit donc veiller à l'innocuité des plantes médicinales mais sa position ne doit pas être seulement négative et réglementaire, bien au contraire, elle doit aider aussi à l'innovation, au choix des plantes médicinales à des doses bénéfiques. En définitive, elle doit apporter à la phytothérapie et à la consommation des plantes une certaine garantie et une certaine caution. L'évaluation de la sécurité d'une substance peut être appréciée soit par l'étude de sa toxicité aigüe après administration d'une dose unique ou bien par l'étude de sa toxicité chronique après administration répétée de la substance. Cependant, l'étude de la toxicité aigüe reste le jalon indispensable dans toute étude toxicologique **(Lalitha et al. 2012 ; Nguta et al.2012).**

V.5 Préparation et caractérisation physicochimique de sirop simple

A la fin de notre travail, on voulait faire une petite formulation pharmaceutique pour montrer la possibilité de faire une préparation telle qu'un sirop simple. Cette formulation a été réalisée au niveau du laboratoire SM de la faculté des sciences. Le résultat obtenu est présenté dans la **figure V.6**



FigureV.6 : Le sirop préparé dans la présente étude (Photo Original).

✓ **Contrôle organoleptique et physico-chimique**

Tableau V.3 : Résultats des contrôles organoleptiques et physicochimique.

N	Paramètres	Résultats
1	Couleur	Vert
2	Odeur	Fraîche agréable
3	Goût	Sucré, peu rafraîchissant
4	PH	6,8
5	Densité	1,18
6	Viscosité	213,8 mPas
7	Limpidité	Bonne
8	Cristallisation	Absence
9	Verrouillage du flacon	Non confirmé

Pour les essaies d'efficacité de sirop, nous voulions le faire in- vivo sur des souris. Mais la fin de la période de stage nous en a empêchés.

Conclusion

Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers les traitements par les plantes médicinales.

L'objectif de cette étude visait à quantifier les phénols totaux et les flavonoïdes, et à évaluer les activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire) de l'extrait d'une plante médicinale. Les résultats ont démontré que l'extraction effectuée sur une période de 24 heures était optimale, offrant un rendement satisfaisant avec des taux élevés de polyphénols et de flavonoïdes avec une teneur de57,57±6,09 µg E AG/mg d'extrait et 15,27±3,55 EQ/mg d'extrait respectivement. En revanche, des durées d'extraction plus longues ont entraîné une diminution des concentrations de ces composés en raison de leur oxydation.

L'évaluation de l'activité hémolytique, considérée comme un indicateur de cytotoxicité, a montré que l'extrait présent un taux d'hémolyse très faible (6,36%). Ce résultat démontre que la plante étudiée n'est pas toxique, car elle n'entraîne qu'une faible destruction des globules rouges. Ces données confirment ainsi la sécurité d'utilisation l'extrait de cette plante dans le cadre d'applications potentielles en santé et soulignent leur profil favorable en termes de toxicité.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire In-vitro, de l'extrait végétal préparé, par la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges a montré que l'extrait préparé, permette une haute stabilisation de ces membranes. Avec un pourcentage de stabilité de 99,20%ce résultat est similaire à ceux obtenu par le diclofénac de potassium.

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait prépare a montré que l'extrait de la plante a une activité contre la plupart des souches testées. Les potentialités antioxydants de l'extrait a évalué par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, où l'extrait a manifesté un bon pouvoir avec un IC50 de 2,87±0,014 mg/ml. D'autre part, la toxicité aigüe par voie orale de l'extrait de la plante (parties aériennes) évaluée sur les souris a montré que cet extrait n'induise aucun effet toxique à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel.

Conclusion

A la fin, nous avons formulé un complément alimentaire à base des extraits de la plante. Cependant, en raison de contraintes de temps et de ressources, nous n'avons pas pu évaluer son efficacité.

Pour les perspectives futures, nous proposons :

- Étudier l'effet synergique ou antagoniste entre l'extrait, afin d'explorer les interactions potentielles et d'optimiser la formulation du complément alimentaire.
- Réaliser une étude de toxicité chronique sur une modèle animale.
- Elargir l'étude du spectre des activités biologiques testées de la plante.
- Procéder à la séparation et à la caractérisation des différentes substances présentes dans cet extrait, afin d'identifier les composés actifs responsables des activités biologiques observées.

Référence Bibliographique

-(A)-

Achat, **S**. (**2013**). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. universite Avignon ; Université Abderrahmane Mira - Bejaïa (Bejaïa, Algérie).

Aissani, **F**. (**2022**). Caractérisation Phytochimique,valorisation Biologique Et Toxicologique Des Différents Extraits D'une Espèce Algérienne Sonchus Oleraceus L. [Thèse de Doctorat, Université 8 Mai 1945 - Guelma].

Ait Abed, S. et Guenineche, F. et Mellekahloul, A. (2020). Contrôle De Qualité Physico-chimique, Microbiologique Et Toxicologique D'un Antibiotique Primazol® (sulfaméthoxazole 400mg Et Triméthoprime 80mg) [Mémoire de Master, Université Saad Dahleb - Blida].

Aktumsek, A. Zengin, G. Guler, G. O.Cakmak, Y.S. & Duran, A. (2013). Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic Centaurea L. species. Food and Chemical Toxicology, 55, 290-296

Akula, **R**., **et Ravishankar**, **G**. **A**. (**2011**). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant signaling etbehavior, 6(11), 1720-1731.

Al-Farsi, M. A., & Lee, C. Y. (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. Food chemistry, 108(3), 977-985.

Amel Bouzabata,Décembre (2016). RHB : à qui incombe la responsabilité ? faculté de médecine, université Badji-Mokhtar, Annaba.

Athamena, **S**. (**2021**). Etude De L'activite Biologique De Juniperus Thurifera Et Fraxinus Xanthoxyloides [Thèse de Doctorat, Université Mustapha Ben Boulaid - Batna 2].

Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010). Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de cuminum cyminum L. Lebanese science journal, 11 (1), 69 – 81.

-(B)-

Back, **K**., **& Chappell**, **J**. (**1996**). Identifying functional domains within terpene cyclases using a domain-swapping strategy. Proceedings of the National Academy of Sciences, 93(13), 6841-6845

Béguel, **J**. **P.** (**2012**). Étude de la capacité anti-oxydante en lien avec la reproduction chez l'huître creuse Crassostrea gigas (Doctoral dissertation, Brest).

Belhadj-tahar, **S**. (**2018**). Caractérisation Structurale De Quelques Métabolites Secondaires Issus De Quelques Plantes De La Famille 'amarantaceaes ' Du Sahara Septentrional. [Thèse de Doctorat, Université KasdiMerbah - Ouergla].

Belmokhtar, Z. (2015). Identification et caractérisation des molécules du métabolisme secondaire de Retama monosperma. L Boiss, intérêt pharmaceutique [these de doctorat, Université d'Oran].

Benabdelkader, T. (2012). Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, Lavandula stoechas sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique (Doctoral dissertation, Université Jean Monnet-Saint-Etienne ; Ecole normale supérieure de Kouba (Alger)).

Benbouguerra, N. (2020). Évolutions structurales et propriétés biologiques des polyphénols au cours de la maturation des baies de vitisvinifera (Doctoral dissertation, Université Montpellier).

Benhamza, L., (2008). Effets biologiques de la petite centaurée Erythraeacentaurium (L.) Pers. [Thèse de Doctorat, Université Mentouri de constantine - constantine].

Bensalek, F. E. (2018). L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des troubles fonctionnels intestinaux dans le contexte marocain

Bensekrane, B. (2015). Evaluation De L'action Des Plantes Médicinales Sur La Cristallisation Des Phosphates : Intérêt Pour La Phytothérapie [Thèse de Doctorat, Université DjillaliLiabès - Sidi Bel Abbès].

Bentabet, N, Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de Fredolia aretioides de la région de Béchar en Algérie. researchGate, 1-8.

Berreghioua A, (2016). Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deuxbrassicaceaemedicinales du sud algerien : moricandiaarvensis et zillamacroptera. Thèse de Doctorat, université de Tlemcen.

Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'INRA, In : Numéro spécial, 79-82.

Boudjouref, M. (2020). Activités Antioxydante Et Anti-inflammatoire Des Extraits D'artemisia Campestris [Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas - Sétif 1].

Bouhaous, L. (2022). Etude Ethnobotanique, Phytochimique Et Activités Biologiques De Quelques Plantes Utilisées Contre Le Cancer Dans La Phytothérapie Traditionnelle En Algérie. [Thèse de Doctorat, Université Ibn Khaldoun - Tiaret].

Boukherouba, Ibrahim et bouzaroura, Baha Eddine, L. (2022). Diversité Des Plantes Médicinales Aux Niveaux Des Marchés Dans Le Nord-est De L'algérie : Intérêt Economique Et Thérapeutique [Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 - Guelma].

Boukli, H. (2020). Les Compléments Alimentaires : État De Connaissance Et Consommation En Période Du Covid-19 Dans La Wilaya De Tlemcen [Autre, Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen].

Boumerfeg S, Baghiani A, Messaoudi D, Khennouf S and Arrar L. (2009). Antioxidant properties and Xanthine Oxidase Inhibitory Effects of Tamus communis L. Root.

Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Benmansour, D., Khaled, M. B., Bouterfas, M., & Latreche, A. (2014). Optimization of extraction conditions of some phenolic compounds from white horehound (Marrubium vulgare L.) leaves. International Journal of Organic Chemistry, 4(05), 292

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology, 28(1), 25-30.

-(C)-

Cadet, E. (2017). Etude phytochimique et emplois de plantes veinotoniques (Doctoral dissertation, Université de Lorraine)

Chaachouay, N., Douira, A., Hassikou, R., Brhadda, N., Dahmani, J., Belahbib, N., ... & Zidane, L. (2020). Etude floristique et ethnomédicinale des plantes aromatiques et

médicinales dans le Rif (Nord du Maroc) (Doctoral dissertation, Département de Biologie-Université Ibn Tofail-Kénitra).

Chabrier, **J**. **Y**. (**2010**). Plantes médicinales et fromes d'utilisation en phytothérapie tothérapie .

Chang, C., Yang, M., Wen, H. et Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Analaysis 10 : 178-182.

Charai, I. (2022). Les compléments alimentaires : usage ; mésusage et conseil du pharmacien.

Chaudhuri, S., A. Banerjee, et al. (2007). "Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic effects." International journal of biological macromolecules 41(1): 42-48.

Chennouf, **L.et Saadani**, **K**. (**2020**). Evalution De L'effet Du Stockage Sur L'activité Biologique D'une Plante Médicinale Saharienne [Mémoire de Master, Université Hamma Lakhdar - Eloued].

Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W., et Lin, Y. (1998). Tannins and humanhealth : areview. Critical reviews in food science and nutrition, 38(6), 421-464.

Crépin IBINGOU DIBALA, (2017). Composés phénoliques et propriétés biologiques de deux de la pharmacopée traditionnelle utilisées cotre les toxi-infections alimentaires au Burkina Faso. Thèse de doctorat, Université Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO, BURKINA FASO

-(D)-

Da Silva, S. L., A. K. Calgarotto, et al. (2008). "Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from Casearia sylvestris SW aqueous extract with anti-PLA2 activity." Toxicon52 (6): 655-666.

Denine, R. (2008). Cours de Pharmacie galénique office des publications universitaires.

Donatien, K. (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes : extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Biologie végétale. Université Paul Verlaine - Metz,

Douaouri, N. (2019). Contribution À Une Étude Phytothérapeutique, Anti-inflammatoire Et Anti]. Oxydante Du Grenadier (punica Granatum L.) – Etude In Vivo [Thèse de Doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem

Druckerei C.H. (2017). Beck Pharmacopée Européenne Européen directorat for the quality of medicines and healthcare édition française 9.2.

-(E)-

El Mtiai, **W**. (**2023**). Les formes d'utilisation des plantes médicinales. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Mohammed Vde rabat MAROC.

Elmouloud, B. (2016). Extraction Des Polyphénols Et Étude Des Activités Antioxydante Et Antibactérienne De Quelques Plantes Sahariennes [Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar - Annaba].

Emeraux, E. (2019). Propriétés biologiques des flavonoïdes : étude bibliographique et évaluation de l'activité anti-oxydante (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

-(F)-

Fedoul, F. (2022). Étude Ethnobotanique, Et Évaluation Des Activités Biologiques Et Anti oxydante Des Extraits Et D'huiles Essentielles Des Plantes Sélectionnées De La Région Ouest D'algérie : Formulation Galénique Et Applications. [Thèse de Doctorat, Université Mustapha Stambouli - Mascara].

Fellah, O. (2018). Effet Des Facteurs Environnementaux Sur La Variation De Quelques Métabolites Secondaires Dans Deux Espèces Médicinales : Tamarix Gallica L. (tamaricaceae) Et Rosmarinus Officinalis L. (lamiaceae) [Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar - Annaba].

Fethi Djebbar, (**2021**). Les troubles digestifs chez les enfants : utilisation de la phytothérapie et des compléments alimentaires. Sciences du Vivant.

Fettah, A. (2019). Étude Phytochimique Et Évaluation De L'activité Biologique (antioxydante - Antibactérienne) Des Extraits De La Plante TeucriumPolium L. Sous Espèce Thymoïdes De La Région Beni Souik, Biskra [Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider – Biskra.

-(G)-

Ganesh G, Saurabh M, Sarada N.C. (2013). Antioxidant and Anti- inflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant Mimusops elengi L. Pharm. Sci. & Res. Vol.5 (6). p : 125 – 130.

Genevey, L., & Schutz, C. (2009). Législation du complément alimentaire et Etude des compositions de deux types de compléments alimentaires. Université de Grenoble.

Gershfeld, N. L. and M. Murayama (1988). "Thermal instability of red blood cell membrane bilayers: temperature dependence of hemolysis." The Journal of membrane biology 101: 67-72.

Ghedadba, N. (2018). Contribution À L'étude De L'activité Biologique Des Deux Espèces De Marrubium Vulgare L Et Marrubium Deserti De Noé In Vitro Et In Vivo. [Thèse de Doctorat, Université Mustapha Ben Boulaid - Batna 2].

Ghnimi, W. (2015). Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae : Ricinuscommunis et Jatropha curcas. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Université de Lorrain. Français.

Goudjil, M. (2017). Composition Chimique, Activité Antimicrobienne Et Anti-oxydante De Trois Plantes Aromatiques. [Thèse de Doctorat, Université Kasdi Merbah - Ouergla].

Gurfa, R. Boulazrag, N.2020. Contrôle qualité physico-chimique et microbiologique d'un produit pharmaceutique non obligatoirement stérile sous forme d'un gel KETOPROFENE LDM® 2.5%. [Mémoire de Master. Université Frères Mentouri Constantine 1].

-(H)-

Haddouchi. F, Chaouch. T. M, Halla. N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. Phytothérapie.

Hammoudi, R. (2015). Activités Biologiques De Quelques Métabolites Secondaires Extraits De Quelques Plantes Médicinales Du Sahara Méridional Algérien< [Thèse de Doctorat, Université Kasdi Merbah - Ouergla].

Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. (2008). Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. Earth, Environmental and Marine Sciences and Technologies.

Heim, E. K., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoïds antioxydants: chemistry; metabolism and structure-activity relationships. The journal of Nutritional Biochemistry, 13, 572 – 584.

Herzi, N. (2013). Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO2-supercritique et des techniques conventionnelles (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse-INPT ; École nationale d'ingénieurs de Gabès (Tunisie).

Houda Tamimy, 2021). Place des plantes médicinales dans les compléments alimentaires : ambiguïtés, limites et risques. Sciences pharmaceutiques.

-(I)-

Iserin P, (**2001)**. Larousse encyclopédie des plantes médicinales, Paris. 335P.

-(J)-

Jamel Fatima Zohra. (2016). La consommation des compléments alimentaires au maroc.Université Mohammed V-Rabat. Faculté de médecine et de pharmacie.

Jamshidi-Kia, **F**., **Lorigooini**, **Z**., &**Amini-Khoei**, **H**. (**2017**). Medicinal plants: Past history and future perspective. Journal of herbmed pharmacology, 7(1), 1-7.

Jandi, **M**. (**2017**). Plantes médicinales en dermatologie et en cosmétologie : enquête auprès des herboristes de la région de Béni Mellal. Doctorat en médecine, Faculté de médecine, Université Cadi Ayyed. P, 2.

-(K)-

Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., et He, X. (2014). Plant secondarymetabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacologicalproperties. J. Pharm. Pharmacol, 2(7), 377-392.

Kada, S. (2018). Recherche D'extraits De Plantes Médicinales Doués D'activités Biologiques [Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas - Sétif 1].

Kevin, L.Y.W., Hussin, A.H., Zhari, I., Chin, J.H., (2012). Sub-acute oral toxicity study of methanol leaves extract of Catharanthus roseus in rats. J. Acute Dis. 38–41.

KHALED-KHODJA, Nabyla, BOULEKBACHE-MAKHLOUF, Lila, et MADANI, Khodir (2014). Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. Industrial crops and products , vol. 61, p. 41-48

Khalfaoui,Y. (2018). Le profil des consommateurs de compléments alimentaires au Maroc.

Kontogiorgis, C., Detsi, A., &Hadjipavlou-Litina, D. (2012). Coumarin-baseddrugs:a patent review (2008–present). Expert opinion on therapeutic patents, 22(4), 437-454.

Koudou, P.J, (2009). Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Anti-oxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines. Ph.D. Dissertation, Université d'Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso.

Krief S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, [thèse de Doctorat, muséum national d'histoire naturelle. Pp : 32-17].

-(L)-

Lalitha, P., Sripathi, S.K., Jayanthi, P., (2012). Cute Toxicity Study Of Extracts Of Eichhornia Crassipes (Mart.) Solms. Asian J. Pharm. Clin. Res. 5, 24–26

Latreche Douar, **S**. (**2019**). Effet De L'addition De Thymol Ou De Carvacrol Sur L'activité Biologique Des Huiles Essentielles De JunipersusPhoenicea Et D'ammoides Atlantica Et De L'effet De L'irradiation Gamma Sur La Composition Chimique Et L'activité Anti-oxydante D'extraits De Thymus Algeriensis [Thèse de Doctorat, École Nationale Superieure Agronomique - Alger].

Lee KW., Kim YJ, Lee HJ. LEE CY. (2003). Cocoa Has More Phenolic,Phytochimicals and a Higher Antioxydant Capacity than Theas and Red Wine. Journal of Agriculture and Food Chemistry. Vol. (3): 7292-7295.

Lepock, J. R., H. E. Frey, et al. (1989). "Relationship of hyperthermia-induced hemolysis of human erythrocytes to the thermal denaturation of membrane proteins." Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes980(2) : 191-201.

Limonier, **A**. **S**. (**2018**). La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie.

LOUIS, S. (2004). Diversité structurale et d'activité biologique des Albumines sentomotoxiques de type 1b des légumineuses. Thèse de doctorat. Lyon, France

Loukhaoukha, R. (2019). Extraction, Identification Et Caracterisation De Quelques Metabolites Secondaires De Lavandula Stoechas L. Et Effets Biologiques [Thèse de Doctorat, Université Saad Dahleb - Blida].

-(M)-

Macheix, J. J., Fleuriet, A., et Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.

Mahdi, B, (2018). Étude de métabolites secondaires et quelques activités de plantes algériennes de la famille Zygophyllaceae (Doctoral dissertation, université kasdi merbah ouargla) .238p

Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N., (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.). Revue Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques. Volume 09 : 35 – 40.

Mariod, A. A., Ramlah, M. I., Maznah, I., & Norsharina, I. (2010). Antioxydant activities of phenolic rich fraction (PRFs) obtained from black mahlab Monechma ciliatum and white mahlab Prunus mahaleb seedcakes. Food Chemistry, 118, 120 – 127.

Messaoudi, Darragi. (2005). Élaboration d'un processus de fiabilité des équipements :application à l'espacement des arrêts planifiés. Mémoire. Trois-Rivières, Université du Québec à Trois-Rivières, p205.

Mohammedi, Z. (2013). Etude Phytochimique Et Activités Biologiques De Quelques Plantes Médicinales De La Région Nord Et Sud-Ouest De L'Algérie [Thèse de Doctorat, Université Abou BekrBelkaid - Tlemcen].

Moreira, M,A,Ponce et al (2005).inhibitory parameters og essential oils to reduce a food borne pathogen .LWT-Food science and technology 38 (5) :565 570.

Muanda, F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Université Paul Verlaine-Metz, 238.

-(N)-

Nguta, J.M., Mbaria, J.M., Gakuya, D.W., Gathumbi, P.K., Kabasa, J.D., Kiama, S.G., (2012).Evaluation of Acute Toxicity of Crude Plant Extracts from Kenyan Biodi- versity using Brine Shrimp, Artemia salina L. (Artemiidae). Open Conf. Proc. J. 3, 30–34.

Noureddine, A., Saidat, B., Bakchiche, B.,et Maatallah, M. (2015). Comparative study of antioxidant activity index by the tests of cerium and DPPH: Application on three local medicinal plants. Innovative Space of Scientific Research Journals, 13 (3), 681-690.

-(O)-

Organisation mondiale de la santé (**OMS**). Principes méthodologiques généraux pour

Othman, Z. (2012). Les compléments alimentaires et allégations de santé, cas particulier des Plantes : études du projet d'arrêté relatif à l'emploi de plantes autres que les champignons dans les compléments alimentaires (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Ouahchia, C. (2018). Extraction, Caractérisation Et Identification De Quelques Composés (Metabolites) Secondaires De Inula Viscosa (l'inule Visqueuse) Et Effets Thérapeutiques [Thèse de Doctorat, Université Saad Dahleb - Blida].

Ouedraogo, S., Yoda, J., Traore, T. K., Nitiema, M., Sombie, B. C., Diawara, H. Z., ... et Semde, R. (2021). Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 15(2), 750-77.

Ouldyerou k, Righi S., Meddah B. et Tir touil A., Bouhadi D.et Hariri A. (2018). Eude phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes antidiabétiques au niveau de la wilaya de mascara. Journal of Advanced Research in Science and Technology, 5(1), 670-679.

Ouled Cheikh Yahya, **T**. (**2021**). Evaluation De La Conformité des Tisanes Conditionnées Produites En Algérie (évaluation Qualitative Et Quantitative) [Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 - Guelma].

-(P)-

Pagliari, S., C. Cannavacciuolo, et al. (2022). "Valorisation, Green Extraction Development, and Metabolomic Analysis of Wild Artichoke By-Product Using Pressurised Liquid Extraction UPLC–HRMS and Multivariate Data Analysis." Molecules 27(21): 7157.

Papadopoulos Charlotte, (2021). Compléments alimentaires et vitalité sexuelle :la phytothérapie est-elle une alternative sure et efficace ?

Podsedek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. LWT. Vol. (40) :1-11.

Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowskib. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel, (4), 1– 8.

-(Q)-

Quyou,A. (2003). Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales. Exempled'utilisation pratique de cette base. Thèse de Doctorat Université Ibn Tofail Faculté desSci.Kénitra, Maroc. 110p

-(R)-

Rabiai, S. & Benyahia, B. & Benhamida, S. (2018). Reglementation En Vigueur Des Complements Alimentaires Et Des Plantes Medicinales En Algerie[Autre, Université Saad Dahleb - Blida].

Roberts, M. F. (Ed.). (2013). Alkaloids:biochemistry, ecology, and medicinal applications. Springer Science & Business Media.

Rodriguez-Bernaldo, A. Q. F. S., Frecha, P. A., Vidal., & Lopez, H. J. (2010). Antioxydant compounds in edible brown seweeds. European Food Research & Technology, 231 (3), 495 – 498.

Rota M.C, Herrera A, Martinez R.M, Sotomayor J.A, Jordan M.J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. Food control. 19. p : 681-687.

-(S)-

Saidi Maya, **K**. (**2022**). Contribution À L'étude Ethnobotanique Des Plantes Médicinales Utilisées De La Région De Guelma (est Algérien). [Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 - Guelma].

Santos-Buelga, C., Gonzalez-Manzano, S., Dueñas, M., & Gonzalez-Paramas, A. M. (2012). Extraction and isolation of phenolic compounds. Natural products isolation, 427-464.

Scalbert, A. (1991). Antimicrobialproperties of tannins. Phytochemistry, 30(12), 3875-3883.

Sofowora A. (**2010**). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Edition KARTHALA. p.22

Strang C., **Bat C**., (**2006**). Larousse médical. Paris : Éditions Larousse.

-(T)-

Tamimy,H .(2021). Place des plantes médicinales dans les compléments alimentaires : ambiguïtés, limites et risques. Sciences pharmaceutiques.

Torres De Pinedo, A., Pen alver, P., & Morales, J. C. (2007). Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: structure-activity relationship. Food Chem, 103, 55–61.

-(V)-

Valette, J. (2015). Les compléments alimentaires : définition, aspects réglementaires, cas pratiques : un médicament qui évolue en complément alimentaire (Doctoral dissertation, SCD de l'Université de Limoges).

Vandi, D., E. N. Nga, et al. (2016). "Contribution des populations des villes de Yaoundé et Douala à la connaissance des plantes à tanins et à anthocyanes." Journal of Animal &Plant Sciences30(3) : 4797-4814.

Velu, G., Palanichamy, V., et Rajan, A. P. (2018). Phytochemical and pharmacological importance of plant secondarymetabolites in modern medicine. Bioorganic phase in naturalfood: an overview, 135-156.

-(W)-

Wallace, H.M., (2011). Risk perception in toxicology-part II : Toxicology must be the solution not theproblem. Toxicol. Sci. 121, 7–10.

Warzecka, M. (2020). Les compléments alimentaires : quelle place dans la prise en charge du patient à l'officine ? (Doctoral dissertation).

WEHRLE, P. (2007). Pharmacie galénique : formulation et technologie Pharmaceutique.

Weill, B., et Batteux, F. (2003). Immunopathologie et réactionsinflammatoires. Bruxelles : De Boeck, p 12-32.

-(Y)-

Yahyaoui, **M**. (**2020**). Application des huiles essentielles dans le domaine des embalages alimentaires.

-(Z)-

Zakkad, F. (2016). Etude Phytochimique Et Évaluation De Quelques Propriétés Biologiques De Trois Espèces De L'euphorbia [Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar - Annaba].

Zhishen, J., T. Mengcheng, et al. (1999). "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals." Food chemistry 64(4) :555-559.

Ziani, B. (2017). Extraits De Douze Plantes Médicinales Poussant En Algérie : Etude Phytochimique, Activité Biologique Et Essai D'incorporation Des Extraits De Deux Plantes Dans Une Huile D'olive [Thèse de Doctorat, École Nationale Superieure Agronomique - Alger].

Annexes

Annexe 01

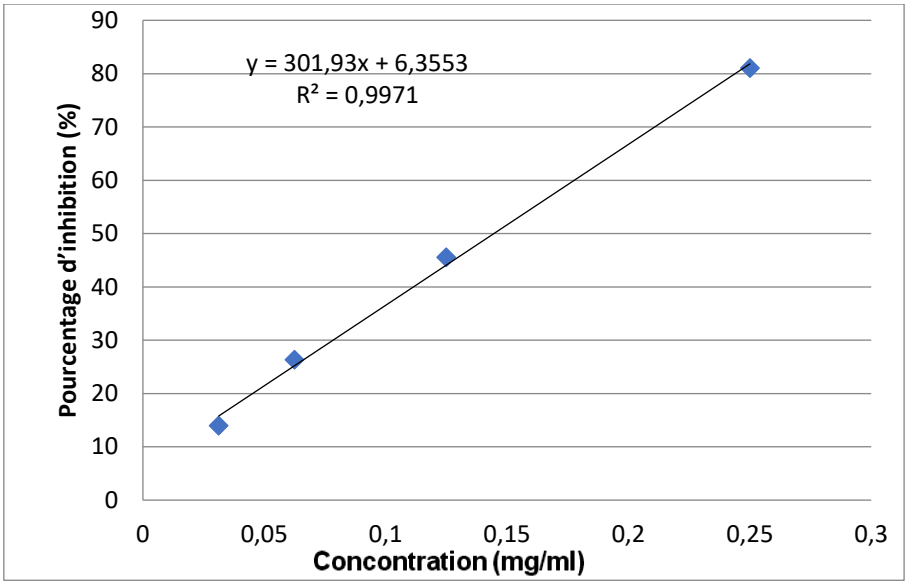


Figure1 : Courbe d'étalonnage d'anti-oxydant.

Annexe 02

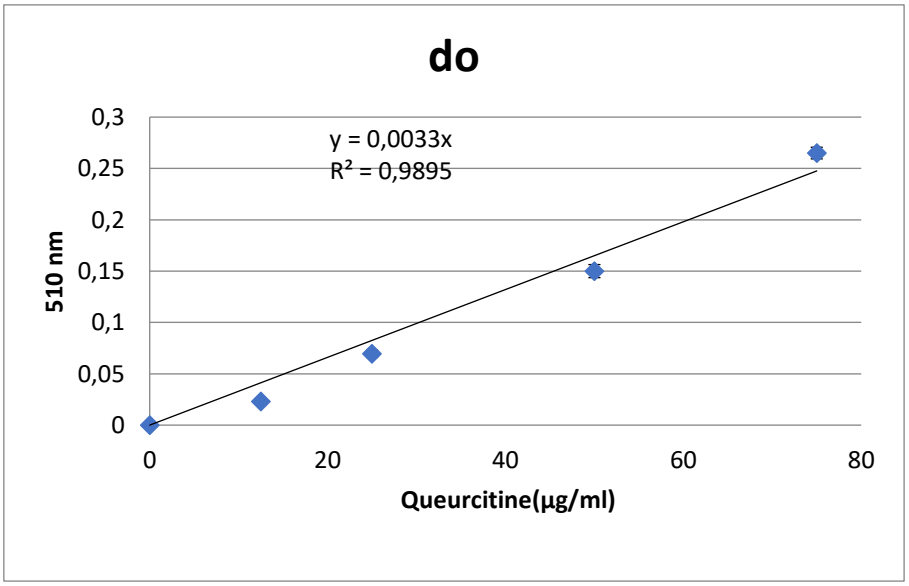


Figure 2: Courbe d'étalonnage de flavonoïde.

Annexe 03

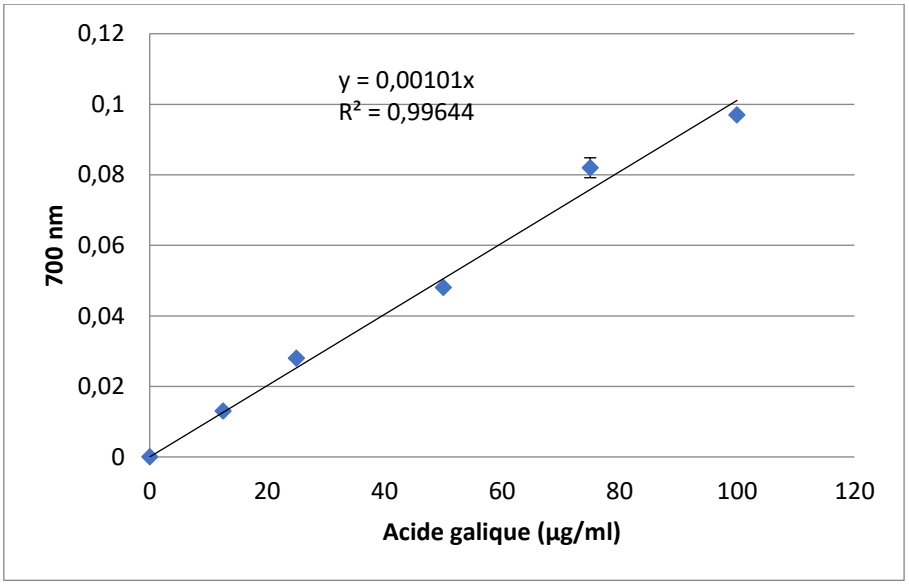


Figure 03: Courbe d'étalonnage de phénols totaux.