



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET  
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : de la Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de  
l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulé

---

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION  
BIOLOGIQUE DES EXTRAITS AQUEUX DE *Lawsonia  
inermis* ET DE *Juglans regia***

---

Présentées et soutenues par : Messaya Mayar  
Benamira Madina

Président: **Dr. BENAAMOUN L.**    Maitre de Conférences B    Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. UFM1  
Rapporteur: **Dr. MANSOUR H.**    Maitre de Conférences A    Institut des Sciences Vétérinaires. UFM1  
Examineur: **Dr. DJAALAB I.**    Maitre de Conférences A    Institut des Sciences Vétérinaires. UFM1

Année universitaire : 2020/2021

## *REMERCIEMENTS*

Tout d'abord, nos remerciements les plus sincères s'adressent à *ALLAH*, le tout-puissant, qui a fait de nous ce que nous sommes aujourd'hui et nous a donné le courage et la santé pour achever ce travail.

Nous exprimons toutes nos gratitude à notre encadreur Mme *DJAALAB MANSOUR HADRIA*, Maître de conférences A à l'institut des sciences vétérinaires El khroub pour les orientations, les encouragements et les fructueux conseils dans le suivi de ce travail.

Nous remercions très sincèrement Mme *BENNAMOUNE LEILA* Maître de conférences B à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie d'avoir acceptée de présider le jury de notre soutenance, ainsi que Mme *DJAALAB IMENE* Maître de conférences A à l'institut des sciences vétérinaires El khroub d'avoir examiné notre travail.

Nos remerciements vont également au Dr *SMADI Adnane* Chercheur vétérinaire et Chef du laboratoire de production animale (CRBT) pour les efforts qu'il a déployé pour nous lors de nos manipulations au sein de son laboratoire.

Nous remercions tous les ingénieurs des différents laboratoires du centre de recherche en biotechnologie *CRBT* qui nous ont aidés dans l'accomplissement de ce modeste travail.

Nos vifs remerciements vont à toute personne ayant contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

## *DEDICACES*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous mes parents **Boudjamaa** et **Nacima**.*

*Vous m'avez donné la meilleure éducation, vous m'avez toujours encouragé et motivé dans mes études. Ce travail est le fruit de vos sacrifices.*

*À ma deuxième maman **Souad** et ma cher **Leïla**, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices consentis durant mon enfance et même à l'âge adulte. Que dieu te protège et te garde en bonne santé.*

*À mes très chers sœurs : **Rym** et son mari **Rabie** et **Amani***

*À mon frère **Salah** et sa femme **Asma***

*À mon mari **Oussama***

*À mes petits **Metassim**, **Moatez**, **Elina***

*À mes très chères copines et amies : **Ikram**, **Rofeïda**, **Lamis**, **Rofeïda**, **Dounia***

*À mon binôme : **Mayar***

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mes pensées et mon affection fraternelles*

*A toute ma grande famille **BENAMIRA***

## *DEDICACES*

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous mes parents *BADEEDDINE* et *NEDJOUA*, vous m'avez donné la meilleure éducation, vous m'avez toujours encouragé et motivé dans mes études. Ce travail est le fruit de vos sacrifices.

À mes très chers frères : *Ysser* et *Hilel*

À ma sœur *Youssra* et son mari *cherif*

À mon mari *Hamza*

À *Firas* et *Assinette*

À mes très chères copines, amies : *Rofeida, Lamis, Rofeida, Dounia*

À mon binôme : *Madina*

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mes pensées et mon affection fraternelles

À toute ma grande famille *MESSAYA*

## LISTE DES ABREVIATIONS

**A<sub>0,5</sub>** : Concentration indiquant 0,50 d'absorbance

**ABTS** : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

**AcOEt** : Acétate d'éthyl

**°C** : Degré Celsius

**CI<sub>50</sub>** : Concentration d'inhibition à 50%

**DPPH** :  $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyl

**EQ** : Équivalent de la quercétine

**FCR** : Folin-Ciocalteu

**EAG** : Équivalent de l'acide gallique

**g**: Gramme

**H**: Heure

**MeOH** : Méthanol

**mg** : Milligramme

**min** : Minute

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

**SM** : Solution mère

**TFC** : Contenu total en flavonoïdes

**TPC** : Contenu total en polyphénols

**$\mu$ l** : Microlitre

**Pa** : Poids de ballon contenant l'extrait (g).

**Pv** : Poids de ballon Vide (g).

**Pa-Pv** : Poids de l'extrait sec (g).

**Pe** : Poids de l'échantillon (poudre végétale(g)).

**ABTS** :acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique

**FRAP** : pouvoir antioxydant réducteur ferrique

**Na** : Pas d'absorbance, Pas d'activité

**Sat** : Saturation

**CMI** : concentration minimale d'inhibition

## LISTE DES FIGURES

- Figure 01** : Feuilles de *Juglans regia*.
- Figure 02** : Fruits de *Juglans regia*.
- Figure 03** : Fleur mâle de noyer.
- Figure 04** : Fleur femelle de noyer
- Figure 05** : *Juglans regia*.
- Figure 06** : Fruit de noyer.
- Figure 07** : Feuille de *Juglans regia*.
- Figure 08** : Poudre et feuilles du henné
- Figure 09** : Aspect général du henné
- Figure 10** : Partie aérienne avec fruit
- Figure 11** : Arbuste de *Lawsonia inermis*
- Figure 12** : Répartition géographique des cultures de henné
- Figure 13** : Schéma de la transformation de la fleur fécondée en fruits.
- Figure 14** : Fruits de *Lawsonia inermis*
- Figure 15** : *Lawsonia inermis*, jeunes feuilles
- Figure 16** : Structure de base des classes les plus répandues des flavonoïdes
- Figure 17** : Structure de base des classes les plus répandues des coumarines
- Figure 18** : Structure chimique du noyau stérane des stéroïdes
- Figure 19** : Squelette de base des flavonoïdes
- Figure 20** : Structure de base des tanins condensés
- Figure 21** : Préparation du décocté aqueux
- Figure 22** : Filtration des extraits bruts
- Figure 23** : Séchage des extraits aqueux
- Figure 24** : Courbe d'étalonnage de la quercétine.
- Figure 25** : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique
- Figure 25** : Préparation d'une gamme de dilution d'extraits bruts
- Figure 27** : Isolements des souches bactériennes choisies
- Figure 28** : Préparation e l'inoculum
- Figure 29** : Préparation des milieux de culture

**Figure 30 :** Ensemencement des souches bactériennes choisies

**Figure 31 :** Plaque de dosage des flavonoïdes des extraits *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*

**Figure 32 :** Plaque de dosage des polyphénols (TPC) des extraits *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*

**Figure 33 :** Plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH) des extraits *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*

**Figure 34 :** Plaque de dosage du cation radical ABTS des extraits *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*.

**Figure 35 :** Plaque de dosage du pouvoir réducteur (FRAP) des extraits *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*.

**Figure 36 :** Plaque de dosage de réduction par la formation du complexe  $Fe^{+2}$  phénantroline des extraits de *Lawsonia inermis* et de *Juglans regia*.

**Figure 37 :** Plaque de dosage de l'acétylcholine estérase des extraits de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*.

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau 1 :** Les dilutions de la gamme d'étalon de la Quercétine.

**Tableau 2 :** Les dilutions de la gamme d'étalon de l'acide gallique.

**Tableau 3 :** Rendement des extraits des deux plantes.

**Tableau 4 :** Le contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes des extraits.

**Tableau 5 :** Valeurs des  $CI_{50}$  du test DPPH pour les extraits bruts

**Tableau 6 :** Valeurs des  $CI_{50}$  du test ABTS pour les extraits bruts

**Tableau 7 :** Valeurs des  $A_{0,5}$  du test FRAP pour les extraits bruts

**Tableau 8 :** Valeurs des  $A_{0,5}$  du test  $Fe^{+2}$  pour les extraits bruts

**Tableau 9 :** Valeurs des  $CI_{50}$  du test de l'acétylcholine estérase pour les extraits bruts



# TABLE DES MATIERES

Remerciements  
Dédicace  
Liste des abréviations  
Liste des figures  
Liste des tableaux  
Résumé

## INTRODUCTION

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE I : PLANTES MEDICINALES ETUDIEES

#### 1. Généralités sur «*Juglans regia*»

- 1.1. Historique
- 1.2. Description botanique
1. 3. Taxonomie
1. 4. Répartition géographique
- 1.5. Composition et valeur nutritionnelle de la noix
- 1.6. Utilisation populaire de *Juglans regia*
- 1.7. Composition chimique de *Juglans regia*
  - 1.7.1. Fruits
  - 1.7.2. Feuilles
- 1.8. Activité pharmacologique et effets thérapeutique de *Juglans Regia*

#### 2. Généralités sur «*Lawsonia inermis* »

- 2.1. Historique
2. 2. Distribution morphologique
- 2.3. Taxonomie
- 2.4. Répartition géographique
2. 5. Composition et valeur nutritionnelle des feuilles de *Lawsonia inermis*
- 2.6. Utilisation populaire de *Lawsonia inermis*
- 2.7. Composition chimique de *Lawsonia inermis*
  - 2.7.1. Fruits
  - 2.7.2. Feuilles

### CHAPITRE II : PHYTOTHERAPIE ET METABOLITES SECONDAIRES

#### 1. Phytothérapie

- 1.1. Définition
- 1.2. Les différentes thérapies à bases des plantes
  - 1.2.1. Aromathérapie
  - 1.2.2. L'herboristerie
  - 1.2.3. Pharmaceutique
  - 1.2.4. Pharmacopée
- 1.3. Les avantages de la phytothérapie

## **2. Métabolites secondaires**

- 2.1. Composés phénoliques
  - 2.1.1. Flavonoïdes
  - 2.1.2. Tanins
  - 2.1.3. Coumarines
- 2.2. Composés terpéniques
  - 2.2.1. Stéroïdes, stérols
  - 2.2.2. Huiles essentielles
- 2.3. Composés azotés
  - 2.3.1. Alcaloïdes

## **CHAPITRE III: ACTIVITES BIOLOGIQUES DE *LAWSONIA INERMIS* ET DE *JUGLANS REGIA***

### **1. Activités antioxydantes**

- 1.1. Définition de l'activité anti-oxydante
  - 1.1.1. Radicaux libre
  - 1.1.2. Stress oxydatif

### **2. Activités antibactériennes**

- 2.1. Définition de l'activité antibactérienne
- 2.2. Effet antibactérien
- 2.3. Métabolites secondaires responsables de l'activité antibactérienne
  - 2.3.1. Flavonoïdes
    - 2.3.1.1. Activité antibactérienne des flavonoïdes
  - 2.3.2. Tanins
    - 2.3.2.1. Activité antibactérienne des tanins
  - 2.3.3. Coumarine
    - 2.3.3.1. Activité antibactérienne des coumarines
- 2.4. Souches a utilisées
  - 2.4.1. Notion sur les espèces étudiées
  - 2.4.2. Bactérie Gram négatif
    - 2.4.2.1. *Escherichia coli*
  - 2.4.3. Bactérie Gram positif
    - 2.4.3.1. *Staphylocoques*
  - 2.4.4. Propriétés des souches étudiées

## **MATERIELS ET METHODES**

### **1. Matériel végétal**

- 1.1. Broyage et tamisage

### **2. Méthode d'extraction**

- 2.1. Macération et extraction
  - 2.1.1. Préparation du décocté aqueux

### **3. Activités biologiques de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia***

- 3.1. Détermination du contenu total en polyphénols et en flavonoïdes

- 3.1.1. Contenu total flavonoïque (TFC)
- 3.1.2. Contenu total phénolique (TPC)
- 3.2. Activité anti-oxydante
  - 3.2.1. Activité anti radicalaire au DPPH
  - 3.2.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS
  - 3.2.3. Pouvoir réducteur (FRAP) (Reducing power)
  - 3.2.4. Activité phénanthroline
  - 3.2.5. Activité de l'acétylcholine estérase
- 3.3. Activité antibactérienne
  - 3.3.1. Méthode

## **RESULTAT ET DISCUSSION**

### **1. Rendement**

### **2. Détermination du contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes**

- 2.1. Dosage des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu (FCR)
- 2.2. Dosage des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium

### **3. Les activités biologiques**

- 3.1. Activité anti-radicalaire au DPPH
- 3.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS
- 3.3. Activité du pouvoir réducteur FRAP
- 3.4. Activité de la réduction par la formation du complexe Fe +2 phénantroline
- 3.5. Activité de l'acétyl choline estérase

## **CONCLUSION**

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

# ***INTRODUCTION***

## INTRODUCTION

La valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays. Ainsi, depuis son assemblée générale, l'OMS recommande l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité des médicaments à base de plantes en vue de standardiser leur usage et les intégrer dans les systèmes de soins conventionnels **(OMS, 2000)**. Selon cette organisation, 80% de la population ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes sont d'une réelle efficacité **(Koul et Khair-Eddine, 2019)**.

Les plantes médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, en cosmétologie et en agriculture grâce à leur richesse en composés naturels bioactifs : les métabolites secondaires **(Bouhadjera, 2005 ; Boudjouref, 2011)**. Ces propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire de milliers de composés naturels bioactifs. Ainsi, les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, où environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de ces produits végétaux **(Chabbi, 2008)**.

Le stress oxydatif a été décrit réellement comme un facteur étiologique crucial impliqué dans diverses maladies chroniques humaines telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neuro dégénératives, le diabète et le vieillissement **(Uttara et al, 2009)**. Ces dommages oxydants sont réalisés par l'attaque des radicaux libres sur de divers biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, ayant finalement comme conséquence la dégradation et la mort des cellules **(Moon et al, 2009)**.

Plusieurs antioxydants synthétiques peuvent être inadéquats pour la consommation humaine chronique car les publications récentes ont mentionné leurs propriétés toxiques possibles pour la santé humaine et l'environnement **(Edziri et al, 2012)**. De ce fait, les médicaments phytothérapeutiques contenant des principes actifs sont actuellement développés pour protéger contre les radicaux libres **(Samout et al, 2016)**.

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Pour contribuer à la valorisation de cette flore Algérienne, qui n'a pas encore livré tous ses secrets dans les domaines de la phytothérapie et de la chimiothérapie, nous inscrivons notre présente étude qui se propose d'approfondir les connaissances sur deux plantes algériennes jouissant de grandes propriétés :

- *Lawsonia inermis* (Henné) caractérisé par ses multiples usages contre l'eczéma, les mycoses, astringent, antiseptique, antifongique, leishmanicide, cicatrisant des plaies et des blessures (**Hseini et Kahouadji, 2007 ; Serakta al, 2013**).
- *Juglans regia* (Swak) montrant une utilisation thérapeutique non négligeable dans les soins du squelette, astringent, antiseptique, antifongique et kératinisant antibactérien et fongicide (**Hseini et Kahouadji, 2007 ; Benhammou et al, 2008**).

Pour y parvenir, nous avons procédé à :

- L'évaluation phytochimique des extraits bruts aqueux de *Lawsonia inermis* et de *Juglans regia*.
- La détermination des activités anti-oxydantes anti-diabétique antialzaheimer et antibactérienne in vitro de ces extraits bruts obtenus après les différents processus d'extraction.

Avant d'aborder cette partie expérimentale et de discuter les résultats obtenus, nous avons passé en revue le principe de la phytothérapie et l'usage des plantes médicinales ainsi que l'étude botanique, phytochimique et les activités biologiques de nos deux plantes étudiées.

***ETUDE***

***BIBLIOGRAPHIQUE***

***CHAPITRE I :***  
***LES PLANTES MEDECINALES***  
***ETUDIEES***



## 1. Généralités sur *Juglans regia*

### 1.1. Historique

Les noix sont la nourriture d'arbres la plus vieille connue à l'homme, datant 7000 av. J.-C les Romains appelaient des noix *Juglans regia* "le gland royal de Jupiter".

La première histoire indique que des noix anglaises sont venues de la Perse antique, où elles ont été réservées pour la redevance. Ainsi, on connaît souvent la noix comme "la Noix persane". On a négocié des noix le long du parcours de Route de la soie entre l'Asie et le Moyen-Orient. Les caravanes ont porté des noix à loin des pays et finalement par le commerce de mer, étendant la popularité de la noix dans le monde entier.

Des marines marchandes anglaises ont transporté le produit pour le commerce aux ports dans le monde entier et sont devenues et connues comme "des Noix anglaises." L'Angleterre, en fait, n'a jamais cultivé des noix commercialement. La coquille extérieure a fourni une couche protectrice naturelle aidant la maintenance la qualité de la noix.

Aujourd'hui le commerce de noix continu à être un bien établi, ordonné et la noix de Californie est bien connu comme la noix de qualité supérieure pour le monde. (**Tajamul Islam Sahah .et al 2019**).



Figure 01 : les feuilles de *Juglans regia*

Figure 02 : les fruits de *Juglans regia*

(Sasha W.2013).

## 1.2. Description botanique de *Juglans regia*

*Juglans regia*, Noyer cendré encore appelé arbre à noix longues ou Noyer tendre est un arbre de petite à moyenne taille : il atteint une hauteur d'environ 25 mètres, et dépasse rarement les 30 mètres. Son diamètre peut atteindre 80 à 90 cm, à feuilles caduques atteignant les hauteurs, généralement avec un tronc court et une large couronne, quoique plus grand et plus étroit à compétition forestière dense. **(Tajamul Islam Sahah .et al 2019).**

Le noyer cendré fleurit d'avril à juin selon les localités. C'est un arbre monoïque et la pollinisation est anémophile. Les fleurs des deux sexes arrivent à maturité à des moments différents. Cet arbre possède un tronc court qui se divise en quelques grosses branches ascendantes à grande propagation. Les petites branches ont, quant à elles, tendance à se recourber vers le bas, peuvent retourner vers les extrémités **(Bonhomme, M. (2019).**

C'est une espèce claire exigeante, surtout la lumière solaire pour bien grandir. L'écorce est lisse, olive-brune quand l'arbre est jeune et argentée-grise sur des branches plus vieilles, et montre de larges fissures avec une texture plus lourde. . Les fleurs masculines sont dans des chatons penchants de 5 à 10 cm de long, les fleurs féminines sont terminales et dans les groupes de deux à cinq, mûrissant en automne dans un fruit avec une cosse verte, semi charnue brune et ondulée, Le fruit entier, y compris la cosse, tombe en automne ; la graine est grande, avec une coquille relativement mince et comestible, avec une saveur riche **(Ram S Verma .et al ; 2013),( Tajamul Islam Sahah).**

Les noix restent généralement sur l'arbre jusqu'à la chute des feuilles. Le fruit arrive à maturité au cours des mois de septembre ou d'octobre. L'embryon peut demeurer à l'état dormant pendant 2 ans, cependant, il germe habituellement au printemps suivant la chute des noix. **(Bonhomme, M. (2019).**

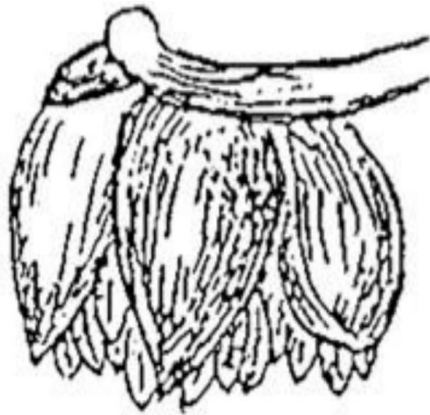


Figure 03 : Fleur mâle de noyer



Figure 04 : Fleur femelle de noyer

(Boukhari, F. (2017).

### 1.3. Taxonomie

Nous avons adopté la classification de Cronquist (Boukhari, F. (2017).

**Superclasse :** *Magnoliophyta*

**Classe :** *Magnoliopsida*

**Sous classe :** *Hamamelidae*

**Ordre :** *Juglandales*

**Famille :** *Juglandales*

**Genre :** *Juglans*

**Espèce :** *regia*



Figure 05 : *Juglans regia* (Seghir birem, K.( 2014 / 2015)

## 1.4. Répartition géographique

*Juglans regia* est natal aux chaînes de montagnes de l'Asie Centrale, s'étendant de la province Xinjiang de Chine occidentale, les parties du Kazakhstan, Ouzbékistan et le Kirghizistan du sud et de chaînes de montagnes inférieures au Népal, Bhoutan, le Tibet, l'Inde du nord, le Pakistan et Sri Lanka, par l'Afghanistan, le Turkménistan et l'Iran aux parts de l'Azerbaïdjan, l'Arménie, la Géorgie et la Turquie orientale.

Dans ces pays, il y a une grande diversité génétique, en formes héréditaires particulières avec la latérale fructifère. Pendant sa migration en Europe occidentale, la noix commune a perdu ce caractère et est devenue de grands arbres avec le terminal fruitier (Sabatier, S.1998).

## 1.5. Composition et valeur nutritionnelle de la noix

La noix a été utilisée globalement dans la nutrition humaine depuis l'Antiquité. La quantité haute en protéine et le contenu d'huile des grains de *Juglans regia* (*Juglandaceae*) font ce fruit indispensable pour la nutrition humaine. Donc, la noix est classifiée comme une espèce stratégique pour la nutrition humaine et est incluse dans la liste de FAO (Food and Agriculture Organisation) de plantes prioritaires. La partie de graine du fruit (le grain) est consommée fraîche, grillée, ou mélangée avec d'autres confiseries.

Les noix sont riches en substances nutritives (graisses, protéines, vitamines et des minéraux.). Elles sont aussi la bonne source de flavonoïdes, stérols, des substances pectiques des acides phénoliques et des polyphénols liés. Le contenu nutritionnel diffère d'une variété cultivée à une autre qui peut être influencé par le génotype, le cultivateur, l'écologie différente et le sol différent (Santos, A.2013).

Les composants majeurs d'huile de noix sont triacylglycérols (980 huile /kg), dans lesquels des acides gras mono insaturés (principalement l'acide oléique) et (polyinsaturés ; Linoléique et des acides linoléiques) sont présents dans de grandes quantités (dans tous les génotypes, en général, la composition d'huile de noix ressemble à celle d'huile de soja, mais l'huile de noix contient une concentration plus grande d'acide linoléique parmi des huiles végétales. L'huile de noix a la quantité la plus haute de PUFAS (polyinsaturés acides gras) en hausse de 78 % du total FA (acide gras) (Sabatier, S.1998).

Les noix ont une quantité haute d'oméga 6 et d'oméga 3, PUFA (polyinsaturé acide gras) qui est des acides gras diététiques essentiels.

Des études cliniques suggèrent que l'oméga 3 PUFA aurait le rôle significatif dans la prévention d'insuffisance coronarienne. Huile riche en acide oléique montre une stabilité oxydative plus grande donc ; il pourrait être largement utilisé comme huile de friture. Selon une enquête conduite par plusieurs chercheurs, Il a été trouvé que la valeur moyenne pour la protéine était 18.1 % Ils sont principalement composés de gluten (environ 70 % des protéines de graines totales) ensemble avec les quantités moindres de globulines (18 %), des albumines (7 %) et (5 %) prolamines.

La composition de farine de noix d'aspartate et glutamate ensemble avec relativement haut niveau d'arginine. Les protéines de noix contiennent tout l'élément essentiel AA exigé pour les besoins d'un adulte humain. Le ratio lysine/arginine dans des protéines de noix est inférieur à ceux observés dans d'autres protéines végétales communes et de ce fait a été identifié comme une caractéristique positive dans la réduction de développement d'athérosclérose. Les noix contiennent une quantité haute de potassium, de phosphore et de magnésium et une petite quantité de sodium. Ces éléments jouent un rôle important pour beaucoup d'activités d'enzymes d'autant plus que cofacteur (**Sabatier, S.1998**).

## 1.6. Utilisation Populaire de *Juglans regia*

Traditionnelles mondiales comme antimicrobien, anthelminthique, astringent, kératolytique, anti diarrhéique, hypoglycémique, dépuratoire, tonifiant, carminative et pour le traitement de sinusite, le froid et le mal d'estomac (**Santos, A.2013**).

Dans la médecine populaire turque, des feuilles fraîches appliquées sur le corps nu ou le front pour réduire la fièvre ou sur le joint gonflé pour soulager la douleur rhumatismale (**Santos, A.2013**).

Le grain de *Juglans regia* a été utilisé pour le traitement de la maladie d'intestin inflammatoire (inflammatoire) dans la médecine traditionnelle iranienne. En Palestine, il est utilisé pour le traitement de diabète, de l'asthme et traite la prostate et la perturbation vasculaire.

En médecine chinoise traditionnelle, son péricarpe extérieur vert séché nommé 'Qinglongyi' en chinois, a été rapporté pour traiter la douleur (**Sabatier, S.1998**).



La plante est utilisée comme un remède d'actualité à l'inflammation dermique et la transpiration excessive des mains et des pieds. C'est aussi un remède domestique commun au traitement d'eczéma chronique et scrofule. Les feuilles de cette plante sont utilisées actuellement pour traiter la démangeaison de cuir de scalp et des pellicules, le coup de soleil et des brûlures superficielles aussi bien qu'un émollient complémentaire dans des affections cutanées. Il a aussi un haut pouvoir anti-atherogénique et un potentiel et une activité ostéoblaste remarquable qui ajoute à l'effet avantageux d'une noix le régime enrichi sur cardio protection et la perte osseuse (**Labuckas, D. O.2008**).

L'écorce est utilisée comme miswaks pour le nettoyage de dents. Dans Le Népal la pâte d'écorce est utile dans l'arthrite, les maladies de peau, le mal de dent et la croissance de cheveux. Le manteau de graine est utilisé pour guérir des blessures. La coquille de *Juglans regia* est utilisée dans la médecine de gens de la Calabre pour guérir la malaria (**Labuckas, D. O.2008**).

## 1.7. Composition chimique de *Juglans regia*

### 1.7.1. Fruits

Ils sont consommables et sont riches en acides gras insaturés (**Nabavi et al. 2011**).

En effet le constituant principal des fruits est la matière grasse qui représente un taux allant de 78,83% à 82,14%, soit la valeur nutritionnelle autour de 720kcal pour 100g de fruits. L'acide linoléique est le principal acide gras avec une valeur maximale de 60,30%, pour certaines souches, suivi d'acides oléique, linoléique et d'acide palmitique (**Pereira et al.2008**).



Figure 06 : Fruit de noyer (Boukhari, F. (2017)).

### 1.7.2. Feuilles

Elles laissent échapper une odeur aromatique et possèdent une saveur amère et astringente. Elles contiennent une huile essentielle de couleur jaune verdâtre, une matière acre appelée "Juglandine" et une matière sucrée (**Lessourd, 1920**). Des Naphtoquinones dont la Juglone (5-hydroxy-1,4naphtoquinone) engendrée par oxydation de l'hydrojuglone est le principe actif le plus important pour ce végétal et il s'apparente à la Lawsone (**Ait Youssef, 2006**).

La Juglone existe dans la plante fraîche (feuilles, brou) sous forme de glucoside du 1,4, 5-trihydroxynaphtalène (2 % dans le brou, 0,6 % dans les feuilles). Mais aussi sous forme libre, notamment dans la cire épicuticulaire (**Bruneton, 1993**). Les feuilles sont aussi riches en tanins hydrosolubles (3 à 4 % de tanins gallique et catéchiques) (**Hazebroucq et Dorvault 1993 ; Ait Youssef, 2006**). On note aussi la présence des hétérosides de flavonols (hypéroside, junglanoside), des acides phénols, des sérotonines graines : acides gras insaturés : acide linoléique et linoléique, Inosite, carotène, pyrogallol (**Chiej, 1982**).



Figure 07 : Feuille de *Juglans regia* (Boukhari, F. (2017).

### 1.8. Activité pharmacologique et effets thérapeutiques de *Juglans regia*

L'espèce *Juglans regia* a été abondamment utilisée en médecine ; les feuilles ont été utilisées traditionnellement dans le traitement des inflammations cutanées, des ulcérations, elles ont un effet anti diarrhéique, antihelminthique, antiseptique et astringent (**Erdemoglu et al. 2003 ; Almeida et al, 2008**).

En Algérie les feuilles ou folioles sont traditionnellement utilisées comme remède antiscrofuleux (censé traiter les écrouelles, ou guérir de la scrofule, lésion tumorale à type d'adénite cervicale chronique très souvent d'origine tuberculeuse : cette lésion torpide de la peau, des ganglions lymphatiques et des os, forme des abcès froids, qui ont tendance à provoquer des fistules (**Ait Youssef 2006**). Les feuilles de noyer sont aussi utilisées contre le rachitisme, l'anémie car elles possèdent des actions fortifiantes et tonifiantes.

Les composés chimiques retrouvés dans les feuilles de noyer et pouvant expliquer ces actions sont les tanins et l'inositol (**Hazebroucq et Dorvault 1993**). Ce dernier joue un rôle essentiel dans les communications intracellulaires en modulant la concentration de calcium et intervient dans la mobilisation lipidique.

**Paudel et al. (2013)** confirment que la présence d'eugénol et du salicylate de méthyle dans les feuilles sont compatibles avec les utilisations traditionnelles de cette plante pour traiter les maux de dents, les rhumatismes et les infections fongiques. L'écorce des racines de cette espèce (dite Souak), est employée partout dans le monde arabe en usage externe, en mastication ou friction, pour blanchir les dents et pour rougir les lèvres et les gencives et pour combattre aussi les mauvaises haleines (**Ait Youssef. 2006**).

Tandis que ses fruits verts confits sont employés pour combattre la constipation. Les usages externes de la plante sont très impressionnants tout particulièrement par leur nombre. On l'a employé pour soigner toutes sortes d'affections cutanées - eczéma, impétigo, psoriasis, abcès froids, plaies atones, de même que la transpiration excessive des mains et des pieds (**Vanier, 1999**).



## 2. Généralités sur *Lawsonia inermis*

### 2.1. Historique

*Lawsonia inermis* est une espèce native d'Afrique du Nord et du Sud Est Asiatique (**Malekzadeh, 1968**). Il serait originaire d'une région allant du sud de l'Iran et de la Mésopotamie au Béloutchistan. De là, il aurait gagné, dès l'antiquité, le nord de l'Inde où ses usagers sont très anciennement attestés et vers l'ouest, la Palestine, la Syrie et l'Egypte suivant en cela la migration des peuples (**Lebert, 2005**).

L'utilisation du henné est donc très ancienne, en même temps que le sens à lui donner demeure souvent obscure. Puis l'Islam l'a faite sien, au point de lui être, de nos jours, associée dans les représentations les plus courantes. Ainsi, la nuit du henné, l'un des temps forts des cérémonies de mariage dans les sociétés musulmanes, est-elle devenue emblématique de ce rituel (**Oueida, Non daté**).

Par contre, pour ce qui est de l'Afrique du Nord, il semble bien que l'emploi du henné soit effectivement lié à son islamisation. La plante y croît dans les régions présahariennes et Sahariennes, les seules qui soient propices à sa culture. Il a fait, et fait encore de nos jours, l'objet d'importantes transactions commerciales à partir des oasis productrices ainsi que depuis la Libye et l'Egypte (**Tauzin, 1998**).



**Figure 08 : Poudre et feuilles du henné (Hettab benhassane , H.(2018).**

## 2.2. Distribution morphologique

Le Henné est un arbuste odoriférant de 2 à 6 mètres de la famille des *Lythraceae* (**Singh et al.2005**). Possédant une écorce blanchâtre à grandes panicules de fleurs de type 4, blanches ou rose pâle (**Ghedira et Goetz, 2017**). Présentant des feuilles persistantes, étroites et effilées (**Lattab, 2012**). Ses feuilles opposées décussées, simples et entières, sont presque sessiles à stipules minuscules ; limbe elliptique à oblong ou largement lancéolées inflorescence (**Fagbohoun, 2014**).et sont ovales, acuminées de 2 à 3cm de long sur 1 à 1.5cm de large. Les fleurs de couleur variable (**Ghedira et Goetz, 2017**) d'odeur suave de rose, souvent épineux. Les branches près de la base, très ramifiées, grêles à écorce blanchâtre (**Ghedira et Goetz, 2017**).

Les fleurs de couleur variable, souvent blanches de type 4, petites, parfumées à odeur de rose. Les capsules sont sphériques de 5mm de diamètre avec un vestige de style présentant au sommet 4 loges renfermant de nombreuses graines (**Ghedira et Goetz, 2017**). Les capsules sont sphériques 4-8 millimètres de diamètre, avec 32-49 graines par fruit, de 6 mm de diamètre avec un vestige de style présentant au sommet quatre loges renfermant de nombreuses graines (**Kumar et al. 2005**).



**Figure 09 : Aspect général du henné (Catherine Cartwright-Jones Ph, 2015)**

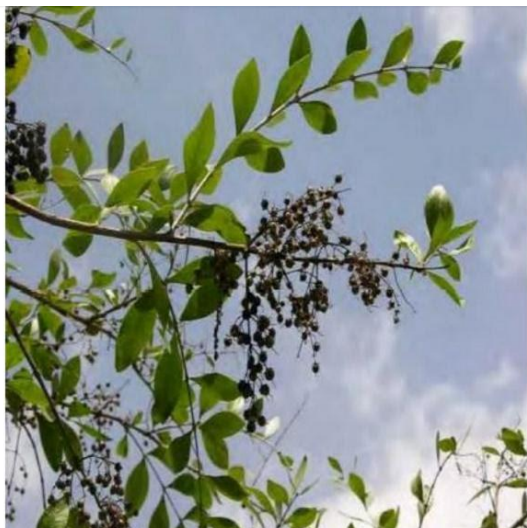


Figure 10 : Partie aérienne avec fruit



Figure 11 : Arbuste de *Lawsonia inermis*

(Hettab benhassane, H. (2018))

### 2.3. Taxonomie

D'après Roques (1960) ; Joy (2001) et Rahmoun (2009), la classification botanique de la *Lawsonia inermis* est la suivante :

**Règne :** *Plantae*

**Embranchement :** *Phanerogames*

**Sous-embranchement :** *Angiospermes*

**Division :** *Magnoliophyta*

**Classe :** *Magnoliopsida*

**Ordre :** *Myrtales*

**Famille :** *Lythraceae*

**Genre :** *Lawsonia*

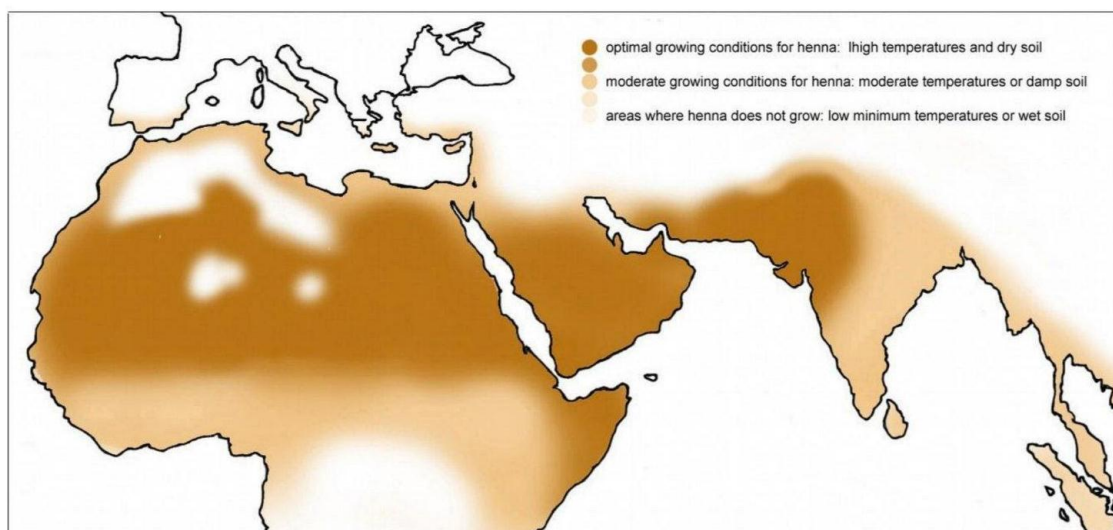
### 2.4. Répartition géographique

La zone géographique d'où est originaire le henné est la savane tropicale et les zones arides tropicales (Malekzadeh, 1968). En général, cette plante est cultivée dans les latitudes entre 15° et 25° N et S de l'Afrique à la bande pacifique occidentale. Elle supporte bien le climat subtropical. Originaire d'Inde occidentale, la plante *Lawsonia inermis* s'est répandue aussi

bien vers l'Ouest que vers l'Est au point qu'on la trouve maintenant cultivée dans la plupart des régions tropicales et subtropicales du monde (**Wikipédia, 2008**).

En Asie, *Lawsonia inermis* est cultivée dans tout le Proche Orient, Iran, Perse, l'Inde Occidentale et en Chine. En Afrique, elle est cultivée dans le Maghreb, le Sénégal, le Mali et le soudan (**Lekouch et al. 2001**).

La plante ne grandit pas lorsque les températures minimales sont inférieures à 1°C. La molécule responsable des propriétés colorantes de la plante, la Lawsone est produite à son haut niveau là où la température est entre 35°C et 45°C. Ses feuilles sont récoltées au cours de la saison du printemps (**Badri et Burkinshaw, 1993 ; Paul, 2001**).



**Figure 12 : Répartition géographique des cultures de henné (Lemordant et Forestier, 1983)**

## **2.5. Composition et valeur nutritionnelle des feuilles de *Lawsonia Inermis***

### **\* Les feuilles de henné**

La Lawsone existe dans les feuilles de *Lawsonia inermis* à des proportions variant entre 0,4 à 1,5% de matière sèche. Cette molécule est libérée après hydrolyse des hétérosides précurseurs. (**Talaat et Hanke, 1961 ; Wichtl, 1999 ; Kiildand et Marzin, 2003 ; Mc MiIlan et al. 2004**).

Ce sont des feuilles simples, lancéolées ovales, aiguës, munies d'un pétiole très réduit. Les tiges rameuses portent des feuilles coriaces et simples (**Bruneton, 1987**). Les feuilles sont

odoriférantes, de saveurs non caractéristiques, un peu astringentes et amères. Le limbe est glabre, ovale, aigu avec une bordure lisse et évoluée (**Herraouya, 1862 ; Delaveau, 1985**).

Selon les conditions climatiques et l'âge, leur taille est variable. Les dimensions moyennes les plus souvent rencontrées sont les suivantes : 2 à 3 centimètres de longueur par 1 centimètre de largeur. Elles peuvent cependant mesurer de 0,5 à 6,5 centimètres de long sur 0,6 à 3 centimètres de large. (**Lemordant et Forestier., 1983**).

Les analyses phytochimiques des feuilles de *Lawsonia inermis* ont mis en évidence en plus de la Lawsone la présence d'autres constituants chimiques : les dérivés hydroxylés du naphthalène (1,2-dihydroxy-4-glucosyloxy-naphthalène), l'isoplumbagin (2-méthyl-8-hydroxy-4-naphthoquinone), le luteoline et ses 7-O-glucoside, acacetin-7-O-glucoside, des petites quantités de stérols (beta-sitosteroiglucoside), les xanthones, le glucose, le mannitol, la résine et le mucilage (**Gupta et al. 1993 ; Ahmed et al. 2000 ; Dasgupta et al, 2003 ; Botros et al., 2004 ; SCCP., 2005 ; Khare, 2007 ; Shivananda Nayak et al., 2007**). En plus, il a été montré que les feuilles de la plante sont riches en composés phénoliques à un taux de 11,07 mg équivalent d'acide gallique/g de matière sèche (**Sadaoui et al. 2004**).

D'autres études montrèrent la présence des flavonoïdes (**Gupta et al. 1992**), des coumarines (SCCP., 2005) principalement la 7,7-diacétoxy coumarine (**Bharadwaj et al 1976**) et des tanins (5 à 10 %) principalement l'acide gallique (**Cowan, 1999 ; Wichtl, 1999**).

Dans une étude récente, les analyses par OC et GC/MS de l'huile essentielle des feuilles de *Lawsonia inermis* d'origine nigérienne ont permis d'identifier trente-six éléments qui constituent 80,4% de l'huile. Les principaux composants sont : l'hexadécanoate d'éthyle (24,4%), le (E) méthyle cinnamate (11,4%), l'isocaryophyllène (8,1%), le (E)-3-ionone (5,8%) et le méthyle linolénate (4,1%) (**Oyedeji et al, 2005**). Une autre étude a montré la présence de la cinéole (58,6%), l' $\alpha$ -pinène (18,2 %) et du p-cymène (14,7%) (**Ogunbinu et al, 2007**).

Il a été rapporté que l'extrait chloroformique des feuilles de la plante contient la Lawsone, la 2-méthoxy-3-méthyl-1,4-naphthoquinone, l'apigénin, le luteolin, et le cosmosiin, alors que l'extrait d'acétate d'éthyle contient l'acide para-coumarique et l'apigénin (**Botros et al, 2004**).



## 6. Utilisation populaire de *Lawsonia inermis*

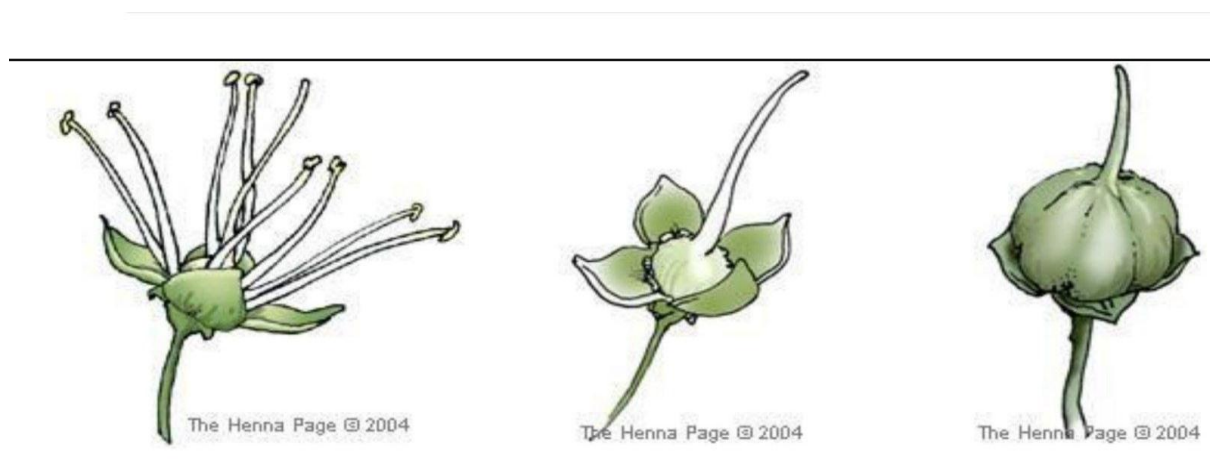
Certaines études scientifiques récentes ont également découvert qu'il y a un effet qui abaisse la fréquence cardiaque, réduit la tension artérielle et soulage les spasmes musculaires et les douleurs fébriles, car il peut être utilisé comme analgésique.

Il utilise également ses articles pour traiter les maladies de la peau telles que les furoncles, l'acné et les maladies fongiques mensuelles, augmente les contractions utérines, et son extrait d'eau tue les bactéries et s'est également avéré être un médicament utile dans le traitement de tout ce qui affecte les jambes et agit comme un agent antiviral ainsi que pour traiter la fièvre qui affecte les organes génitaux comme une infection, qui est une maladie résistante au traitement, et ceux-ci peuvent se développer pour une utilisation dans le traitement du sida. (Boukafla, 2013).

## 2.7. Etude chimique de l'espèce *Lawsonia inermis*

### 2.7.1. Fruits

Les fleurs donnent une huile essentielle. Les graines contiennent 5.6 % d'une huile fixe renfermant 10.5 % de cire et d'insaponifiable, 37.7 % d'acides solides avec une matière colorante. Les acides de cette huile sont les acides béhénique (1.69 %), arachidique (9.6 %), stéarique (15.78 %), palmitique (9.07 %), oléique (34.66 %), et linoléique (29.31 %). La distillation des graines à la vapeur d'eau conduit à l'obtention de 0.01 à 0.02 % d'huile essentielle brune formées à 90 % d'ionone (Paris et Moyse, 1965). Des coumarines et des xanthonnes sont aussi présents (Bruneton, 1993).



**Figure 13 : Schéma de la transformation de la fleur fécondée en fruits**  
(Hettab benhassane, H. (2018).



Figure 14: Fruits de *Lawsonia inermis*



Figure 15: jeunes feuilles de *Lawsonia inermis*

(Lebert, 2005)

### 2.7.2. Feuilles

La phytochimie des feuilles de Henné a été largement étudiée. Déjà en 1920 la structure chimique de la Lawsone :  $C_{10}H_6O_3$  ou 2 hydroxy 1,4 naphthoquinones et son activité tinctoriale ont été découvertes (El Babili et al., 2013), la Lawsone qui représente le principe actif le plus important des pigments flavoniques, et surtout naphthoquinoniques (196 environ), a la forme d'un glucoside et représente un taux de 0.5 à 1 % de la composition des feuilles (Goetz et Busser 2007), elle se forme par hydrolyse enzymatique des glycosides (hennosides A, B et C) et auto oxydation de l'aglycone libéré. Cette substance cristallise en aiguilles rouge orangé, sublimables, très peu solubles dans l'eau froide, plus solubles à chaud, solubles dans les solvants organiques, et dans les solutions aqueuses alcalines en donnant une coloration rouge orangé.

Parmi les autres constituants principaux, nous trouvons aussi des acides organiques dont l'acide gallique (Nakhala et al., 1980), des coumarines (Dzhuraev et al., 1982), des polysaccharides (mucilages 11%) dont la B- sitosterol glucoside (Mahmoud et al., 1980), des pigments flavoniques (Afzal, 1980), des quinoïdes (Nakhala et al., 1980), des dérivés naphthalains (Afzal, 1980), et des xanthonnes (Bhardwaj et al., 1978). De plus les feuilles de henné renferment 8 à 10 % d'eau, 10 % de matières minérales (Paris et Moyse, 1965), 7 à 8% de tanins, 6 % de lipides, 2 % de résine.

***CHAPITRE 2 :***  
***PHYTOTHERAPIE ET***  
***METABOLITES SECONDAIRES***



## 1. Phytothérapie

### 1.1. Définition

Par définition la phytothérapie est le traitement curatif ou préventif des maladies et des troubles subjectifs par l'usage des plantes. Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement soigner avec les plantes (**Tarabet, 2017**).

La phytothérapie fait partie des médecines parallèles, ou médecines douces et c'est l'une des sciences médicales les plus anciennes (**Larousse Médical, 2006**). Cette thérapie se veut naturelle et respectueuse de la santé du patient. Le but recherché en phytothérapie est le retour à l'équilibre, en renforçant les défenses de l'individu (**Walker, 2006**).

D'après l'**O.M.S (2000)**, la phytothérapie est la somme des connaissances, compétences et pratiques qui reposent sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques, mentales ou le déséquilibre social.

Elle est reliée à une expérience pratique et à des observations faites de génération en génération, et transmises de façon orale ou écrite (**Adouane, 2016**).

### 1.2. Les différentes thérapies à base de la plantes

D'après **Strang (2006)** ; la phytothérapie comporte différents types :

#### 1.2.1. Aromathérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie, qui étudie les propriétés médicales des plantes aromatiques et des huiles essentielles qu'elles fournissent. Il s'agit de produits complexes extraits généralement par distillation des fleurs, des fruits et des autres parties de la plante. Leur usage est très ancien notamment comme antiseptique, antispasmodique, antalgique et tonique (**Chiej, 1982 ; Fabrocini, 1999 ; Zeghad, 2009**).

### 1.2.2. L'herboristerie

C'est la thérapie la plus classique et ancienne. L'herboristerie se sert de plante fraîche ou séchée, elle utilise la plante entière ou une partie de celle-ci, écorce, fruits, fleurs (**Adouane, 2016**). La préparation repose sur l'utilisation de décoctions, infusions et macérations de plantes

### 1.2.3. Phytothérapie pharmaceutique

Thérapie qui utilise des produits d'origine végétale obtenus par extraction et qui sont dilués dans l'alcool éthylique ou un autre solvant (**Tarabet, 2017**). Ces extraits sont utilisés à des doses optimales sous diverses formes galéniques (**Mansour, 2014**). Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, et de lyophilisats.

### 1.2.4. La Pharmacopée

En phytothérapie, il faut distinguer deux types de produits :

- Les produits phytopharmaceutiques.
- Les plantes en vente libre et utilisables directement en tisanes ou décoction.

## 1.3. Les avantages de la phytothérapie

L'avantage essentiel de la phytothérapie est d'éviter les effets secondaires grâce aux faibles concentrations et parce que les éléments n'y sont ni dissociés ni épurés. Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu d'effets

Indésirables.

## 2. Métabolites secondaires

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base : acides nucléiques (ARN, ADN), lipides, protéines, acides aminés et carbohydrates.

Ces métabolites primaires sont produits en quantité élevée par les plantes et sont à faible prix de revient. Il existe aussi un métabolisme secondaire, chez les plantes : C'est une exclusivité du monde végétal. Ces substances ne paraissent pas essentielles à la vie de la plante. Elles sont produites en très faible quantité et sont à des prix élevés.

On les appelle, les métabolites secondaires. Ce sont des produits, à structure chimique souvent complexe. Selon les espèces, ces métabolites sont très dispersés et très différents. Ce n'est seulement qu'à partir de la deuxième moitié du 20<sup>e</sup> siècle, qu'il y a eu explosion des recherches en ce domaine grâce à l'évolution du matériel d'analyse chimique.

Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires (**Bouhadjera, 2005**) classés selon leur appartenance chimique en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité.

### 2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ils sont présents dans tous les fruits et légumes

(**Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011**).

Selon **Diallo, (2005)**, les polyphénols sont des groupes de molécules de structures variées. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié des groupements hydroxyles, ces molécules représentent une famille de plus 8000 composés (**Dacosta, 2003**).

Ces molécules constituent la base des principes actifs trouvés au niveau des plantes médicinales.

Ils possèdent un effet antioxydant, antibactérien et antifongique et ils sont des protecteurs contre l'apparition de certains cancers (**Macheix et al., 2005**). En effet, une alimentation

équilibrée fournit à l'homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (**Scalbert et al. 2005**).

Les polyphénols peuvent se regrouper en deux grands groupes ; les non flavonoïdes dont les principaux composés sont les acides phénoliques, stilbènes, lignanes, lignines et coumarines (**Hoffmann, 2003**), et les flavonoïdes dont on caractérise principalement les flavones, flavanones, flavanols, isoflavonones, anthocyanines, pro anthocyanidines et flavanols (**Pincemail et al. 2007**).

### 2.1.1. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde signifie jaune en latin flavus (**Ribereau-gayon, 1968**).

Les flavonoïdes appartiennent à la classe des composés phénoliques, sont des pigments donnant la coloration aux fleurs et dans certains cas aux feuilles.

Ces substances peuvent être jaunes (origine du mot flavo), rouges, bleues ou violettes. Exemple de plantes médicinales comprenant des flavonoïdes : ginkgo, coriandre, café ; Ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal (**Fritch et Griesbach, 1975**), ce qui explique une grande part de leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire et des colorants. Ils possèdent en outre un intérêt médical considérable (**Vauzour et al, 2001**).

Les flavonoïdes se répartissent en fonction de la structure de molécules. En effet, plus de 6400 structures ont été identifiées (**Harborne et Williams, 2000**). Ce groupe comprend plusieurs classes subdivisées selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central (**Bruneton, 1999 ; Marfak, 2003 ; et al., 2004 ; Skerget et al., 2005**) et dont les plus importantes sont :

- Flavones,
- Flavanols,
- Flavanones,
- Dihydroflavonols, Isoflavones,
- Isoflavon,
- Flavanes,

- Flavanols et anthocyanines,

Récemment de nombreux travaux ont montré que les fruits, les légumes, le thé, le soja constituent les sources alimentaires des flavonoïdes les plus étudiées (Gervais, 2001 ; Pelli et Lyly, 2003 ; Cabrera et al. 2007).

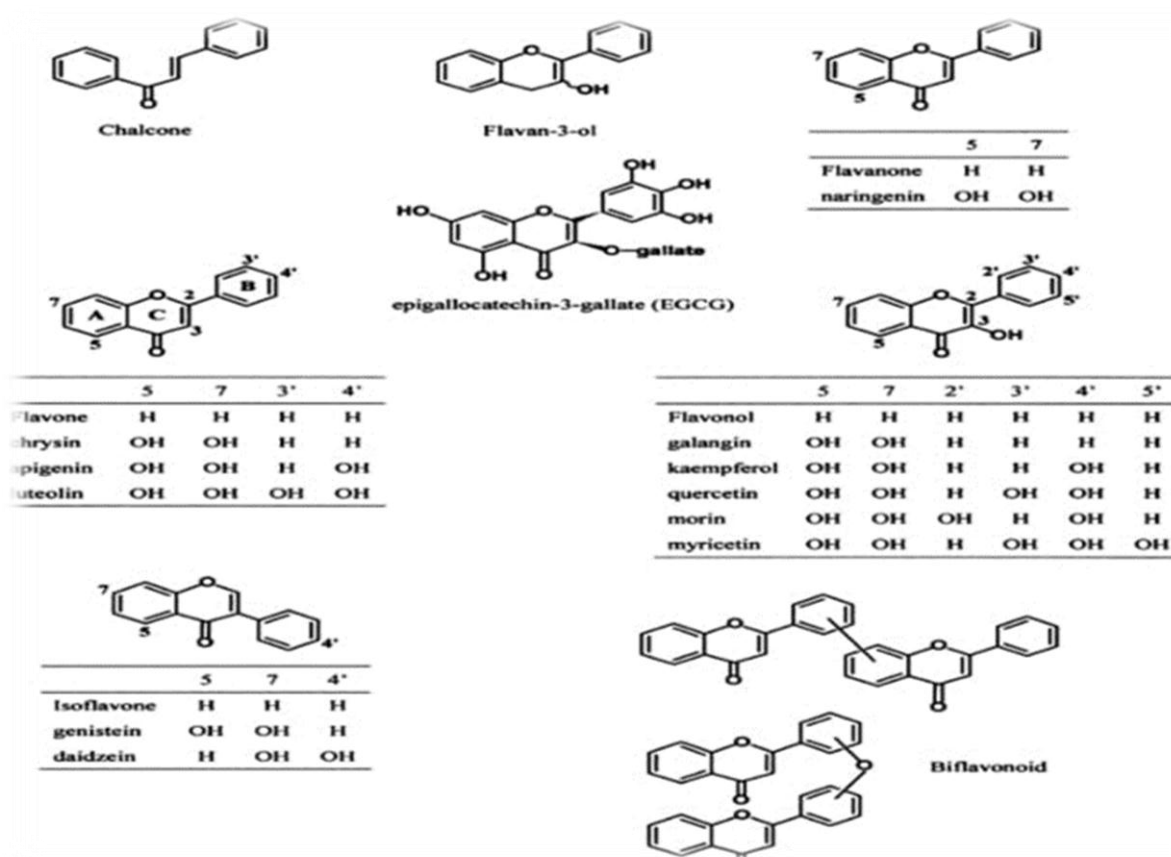


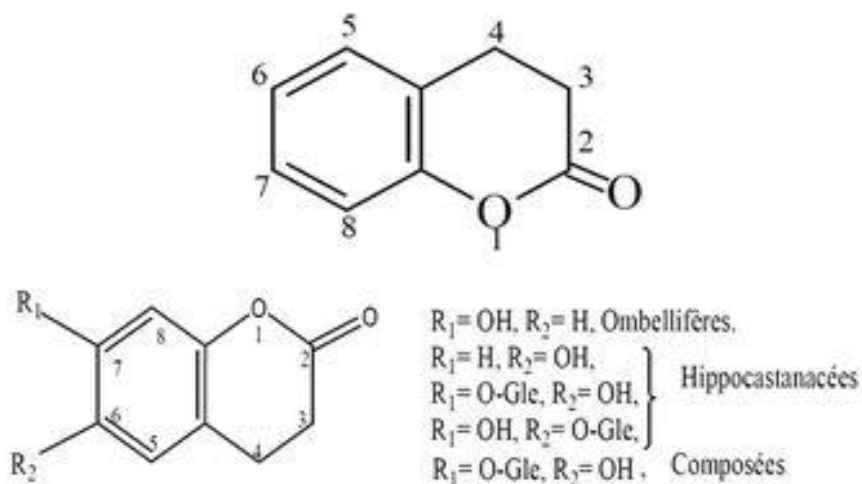
Figure 16 : Structure de base des classes les plus répandues des flavonoïdes (Kim et al. 2004).

### 2.1.2. Tanins

On appelle communément "tanins" des substances d'origine végétale de saveur astringente, non azotées, de structure polyphénolique, soluble dans l'eau, l'alcool, l'acétone et peu soluble dans l'éther (Paris et Moys, 1976) et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Frutos et al. 2004 ; Sahpaz, 2013). Chez les végétaux supérieurs on distingue deux groupes de tanins de structures différentes : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables, ou tanins Condensés (Traoré, 1999 ; Frutos et al. 2004).

### 2.1.3. Coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (**Dipterix odorota Wild.** Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (**Ford et al. 2001**).



**Figure 17 : Structure de bases des classes les plus répandues des coumarines (Ford et al. 2001).**

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, Ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuses, Rutacées, Apiécées et Thymelacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et dans les huiles essentielles des graines (**Guignard ,1998 ; Deina et al., 2003 ; Booth et al., 2004**).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée (**Hoffmann, 2003**), Cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande

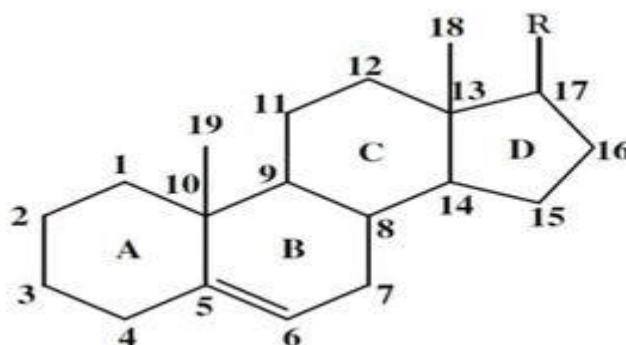
quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. Les coumarines peuvent également se trouver dans le règne animal (les glandes à sécrétion odoriférante du castor) et chez certains microorganismes (**Hofmann, 2003**).

## 2.2. Composé terpéniques

### 2.2.1. Stéroïdes, stérols

Les stéroïdes, les stérols et les terpénoïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux, ils regroupent plusieurs sous familles. Les stérols jouent un rôle important dans la qualité des graisses et des huiles. Ils se présentent sous forme d'alcool libre (sitostérol), ou sous forme des esters associés par le glucose (glucoside stérols).

Les stérols végétaux possèdent généralement une double liaison ou plus ; ils sont alors appelés les phytostérols par contre leurs analogues saturés sont appelés les phytostanols (**Tanya,1997;Robertetal,2002**).



**R : chaîne latérale (C=0-10)**

**Figure 18 : Structure chimique du noyau stérane des stéroïdes (Tanya, 1997;Robertetal, 2002).**

Parmi les stérols ou phytostérols les plus fréquemment rencontrés chez les végétaux on cite : le stigmastérol et le  $\beta$ -sitostérol. Ils représentent 80% des stérols bio synthétisés à la surface du globe terrestre. Les stéroïdes et les tris terpènes peuvent être considérés comme formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du

2méthylbutadiène. Chaque groupe de terpènes est issu de la condensation à queue d'un nombre variable d'unités isoprènes.

### 2.2.2. Huiles essentielles

Les huiles essentielles parfois appelées essences, sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles. Elles sont obtenues par deux procédés, soit par distillation ou entraînement à la vapeur d'eau. Pour améliorer la qualité aromatique des huiles essentielles, l'extraction se fait à basse température et pression. La teneur des huiles essentielles est généralement faible, elle est de l'ordre de 1% à 5 %.

Il existe quelque exception, exemple : Badiane de Chine, où la teneur en essence est supérieure à 5%, clou de girofle qui renferme plus de 15% d'essence (**Kouno et al., 1988**).

## 2.3. Composés azotés

### 2.3.1. Alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent avec les hétérosides, la majorité des principes actifs des plantes médicinales. Leur extrême importance tient d'une part à leur activité et d'autre part à leur toxicité (**Cordell 1981**).

Le terme d'alcaloïdes a été introduit par W. Meissner au début du XIXe siècle ; pour désigner les substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis (de l'arabe al kaly, la soude et du grec eidos, l'aspect), il rappelle le caractère alcalin de ces substances, mettant à profit leur extraction et leur dosage.

Les alcaloïdes sont donc des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe (**Hemingway et Phillipson, 1980 ; Bruneton 2009**). La présence d'azote confère à la molécule un caractère basique plus au moins prononcé, de distribution restreinte et douée d'activité pharmacologique significative (**Roberts et Vink 1998, Waller et Nowacki 1978**). Les alcaloïdes existent sous forme de sels (malates, méconates, isobutyrate) et sous forme d'une combinaison avec les tanins.



## ***CHAPITRE 3 :***

***Activités biologiques de Lawsonia  
inermis et de Juglans regia***

## **I. Les activités biologiques de *Juglans regia* et *Lawsonia inermis***

### **I.1. Activité antioxydante**

Le potentiel antioxydant des extraits d'acétate d'éthyle, butanol, méthanol et d'éther de pétrole a été mesuré par différentes méthodes telles que la réduction d'activité, la méthode des radicaux de DPPH et la méthode de l'inhibition d'oxydation des lipides par le système  $\beta$ -Carotène. Tous les extraits ont montré une forte activité antioxydante (Alm al., 2008; Oliveira et al., 2008; Pereira et al., 2008; Zhang et al., 2009; Abbasi et al., 2010; Carvalhoe et al., 2010; Rahimipanah et al., 2010; Qamar et al., 2011). Plusieurs composés phénoliques isolés à partir de la plante comme le pyrogallol, l'acide p-hydroxy benzoïque, l'acide vanillique, l'acide protocatéchique, l'acide gallique, les tanins, les glansrins, adénosine, adénine pourrait fournir une base chimique de certains des avantages pour la santé et exactement contre les maladies liées au stress oxydant (Zhang et al., 2009).

#### **I.1.1. Définition de l'activité antioxydante**

Un antioxydant est une molécule capable d'inhiber, de ralentir ou d'empêcher l'oxydation d'autres molécules qui se produisent d'une espèce réactive oxygénée ou sous l'influence de l'oxygène atmosphérique (Pisoschi et Negulescu, 2011).

Les antioxydants peuvent également protéger le corps humain contre les radicaux libres et les effets des ROS (espèces réactives de l'oxygène). Ils retardent la progression de nombreuses maladies chroniques ainsi que la peroxydation lipidique (Gülçin, 2012).

La majorité des antioxydants naturels sont des composés phénoliques tels que les tocophérols, les flavonoïdes et les acides phénoliques (Gülçin, 2012).

##### **I. 1.1.1. Les radicaux libres**

Les radicaux libres (RL) sont des atomes, des molécules ou des ions (dérivent de l'oxygène, de l'azote et du soufre) avec un ou plusieurs électrons sur sa couche externe non appariés qui sont très instables et actifs vis-à-vis des réactions chimiques (Carocho et Ferreira, 2013). Ces atomes vont tenter de rapparier leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron (Afanasev, 2009). Ces radicaux libres à des

concentrations physiologiques élevées induisent la mort cellulaire et l'apoptose (**Salido et Rosado, 2009**).

Il existe des facteurs oxydants responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme qui sont les facteurs endogènes tel que la chaîne respiratoire, les réactions immunitaires, la traduction de signaux, le système NADPH oxydase et des sources exogènes telles que l'alimentation (**Morena et al., 2002**).

### **I. 1.1.2. Stress oxydatif**

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses anti-oxydantes de l'organisme.

Parmi les causes de stress oxydant; notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense...) mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, l'augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme (**Halenget al, 2007**). Ceci qui déclenche des lésions des molécules biologiques tel que l'oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides et des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés lors de l'oxydation des lipides (**Favier, 2003; Koechlin, 2006; Colas, 2010; Bennamara, 2017**).

Ces lésions moléculaires provoquent avec le temps des pathologies nombreuses comme l'athérosclérose, le cancer, les maladies inflammatoires et l'infertilité masculine (**Ait baziz et Chemali, 2017**).

## **I. 2. Activités antibactériennes**

Les extraits organiques ainsi que les extraits aqueux des feuilles, d'écorces de différents pays a montré un large spectre d'activité antibactérienne contre des bactéries Gram positifs et Gram négatifs à savoir, *Bacillus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhimurium*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus thuringiensis*, *Protomonas extroquens*, et *Proteus sp*; en utilisant la méthode de diffusion sur disque (**Citoglu et al., 2003; Shah et al., 2003 ; Qa'dan et al., 2005a ; Qa'dan et al., 2005b ; Oliveira et al., 2008 ; Poyrazolu et al. 2010 ; Deshpande et al. 2011**).

### **I.2.1. Définition de l'activité antibactérienne**

L'activité antibiotique correspondant à une activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal qui à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou la tue. La sensibilité d'une bactérie peut être différente selon la souche d'appartenance (**Nicole et Daniel, 1998**).

### **I.2.2. Effet antimicrobien**

Ces dernières années, il y a eu un grand intérêt pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens, due à une augmentation alarmante du taux des infections causées par des microorganismes résistant aux antibiotiques (**Athamena, 2009**).

Une des approches courantes pour la recherche des substances biologiquement actives est le criblage systématique des micro-organismes ou les plantes, qui sont des sources de beaucoup d'agents thérapeutiques utiles.

En particulier, l'activité antimicrobienne des huiles et des extraits de plantes qui ont formé la base de beaucoup d'applications, y compris, pharmaceutiques, médecine, thérapie naturelle et la conservation des aliments (**Sagdic et al., 2002**).

Le premier rapport des propriétés antimicrobiennes des épices est apparu en 1880 dont lequel les activités de la moutarde, clou de girofle et de la cannelle et leurs huiles ont été décrites (**Prasad et Seenayya, 2000**).

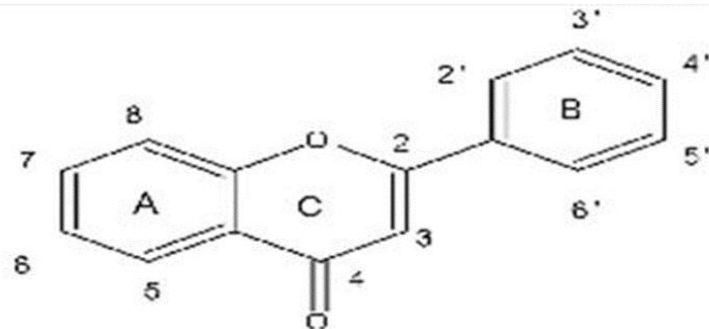
### **I.2.3. Métabolites secondaires responsables de l'activité antimicrobienne**

Les métabolites secondaire de plantes sont presque des polyphénols, qui forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories : les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols ; les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes ; les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables (**Dacosta, 2003**).

#### **I.2.3.1. Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Fig. 2). Ils sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits car ils sont considérés comme des

pigments quasi universels des végétaux (**Ghestem et al. 2001**). Sont présents dans toutes les plantes vasculaires dans divers organes : racines, tiges, bois, cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles (**Marfak, 2003 ; Hadi, 2004**).



**Figure 19 : Squelette de base des flavonoïdes (Bruneton, 1999)**

On a six classes principales des flavonoïdes ; les flavones et les flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus, les flavonoïdes minoritaires qui compris les flavanones, les flavanols, les chalcones et les anthocyanidines, sont considérés comme minoritaire à cause de leur distribution naturelle restreinte (**Bruneton, 1999 ; Harborne et Williams, 2000 ; Havsteen, 2002 ; Dacosta, 2003**).

#### **I. 2.3.1.1. Activité antibactérienne des flavonoïdes**

Les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations photochimiques riches en flavonoïdes possèdent une activité antimicrobienne qui est attribuée à la fonction phénolique des flavonoïdes, cette activité est sensée augmenter avec le nombre de substituants hydroxyles, méthoxyles ou glucosyles. Les structures les plus efficaces étant les flavones et les flavanones.

Selon (**Harikrishna et al. 2004**), les bactéries Gram positif et Gram négatif sont très sensible au flavonoïde glycosidé grâce à leur pouvoir antibactérien. Récemment des chercheurs ont prouvé le pouvoir des flavonoïdes contre le rétrovirus VIH responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA); une étude plus récente sur le virus VIH a montré que les flavonoïdes peuvent avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface de ce virus ce qui empêche la liaison du virus à la cellule hôte (**Mahmood et al., 1993**).

Les flavonoïdes ont une forte activité antifongique à cause de leur capacité d'inhiber la germination des spores pathogènes. Une étude sur les flavones et les flavanone, qui sont des dérivés flavonoïdes a montré une activité contre *Candida albicans* ; les flavones ainsi exhibé une activité contre *Aspergillus flavus*, une espèce de mycète qui cause une maladie envahissante chez les patients immunosuppresseifs. L'activité inhibitrice de flavonol a été montrée contre *Aspergillus tamarii*, *A. flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium digitatum* et *P. italicum* (Afolayan et Meyer, 1997).

Plusieurs hypothèses sont proposées pour l'explication de l'effet antimicrobien des flavonoïdes. Parmi eux on peut citer les l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique (Hilliard, 1995), l'inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique (Tsuchiya et Inuma, 2000), la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne et l'inhibition du métabolisme énergétique microbien (Haraguchi et al. 1998).

### I.2.3.2. Tanins

Les tanins sont des composés d'origine végétale non azotée poly phénoliques de structures variées, la propriété commune des tanins c'est de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines (Ghestem et al. 2001 ; Atefeibu, 2002). La masse moléculaire des tanins est comprise entre 500 et 3000 (PM) (Boudjellal, 2009).

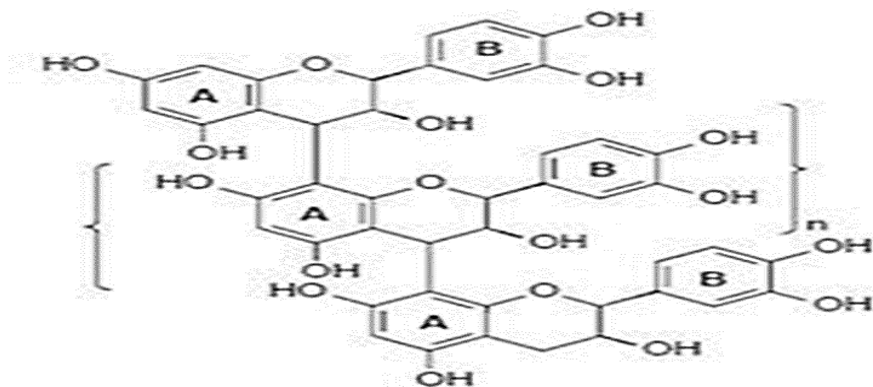


Figure 20 : Structure de base des tanins condensés (Li, 2004).

### **I. 2.3.2.1. Activité antibactérienne des tanins**

Les études du potentielles antimicrobiennes des tanins ont montré un grand spectre d'activité sur différentes bactéries, virus et champignons (**Bruneton, 1999 ; Peronny, 2005**).

L'activité bactériostatique de ces molécules a été également rapportée sur différentes bactéries; *Bacillus anthracis*, *B.subtilis*, *Staphylococcus aureus*, et *Clostridium Botulinum*. Des études récentes ont démontrées une forte activité antifongique contre des souches fongiques dont *Aspergillus Niger*, *Penicillium species*, et *Colletotrichum Graminicola* (**Chung et al. 1998**).

### **I.2.3.3. Coumarines**

Les coumarines sont des métabolites secondaires représentés principalement dans les plantes, très répandues dans les Légumineuse, Rutacées, Apiécées et Thymeleacées. Ils constituent une classe importante de produits naturels, ils sont présents dans les fruits et les graines des plantes. Les coumarines peuvent être trouvé aussi dans les glandes à sécrétion odoriférante du castor et chez certains microorganismes (**Guignard, 1998 ; Deina et al., 2003 ; Hofmann, 2003 ; Booth et al., 2004**).

Les coumarines sont des phytoalexines, c'est-à-dire sont synthétisés en quantité élevée comme un mécanisme de défense contre les infections causées par des champignons ou par des bactéries mais sont stockés sous forme glycosylée pour éviter les effets toxiques de ces molécules (**Hofmann, 2003**).

#### **I.2.3.3.1. Activité antibactérienne des coumarines**

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, un potentiel antibactérien a été reporté pour certaines coumarines contre des bactéries à Gram positif. Une étude in vitro montre une activité antifongique contre *Saccharomyces cerevisiae* (**Cottiglia et al., 2001 ; Khan et al., 2005 ; Laure, 2005**).

## **I.2.4. Souches utilisées**

### **2.4.1. Notions sur les espèces étudiées**

La plupart des bactéries ont été étudiées à cause de leur pouvoir pathogène naturel et de leurs résistance naturel ou acquise à certains antibiotiques ce qui cause plusieurs problèmes d'infections et d'antibiothérapie.

## **I. 2.4.2. Bactéries Gram négatif**

### **I.2.4.2.1. *Escherichia coli***

C'est le germe principal de contamination fécale, c'est un commensal de l'intestin de l'homme et des animaux, Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin à raison de 10<sup>8</sup> par gramme de fèces. Leur mode physiopathologique est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la réduction d'entéro-toxines (**Leclerc et al. 1995**).

Les colibacilles sont des pathogènes opportunistes, certains pathotypes sont responsables d'infections intestinales sous forme de gastro-entérites et diarrhées, *Escherichia Coli* entéro-pathogène et *Escherichia Coli* entéro-toxinogène provoquent des diarrhées infantiles, l'invasion des cellules intestinales c'est le mécanisme pathologique spécifique d'*E. Coli* entéro-invasif, et *Escherichia Coli* entéro-hémorragique l'agent principale des diarrhées sanglantes. Certains écotypes sont responsables de méningites néonatales, des infections du tractus urinaire, ou encore des septicémies (**Leclerc et al. 1995**).

## **I.2.4.3. Bactéries Gram positif**

### **I. 2.4.3.1. *Staphylococcus***

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisins, ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, immobiles, non sporulés. Les *staphylocoques* sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme, sont des commensaux de la peau et les surfaces cutano-muqueuses des mammifères. Les *staphylocoques* sont des pathogènes opportunistes et



pyogènes par excellence, avec une haute fréquence en milieu hospitalier, plusieurs infections nosocomiales sont causées par *S.epidermidis* (Leclerc et al, 1995).

*Staphylococcus aureus* est l'espèce prédominante chez l'homme et les autres mammifères ; la cavité nasale de l'homme est sa niche préférentielle (Leclerc et al, 1995).

*Staphylococcus aureus* est responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses mais aussi osseuses sous forme d'ostéomyélite (Leclerc et al., 1995).

#### I.2.4.4. Propriétés des souches étudiées

Espèce	Gram	Forme	Caractères biologiques	Habitat	Pouvoir pathologique
<i>Staphylococcus</i> (Leclerc et al, 1995).	Positif	Sphériques. Forme de grappe de raisin.	Aérobies ou anaérobies facultatifs. Immobilés. Non sporulés. Germes ubiquistes.	Sont des commensaux de la peau et les surfaces cutano-muqueuses des mammifères.	Infections nosocomiales. Infections pyogènes de la peau et des muqueuses.
<i>Escherichia coli</i> (Leclerc et al, 1995).	Négatif	Bacilles.	Aérobie. Pathogènes opportunistes.	L'intestin de l'homme et des animaux.	Contamination fécale. Infections intestinales. Diarrhée infantiles. Diarrhées sanglantes. Méningites néonatales.

***ETUDE***

***EXPERIMENTALE***

***MATERIELS ET  
METHODES***

## MATERIELS ET METHODES

Notre présente étude a pour but d'évaluer in vitro quelques activités biologiques rattachées au genre *Lawsonia* et *Juglans*. A cet effet, une investigation phyto-chimique est réalisée sur les feuilles de *Lawsonia inermis* et les écorces de *Juglans regia*, afin d'extraire les métabolites secondaires responsables du pouvoir antioxydant, antibactérien et enzymatique.

Pour cela, un suivi des paramètres physico-chimiques et biologiques a été réalisé au niveau du laboratoire de Pharmacologie Toxicologie de l'Institut des sciences vétérinaires et au niveau du laboratoire de biochimie et de productions animales du Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine.

### 1. Matériel végétal

Le matériel utilisé dans notre étude est constitué de feuilles de *Lawsonia inermis* et des écorces de *Juglans regia*. La première plante a été recueillie au de niveau de la région de Biskra et la deuxième au niveau de la région de Constantine (Hamma Bouziane).

#### 1.1. Broyage et tamisage

Les feuilles de *Lawsonia inermis* et les écorces de *Juglans regia* ont été cueillies, nettoyées et débarrassées de la poussière et d'autres impuretés, puis séchées à l'ombre et dans un endroit bien aéré, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante pendant 15 jours pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur et à la lumière.

Après séchage, les feuilles et les écorces sont broyées à l'aide d'un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, la poudre ainsi obtenue, est utilisée pour la préparation des extrais aqueux.

Au cours de notre travail, nous nous sommes intéressés à évaluer les paramètres suivants :

- Extraits bruts obtenus par macération des feuilles de *Lawsonia inermis* et des écorces de *Juglans regia*.
- Evaluation de l'activité anti-oxydante, anti-alzheimir et antibactérienne des feuilles de *Lawsonia inermis* et de l'écorce de *Juglans regia*.

## 2. Méthode d'extraction

### 2.1. Macération et extraction

#### 2.1.1. Préparation du décocté aqueux

Une masse de 100 g de poudre végétale fine a été ajoutée à 1L d'eau distillée et le mélange est porté à ébullition pendant 15 minutes.

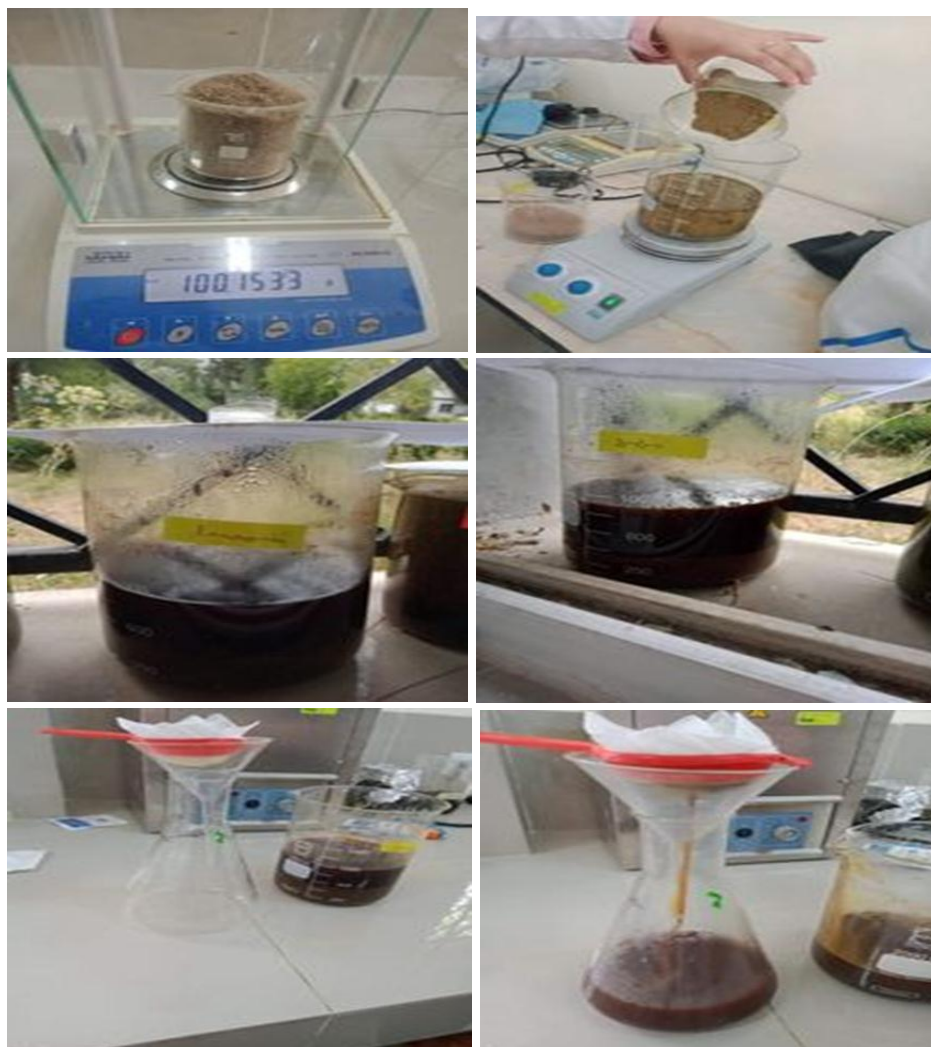


Figure 21 : Préparation du décocté aqueux

Après refroidissement, le produit de décoction (le mélange) a été essoré dans un carré de tissu propre. Puis filtrée successivement deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre (papier Whatman®3mm).



**Figure 22 : Filtration des extraits bruts**

Le filtrat obtenu a été ensuite séché lentement dans une étuve à 50°C pendant 72h. La poudre obtenue ou le décocté aqueux a été conservé dans un flacon stérile et sec.



**Figure 23 : Séchage des extraits aqueux**

### **3. Activités biologique de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia***

#### **3.1. Détermination du contenu total en polyphénols et en flavonoïdes**

##### **3.1.1. Contenu total flavonoïque (TFC)**

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre  $Al^{+3}$  et les flavonoïdes. La méthode de **Topçu et al. (2007)** est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

##### **- Préparation des produits**

Pour 1 M Potassium acétate ( $CH_3COOK$ ) on dissolvé 9.80 gramme de ( $CH_3COOK$ ) dans 100 ml d'eau distillée pour obtenir la solution (S1).

Pour 10% nitrate d'aluminium ( $Al(NO_3)_3, 9H_2O$ ) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

##### **- Préparation de l'extrait de plante**

Une masse de 1 milligramme d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution (S2).

On prend un volume de 50 µl d'extrait de plante (1 mg d'extrait de plante dissout dans 1 ml de méthanol) et ajouté à 10 µl de potassium acétate diluée, puis, un volume de 10 µl de potassium d'aluminium est ajouté selon l'équation suivante :

50 µl (S2) (extrait de plante) + 130 µl (MeOH) + 10 µl (S1) (CH<sub>3</sub>COOK) + 10 µl (Al(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 9H<sub>2</sub>O) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm.

. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50µl extrait + 150µl méthanol).

Le mélange est incubé pendant 45 min à température ambiante. La lecture est réalisée à 415 nm.

#### **-Préparation de la gamme d'étalon de la Quercétine ;**

On prend 1 mg de la Quercétine et on le dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2mg/ml Sm.

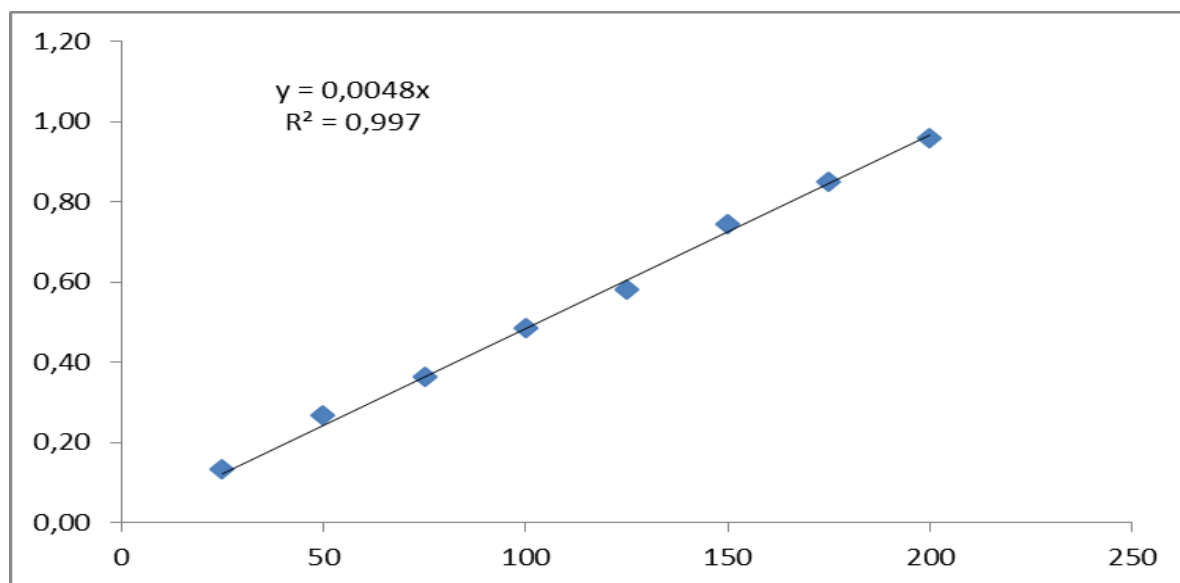
Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

**Tableau 01 : Les dilutions de la gamme d'étalon de la Quercétine**

<b>Dilutions</b>	<b>25µg/ml</b>	<b>50µg/ml</b>	<b>75µg/ml</b>	<b>100µg/ml</b>	<b>125µg/ml</b>	<b>150µg/ml</b>	<b>175µg/ml</b>	<b>200µg/ml</b>
<b>SM (µl)</b>	25	50	75	100	125	150	175	200
<b>Méthanol (µl)</b>	175	150	125	100	75	50	25	0

50 µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque à 96 puits, avec 130µl de méthanol (MeOH), 10µl de la solution 1(S1) et 10 µl de la solution 2 (S2).Attendre40 minutes puis effectuer la lecture à 415 nm.





**Figure 24 : La courbe d'étalonnage de la quercétine**

### 3.1.2. Contenu total phénolique (TPC)

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et al. (2010).

#### Préparation des produits :

##### -Préparation de Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7,5% :

7,5 gramme de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  et sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé.

##### -Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois :

1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée (9ml).

##### -Préparation de l'extrait de plante :

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de l'eau distillée (ou Méthanol).

Un volume de 20 $\mu\text{l}$  d'extrait de plante (1mg d'extrait dissout dans 1 ml de méthanol) est ajouté à 100 $\mu\text{l}$  de FCR dilué .Ensuite, un volume de 75 $\mu\text{l}$  de carbonate de sodium est ajouté selon l'équation suivante :

20  $\mu$ l d'extrait de plante + 100 $\mu$ l de FCR dilué (1 :10) + 75  $\mu$ l de carbonate de sodium (7,5%)

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

Le mélange est incubé dans l'obscurité pendant 2h. La lecture est réalisée à 765 nm.

**- Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique :**

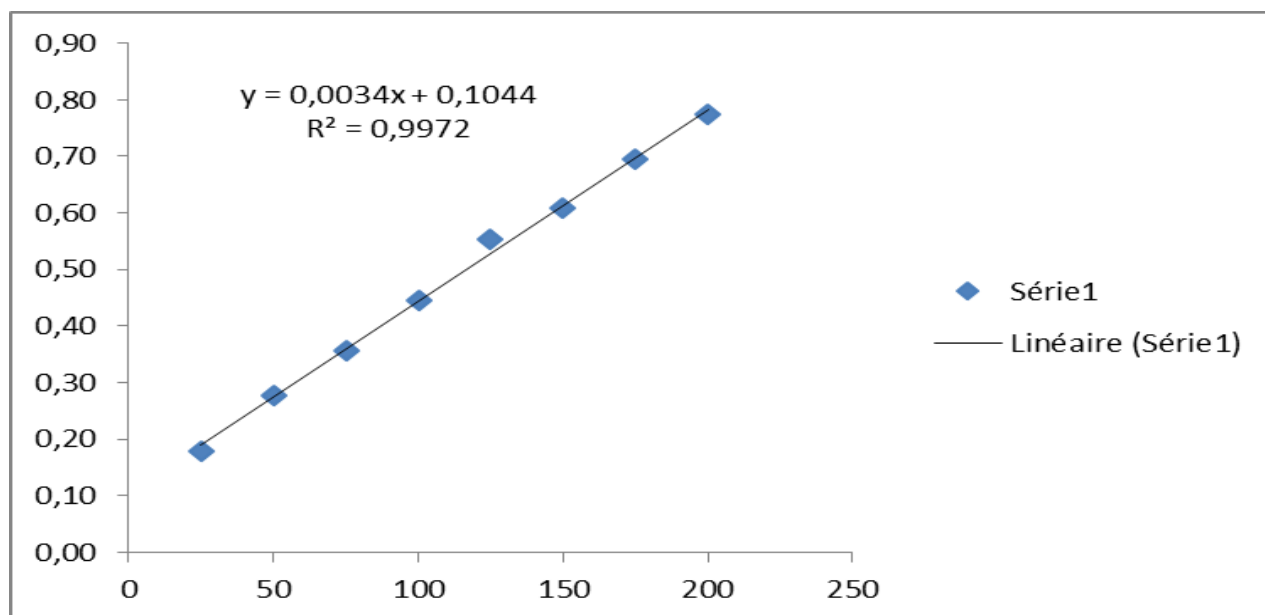
On prend une quantité de 0,5 mg de l'acide gallique qui est dissoute dans 5ml de méthanol pour obtenir la solution S1. Le tableau suivant représente les dilutions préparées pour la solution étalon.

Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

**Tableau 2 : Les dilutions de la gamme d'étalon de l'acide gallique**

Dilutions	25 $\mu$ g/ml	50 $\mu$ g/ml	75 $\mu$ g/ml	100 $\mu$ g/ml	125 $\mu$ g/ml	150 $\mu$ g/ml	175 $\mu$ g/ml	200 $\mu$ g/ml
SM ( $\mu$ l)	25	50	75	100	125	150	175	200
Méthanol ( $\mu$ l)	175	150	125	100	75	50	25	0

20 $\mu$ l de chaque dilution sont transférés dans une microplaque avec 100 $\mu$ l FCR (1:10) et 75 $\mu$ l de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5%). L'incubation dure 2 heures suivie par la lecture sur microplaque à 765nm.



**Figure 25 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

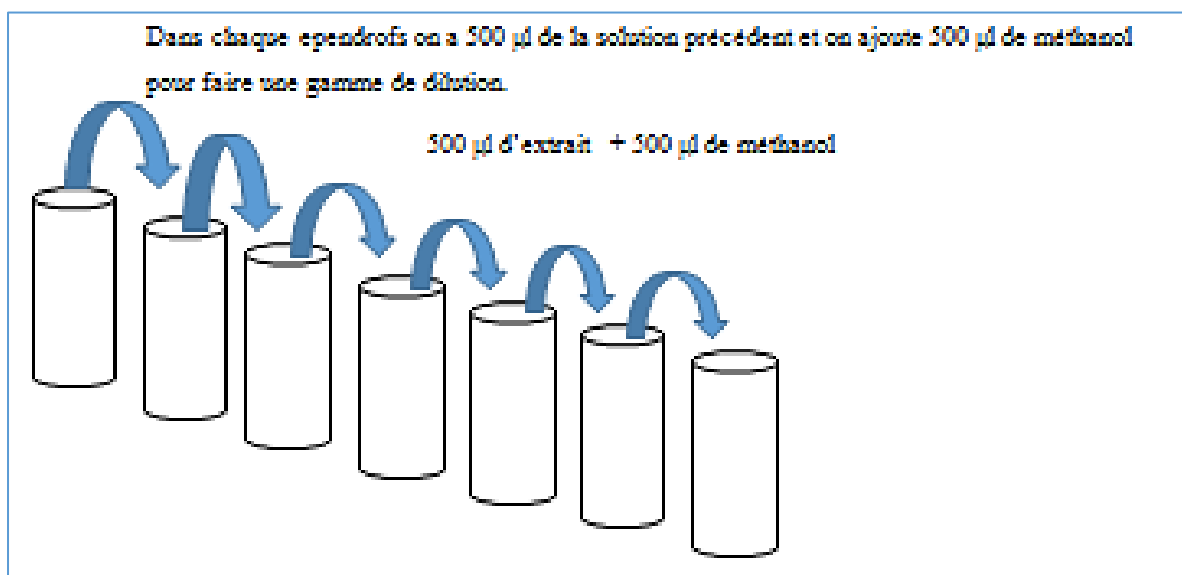
### 3.2. Activité anti-oxydante :

L'activité anti oxydante des extraits des feuilles de *Lawsonia inermis* et des écorces de *Juglans regia* est réalisée à l'aide de plusieurs méthodes :

- Piégeage du radical libre DPPH.
- Piégeage du cation radical ABTS.
- Pouvoir réducteur (FRAP) (Reducing power).
- Activité phénanthroline.

#### **-Préparation d'une gamme de dilution :**

On a pesé 1mg d'extrait et on le dissout dans 1ml de méthanol (solution mère)



**Figure 26 : Préparation d'une gamme de dilution d'extraits bruts**

### 3.2.1. Activité anti radicalaire au DPPH

La capacité des extraits à réduire les radicaux libres de la DPPH est déterminée par la méthode spectrophotométrie décrite par **Blois (1958)**.

Dans une microplaque à 96 puits, 40 $\mu$ l de l'extrait préparé à plusieurs concentrations (une masse de 1mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1ml de méthanol) a été mélangé avec une solution de 160  $\mu$ l du DPPH (0,7), cette étape est répétée 3 fois.

Le mélange est incubé pendant 20 min à l'abri de la lumière. Lecture par spectrophotomètre des microplaques et l'absorbance est mesurée à 517 nm.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

### 3.2.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS

L'activité d'élimination des radicaux libres des extraits de l'écorce *Juglans regia* et des feuilles de *Lawsonia inermis* est déterminée selon la méthode de **Reetal. (1999)**.

Dans une microplaque à 96 puits, 40µl de l'extrait préparé à plusieurs concentrations (une masse de 1mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1ml de méthanol) a été mélangé avec une solution de 160 µl de l'ABTS, cette étape est répétée 3 fois. Le mélange est incubé pendant 10min à l'abri de la lumière. Lecture par spectrophotomètre des microplaques et l'absorbance est mesurée à 734 nm.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

### 3.2.3. Pouvoir réducteur (FRAP) (Reducing power)

L'activité Reducing power est déterminée par la méthode d'Oyaizu (1986) avec une légère modification.

#### -Préparation des produits

- Potassium ferricyanide (1%)  $K_3Fe(CN)_6$  : 1g de  $K_3Fe(CN)_6$  dans 100 ml  $H_2O$
- Tri-chloro acide acétique (TCA) (10%) : 1 g de TCA dans 10 ml  $H_2O$
- 10 µl ferrique chloride  $FeCl_3$  (0.1%) : 0,1 g de  $FeCl_3$  dans 100 ml  $H_2O$

Dans une microplaque à 96 puits, 10µl de l'extrait préparé à plusieurs concentrations (une masse de 1mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1ml de méthanol) a été mélangé avec une solution de 40 µl phosphate buffer (pH 6.6) et 50 µl potassium ferricyanide (1%), cette étape est répétée 3 fois. Le mélange est incubé à 50°C pendant 20mn, ensuite on ajoute 50 µl tri-chloro acide acétique (TCA) (10%) et 40 µl  $H_2O$  + 10 µl ferrique chloride  $FeCl_3$  (0.1%). lecture à 700 nm.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

### 3.2.4. Activité phénanthroline

L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de **Szydłowska-Czerniaka (2008)**.

#### -Préparation des produits :

- Phénanthroline (0.5%) : 0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH
- Ferric chloride  $\text{FeCl}_3$  (0.2%) : 0.02g de  $\text{FeCl}_3$  dans 10ml de  $\text{H}_2\text{O}$

Dans une microplaque à 96 puits, 10 $\mu\text{l}$  de l'extrait préparé à plusieurs concentrations (une masse de 4mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1ml de méthanol) a été mélangé avec une solution de 50  $\mu\text{l}$  de Ferric chloride  $\text{FeCl}_3$  et 30  $\mu\text{l}$  Phénanthroline (0.5%) plus 110 $\mu\text{l}$  de méthanol cette étape est répétée 3 fois. lecture à 510 nm.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

### 3.3. Activité de l'acétylcholine estérase

Dans une microplaque à 96 puits, 10 $\mu\text{l}$  de l'extrait préparé à plusieurs concentrations (une masse de 4mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1ml de méthanol) a été mélangé avec une solution de 20  $\mu\text{l}$  d'enzyme et 10 $\mu\text{l}$  de tampon, cette étape est répétée 3 fois.

Incubation à l'obscurité pendant 15min à 25°C, ensuite on ajoute 10  $\mu\text{l}$  DTNB plus 10  $\mu\text{l}$  d'ACI (substrat), lecture en T0, puis incubation pendant 15min et faire une autre lecture en T15.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

### 3.4. Activité Antibactérienne

#### 3.1. Méthode

L'évaluation de l'activité bactérienne des extraits bruts aqueux de *Juglans regia* et *Lawsonia inermis* a été réalisé vis-à-vis de deux souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* et *Esherichia Coli* provenant du laboratoire de microbiologie de l'université de Skikda.

Les deux souches utilisées sont :

- ✓ **Bactéries à Gram négatif:** *Escherichia coli* : souche de référence (ATCC 25922) isolée de d'examen cytobactériologique urinaire ECBU.
- ✓ **Bactéries à Gram positif :** *Staphylococcus aureus* : souche de référence (ATCC 25923) isolée à partir d'une plaie de diabétique.

Pour étudier l'activité antibactérienne des extraits aqueux bruts obtenus, on a choisi la méthode de diffusion sur disques, appelée aussi méthode de Vincent ou technique de l'aromatogramme mise au point par Schroeder et Messing en 1949 et cité par (**Rhayour, 2002**). Dans cette méthode, on a utilisé des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre, imprégnés par un volume connu de l'extrait brut à évaluer et déposés à la surface d'un milieu gélosé (Agar de Muller Hinton « AMH »), préalablement ensemencé par écouvillonnage en surface par la suspension bactérienne. Après incubation pendant 24 h à 37° C, la lecture des résultats a été faite par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm (**Ponce et al., 2003**). L'activité anti bactérienne des extraits des feuilles de *Lawsonia inermis* et des écorces de *Juglans regia* est réalisée à l'aide de plusieurs étapes :

#### **a- Repiquage des souches bactériennes**

Les souches bactériennes à tester ont été repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive, puis incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir des colonies isolées.



Figure 27 : Isolements des souches bactériennes choisies



### b- Préparation de l'inoculum

Des colonies bien séparées des souches bactériennes étudiées ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et homogénéisées dans 5 ml d'eau physiologique.



Figure 28 : Préparation de l'inoculum

### c- Préparation des milieux de culture

La gélose de **Muller Hinton** est coulée et répartie dans des boîtes de pétri stériles. Ces dernières sont séchées pendant 30 min à une température ambiante avant leur emploi.

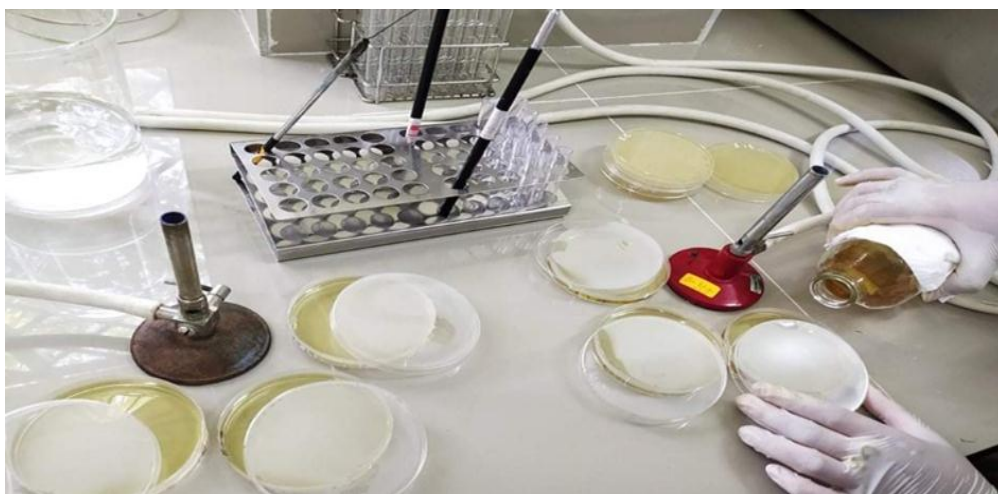


Figure 29 : Préparation des milieux de culture

**d- Ensemencement**

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage en stries serrées. En tournant la boîte d'environ 60°, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur les boîtes.



**Figure 30 : Ensemencement des souches bactériennes choisies**

# ***RESULTATS ET DISCUSSION***

## RESULTATS ET DISCUSSION

Dans la présente partie, nous présenterons et traiterons les résultats obtenus de l'étude de l'activité biologique des extraits bruts de plantes *Juglans regia* et *Lawsonia inermis*.

Il s'agit de l'étude phyto-chimique des écorces de *Juglans regia* et les feuilles de *Lawsonia inermis*. Ceci dans le but d'extraire les métabolites secondaires et l'analyse quantitative par dosages colorimétriques ainsi que l'évaluation de l'activité anti-oxydante, anticholinestérase et de l'activité antibactérienne.

### 1. Le rendement de l'extraction

La mesure d'un rendement de l'extrait est une étape importante dans le but de savoir la quantité et le pourcentage d'extrait obtenus par une extraction.

Le rendement est le rapport entre le poids de l'extrait sec (après l'évaporation) exprimé en g et le poids de l'échantillon initial (poudre végétale en g) qui est exprimé en pourcentage par la formule suivante :  $\% \text{ Rendement} = (Pa - Pv) / (Pe \times 100)$

**Pa** : Poids de ballon contenant l'extrait (g).

**Pv** : Poids de ballon Vide (g).

**Pa-Pv** : Poids de l'extrait sec (g).

**Pe** : Poids de l'échantillon (poudre végétale)(g).

**Tableau 3 : Rendement des extraits des deux plantes**

	<i>Juglans Regia</i>	<i>Lawsonia Inermis</i>
<b>Poids de l'échantillon (g)</b>	100	100
<b>Poids du ballon vide (g)</b>	295.81	115
<b>Poids de l'extrait sec (g)</b>	301.3	120
<b>Rondement (%)</b>	5.49	5

Le tableau ci-dessus représente les rendements massiques des extraits bruts aqueux de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*.

A l'observation du tableau 3 nous remarquons que les rendements de chaque plante : *Lawsonia inermis* et *Juglans regia* sont presque similaires.

## 2. Détermination du contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes

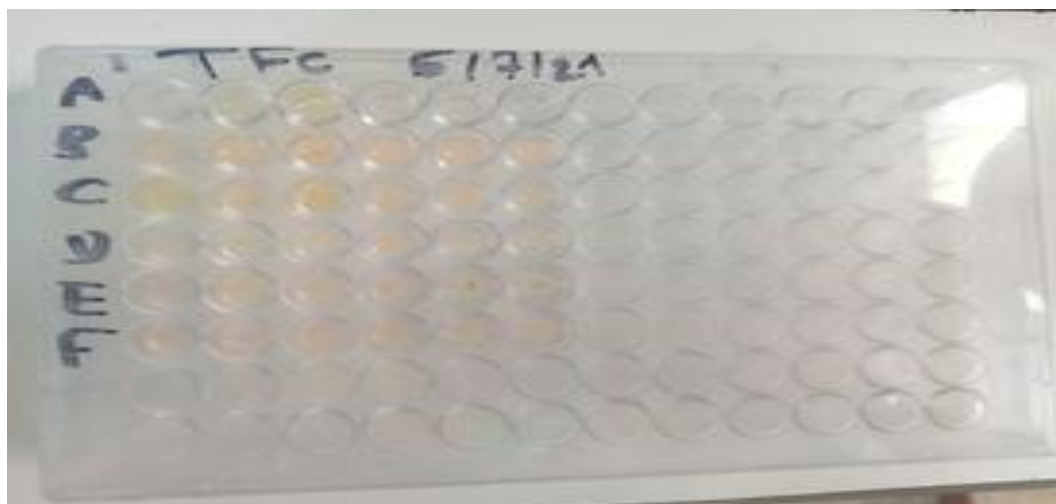
Le dosage quantitatif en polyphénols et en flavonoïdes des extraits de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia* réalisées par deux méthodes respectives : la méthode de Folin-Ciocalteu (FCR) et la méthode de trichlorure d'aluminium.

**Tableau 4 : Le contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes des extraits**

Extrait aqueux	Total phénolique ( $\mu\text{g GAE/mg}$ )	Flavonoïde ( $\mu\text{g QE/mg}$ )
<i>Juglans regia</i>	300,96 $\pm$ 24,56	161,59 $\pm$ 57,59
<i>Lawsonia inermis</i>	146,25 $\pm$ 5,18	51,73 $\pm$ 17,08

### Dosage des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en  $\mu\text{g}$  d'équivalent de la quercétine par mg de poids sec de l'extrait ( $\mu\text{g EQ/mg PS}$ ). Les résultats de ces deux méthodes sont regroupés dans le tableau 4 suivant :



**Figure 31 : Plaque de dosage des flavonoïdes des extraits *Lawsonia inermis* et *Juglans regia* (C : *Juglans*, D : *Lawsonia*)**

On observe dans le tableau (4), les valeurs de variation de la teneur en flavonoïdes par les extraits aqueux des écorces de *Juglans regia* et les feuilles de *Lawsonia inermis* sont de l'ordre de  $(161,59 \pm 57,59)$  et  $(51,73 \pm 17,08)$ .

D'après le tableau (4) représentant la variation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits bruts et des fractions des extraits aqueux. Les résultats du dosage des flavonoïdes sont obtenus par extrapolation de l'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage de la quercétine. On remarque que la teneur des flavonoïdes de l'extrait des écorces de *Juglans regia*  $(161,59 \pm 57,59)$  est inférieure à celle des feuilles de *Lawsonia inermis*  $(51,73 \pm 17,08)$ .

les feuilles de *Lawsonia inermis* riches en flavonoïdes et contiennent plus de teneur en flavonoïdes par rapport à la teneur des écorces de *Juglans regia*.

Dans une autre étude récente, la teneur totale en flavonoïdes de l'extrait de *Juglans regia* varie de  $(9,76 \pm 0,23)$  (Rusu, M.2018), qui est supérieure par rapport à nos résultats  $(161,59 \pm 57,59)$ , aussi dans une autre recherche, la teneur totale en flavonoïdes de l'extrait de feuille de noix variait de 5,52 à 28,48 mg QE /g (Shah, U.N.2018).en recherchant *Prunus domestica* leaves, ont trouvé des valeurs de TFC comprises entre  $(36,60 \pm 2,90)$  et  $(60,32 \pm 4,12)$  mg d'extrait de feuilles qE /g (Mocan, A.).

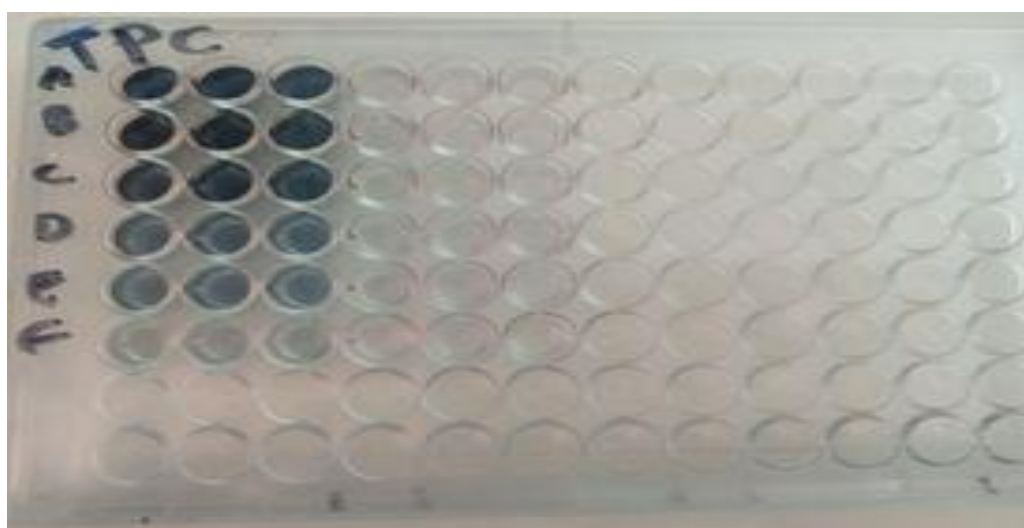
Cependant, une comparaison objective entre les résultats est très difficile, en raison de matrices et de protocoles d'extraction différents.

Par comparaison, On constate que la plante de *Lawsonia inermis* de la région de Chenin Gabés (Sud Est de la Tunisie) a une teneur en flavonoïdes ( $20.5 \pm 1.4$ ) proche de notre recherche ( $51,73 \pm 17,08$ ) (Enneb, H.2015).

## 2.2. Dosage des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu (FCR)

Cette méthode été utilisée pour la détermination du contenu total des polyphénols. L'acide gallique a été utilisé comme étalon et les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage. L'équation suivante détermine la teneur en polyphénols totaux (exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique par mg du poids d'extrait ou  $\mu\text{g}$  GAE/mg d'extrait) :  $y=0,0034x+0,1044$  avec  $R^2=0,9972$

La quantité des polyphénols a été rapportée en  $\mu\text{g}$  d'équivalent de l'acide gallique par mg de poids sec de l'extrait ( $\mu\text{g}$  EQ/mg PS). Les résultats de ces deux méthodes sont regroupés dans le tableau 4 suivant :



**Figure 32 : Plaque de dosage des polyphénols (TPC) des extraits *Lawsonia inermis* (D) et *Juglans regia* (C)**

On observe dans le tableau (4), les valeurs de variation de la teneur en polyphénols par les extraits aqueux des écorces de *Juglans regia* et les feuilles de *Lawsonia inermis* sont de l'ordre de ( $300,96 \pm 24,56$ ) et ( $146,25 \pm 5,18$ ).

D'après le tableau (4) représentant la variation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits bruts et des fractions des extraits aqueux. Les résultats du dosage des polyphénols sont obtenus par extrapolation de l'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. On remarque que la teneur des polyphénols de l'extrait des écorces de *Juglans regia* ( $300,96 \pm 24,56$ ) est inférieure à celle des feuilles de *Lawsonia inermis* ( $146,25 \pm 5,18$ ).

On observe aussi que les résultats de la variation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits bruts et des fractions des extraits aqueux montrent que les écorces de *Juglans regia* sont plus riches en flavonoïdes qu'en polyphénols. Les feuilles de *Lawsonia inermis* sont aussi riches en flavonoïdes qu'en polyphénols.

Dans une autre étude récente, la teneur en polyphénols de l'extrait de *Juglans regia* variait de ( $31,27 \pm 5,24$ ) qui est supérieure par rapport à nos résultats ( $300,96 \pm 24,56$ ). (**Rusu, M. 2018**).

En comparant les résultats obtenus avec les résultats d'une autre recherche réalisée sur la même plante *Lawsonia inermis* (récoltés de Chenin Gabés (Sud Est de la Tunisie)

On constate que la plante *Lawsonia inermis* de la région de Chenin Gabés (Sud Est de la Tunisie) renferme plus de polyphénols ( $20,61 \pm 1,71$ ), que celle de notre recherche de la région de Biskra ( $146,25 \pm 5,18$ ). (**Enneb, H.2015**).

### 3. Les activités biologiques

#### 3.1. Activité anti-radicalaire au DPPH

Le dosage au 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle est l'un des plus largement utilisés. .( **Musa, K.2016**)

Activité anti-radicalaire au DPPH à concentration inhibitrice  $CI_{50}$  est inversement proportionnelle à la capacité anti-oxydante d'un composé. Elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre DPPH à 50 %. Ceci en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune.



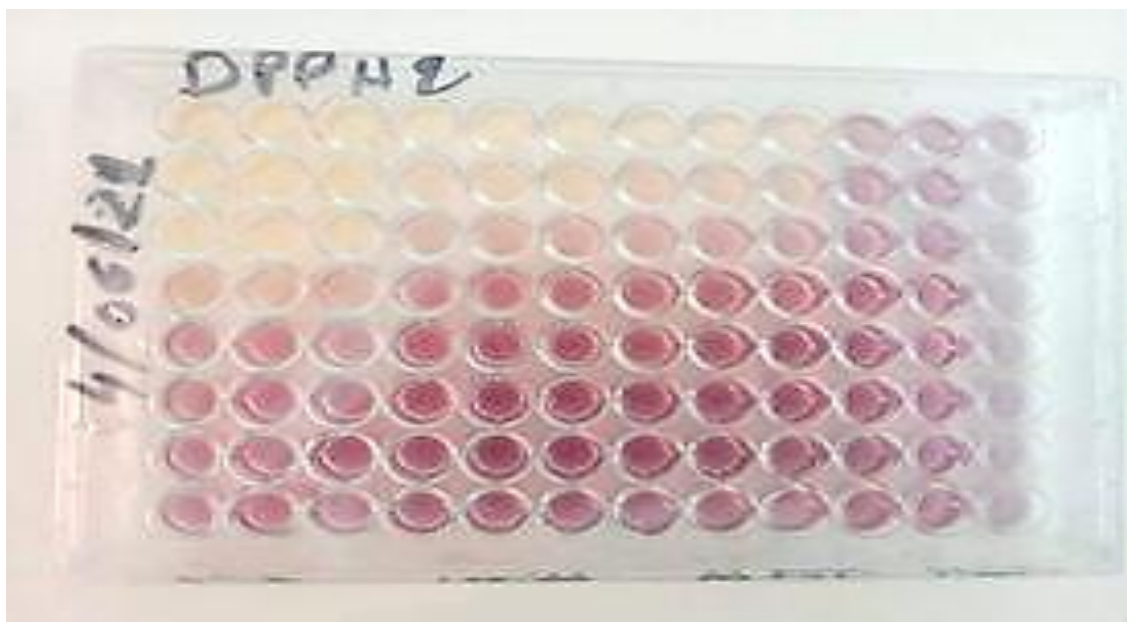


Figure 33 : plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH) des extraits de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*

Les résultats de l'activité anti-radicalaire au DPPH sont comparés aux standards Trolox et acide ascorbique. Les résultats sont représentés dans le tableau (5) suivant :

Tableau 5 : Valeurs des CI50 du test DPPH pour les extraits bruts de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*

Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) Extraits et standards	Inhibition %							$A_{0.5}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
<i>Juglans regia</i>	4,49 $\pm$ 3,16	4,61 $\pm$ 0,31	16,80 $\pm$ 2,64	43,95 $\pm$ 1,43	80,51 $\pm$ 0,27	Saturation	Saturation	29,12 $\pm$ 0,81
<i>Lawsonia inermis</i>	Na	Na	Na	13,50 $\pm$ 2,14	36,41 $\pm$ 3,85	69,44 $\pm$ 1,51	78,04 $\pm$ 1,48	70,32 $\pm$ 2,37
Trolox	6.42 $\pm$ 0.91	13.33 $\pm$ 2.14	30.19 $\pm$ 0.67	61.48 $\pm$ 2.98	87.16 $\pm$ 0.28	88.46 $\pm$ 0.11	87.72 $\pm$ 0.47	5.12 $\pm$ 0.21
Acide ascorbique	0.31 $\pm$ 1.02	12.90 $\pm$ 0.28	29.69 $\pm$ 0.39	76.67 $\pm$ 0.37	84.94 $\pm$ 0.84	87.78 $\pm$ 0.49	86.36 $\pm$ 0.21	4.39 $\pm$ 0.01

Na : Pas d'absorbance, Pas d'activité

On observe dans le tableau (5), les valeurs d'inhibition du radical DPPH (IC50) par les extraits aqueux des écorces de *Juglans regia* et les feuilles de *Lawsonia inermis* sont de l'ordre de 29,12 $\pm$ 0,81 et 70,32 $\pm$ 2,37.

Ont manifesté respectivement une activité anti-radicalaire au DPPH (CI50) de l'extrait de *Juglans regia* plus forte que celle de l'extrait de *Lawsonia inermis*. D'après les valeurs des IC50 du test DPPH pour les extraits des écorces de *Juglans regia* et les feuilles de *Lawsonia inermis*, on constate que l'extrait de *Juglans regia* a un IC50 supérieure presque 3 fois ( $29,12 \pm 0,81$ ) à celle de l'extrait de *Lawsonia inermis* ( $70,32 \pm 2,37$ ).

Les valeurs des IC50 du test DPPH pour l'extrait des écorces de *Juglans regia* ( $29,12 \pm 0,81$ ) est inférieure à celle des standards Trolox et acide ascorbique ( $5,12 \pm 0,21$ ) ( $4,39 \pm 0,01$ ).

Cette activité est presque 5 fois plus faible que celle des standards. Donc, ces valeurs des IC50 du test DPPH des écorces de *Juglans regia* représentent une activité anti radicalaire modérée.

Les valeurs des IC50 du test DPPH pour l'extrait des feuilles de *Lawsonia inermis* ( $70,32 \pm 2,37$ ), inférieure à celle de standard trolox ( $5,12 \pm 0,21$ ) et aussi à celle de standard acide ascorbique ( $4,39 \pm 0,01$ ), ont manifesté respectivement une activité anti-radicalaire au DPPH (CI50) inférieure à celle des deux standards, donc cette activité est 10 fois plus faible à celle de trolox et acide ascorbique.

Alors, ces valeurs des IC50 du test DPPH les feuilles de *Lawsonia inermis* indiquant une activité anti radicalaire modérée.

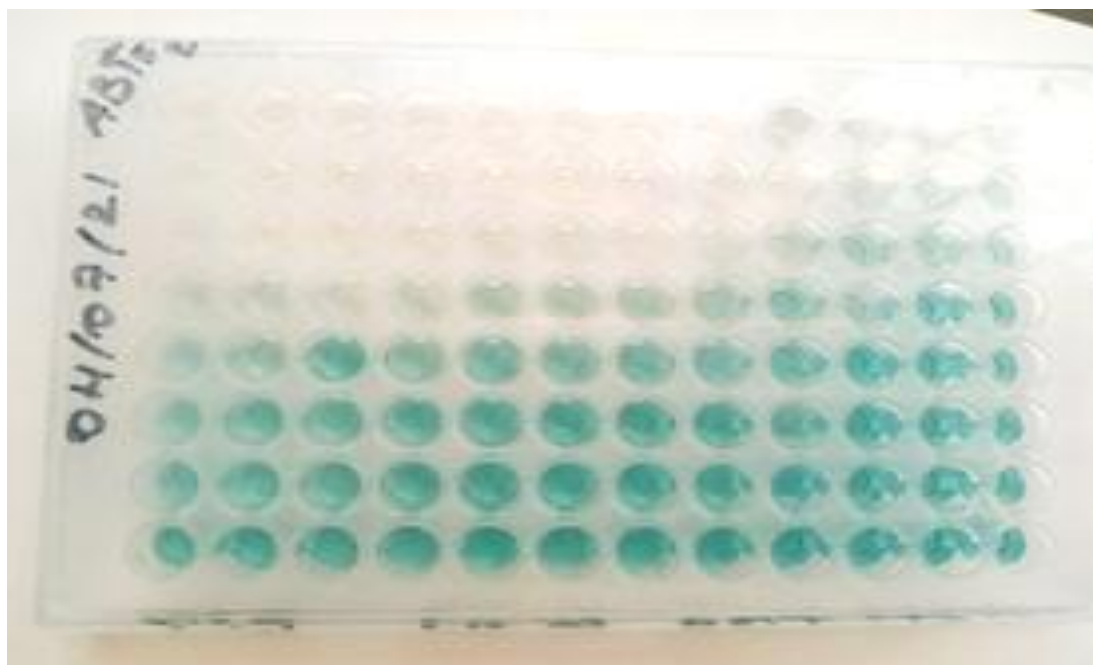
En comparant les résultats obtenus avec les résultats d'une recherche ultérieure réalisée sur la même plante de *Juglans regia*, on constate que nos résultats sont plus significatifs.

Notre extrait a une activité anti radicalaire au DPPH supérieure ( $29,12 \pm 0,81$ ) à celle avancée par (Nabavi, S.2011). ( $674 \pm 27,6$ ).

Par comparaison avec d'autre variété de la même plante *Lawsonia inermis*, nos résultats ( $70,32 \pm 2,37$ ) sont en accord avec les résultats retrouvés par (Enneb, H.2015), qui a rapporté que l'activité anti radicalaire au DPPH de l'extrait de *Lawsonia inermis* est de ( $67,67 \pm 5,48$ ).

### 3.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS

L'ABTS ou acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique est un composé organique stable utilisé dans l'évaluation de l'activité anti radicalaire.  $ABTS^{\bullet+}$  réagit avec l'antioxydant et passe de la couleur bleu-vert à un état incolore.



**Figure 34 : plaque de dosage du cation radical ABTS des extraits *Lawsonia inermis* et *Juglans regia***

Cette transformation est suivie par la mesure de l'absorbance à 734 nm et la détermination de la concentration inhibitrice des différents extraits en comparaison avec les standards Trolox et acide ascorbique. Les résultats sont représentés dans le tableau (6) suivant :

**Tableau 6 : Valeurs des CI50 du test ABTS pour les extraits bruts *Lawsonia inermis* et *Juglans regia***

Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) Extraits et standards	Inhibition %							$A_{0,5}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
<i>Juglans regia</i>	11,43 $\pm$ 3,67	25,69 $\pm$ 1,59	44,32 $\pm$ 2,17	70,16 $\pm$ 1,19	89,56 $\pm$ 0,21	90,93 $\pm$ 0,27	Saturation	15,22 $\pm$ 0,87
<i>Lawsonia inermis</i>	13,46 $\pm$ 0,72	18,35 $\pm$ 2,42	25,75 $\pm$ 0,83	45,93 $\pm$ 1,24	72,66 $\pm$ 1,76	90,81 $\pm$ 0,27	Saturation	28,82 $\pm$ 1,25
Trolox	14,74 $\pm$ 0,37	26,15 $\pm$ 0,65	51,70 $\pm$ 1,51	89,72 $\pm$ 0,67	92,89 $\pm$ 0,19	92,89 $\pm$ 0,19	91,84 $\pm$ 1,19	3,21 $\pm$ 0,06
Acide ascorbique	13,43 $\pm$ 0,82	28,76 $\pm$ 0,67	52,94 $\pm$ 0,94	93,21 $\pm$ 0,11	93,08 $\pm$ 0,19	92,40 $\pm$ 0,88	92,96 $\pm$ 0,11	3,04 $\pm$ 0,05

On observe dans le tableau (6), les valeurs d'inhibition du radical ABTS (IC50) par les extraits aqueux des écorces de *Juglans regia* et les feuilles de *Lawsonia inermis* sont de l'ordre de (15,22 $\pm$ 0,87) et (28,82 $\pm$ 1,25).

Ont manifesté respectivement une activité anti-radicalaire au l'ABTS (CI50) de l'extrait de *Juglans regia* plus forte que celle de l'extrait de *Lawsonia inermis*. D'après les valeurs des IC50 du test ABTS pour les extraits des écorces de *Juglans regia* et des feuilles de *Lawsonia inermis*, on constate que l'extrait de *Juglans regia* a un IC50 supérieur presque 2 fois (15,22 $\pm$ 0,87) à celui de l'extrait de *Lawsonia inermis* (28,82 $\pm$ 1,25).

Les valeurs des IC50 du test ABTS pour l'extrait des écorces de *Juglans regia* (15,22 $\pm$ 0,87) est inférieure à celle des standards Trolox et acide ascorbique (3,21 $\pm$ 0,06) (3,04 $\pm$ 0,05).

Cette activité est presque 5 fois plus faible que celle des standards. Donc, ces valeurs des IC50 du test ABTS des écorces de *Juglans regia* représentent une activité anti radicalaire modérée.

Les valeurs des IC50 du test ABTS pour l'extrait des feuilles de *Lawsonia inermis* (28,82 $\pm$ 1,25), inférieure à celle de standard trolox (3,21 $\pm$ 0,06) et aussi à celle de standard acide ascorbique (3,04 $\pm$ 0,05), ont manifesté respectivement une activité anti-radicalaire au ABTS (CI50) inférieure à celle des deux standards, donc cette activité est 10 fois plus faible à celle de trolox et acide ascorbique.

Alors, ces valeurs des IC50 du test ABTS des feuilles de *Lawsonia inermis* indiquant une activité anti radicalaire modérée.

Par comparaison avec d'autre variété de la même plante *Juglans regia*, nos résultats ( $15,22 \pm 0,87$ ) sont inférieurs à ceux avancés par (Bhatia, K.2006) ( $0.700 \pm 0.020$ ).

Par comparaison avec d'autre variété de la même plante *Lawsonia inermis*, nos résultats ( $28,82 \pm 1,25$ ) sont inférieurs à ceux rapportés par (Chaibi, R.2017). ( $3.0 \pm 1.6$ ).

### 3.3. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) repose sur la capacité des antioxydants à réduire le fer (III) en fer (II). L'évaluation est basée sur la réaction de réduction du ( $Fe^{+3}$ ) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en ( $Fe^{+2}$ ), la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique ( $Fe^{+3}$ ) en couleur bleu vert du fer ferreux ( $Fe^{+2}$ ). (Jones, A.2017), (Li, H.B.2008), (Amarowicz, R.2008).

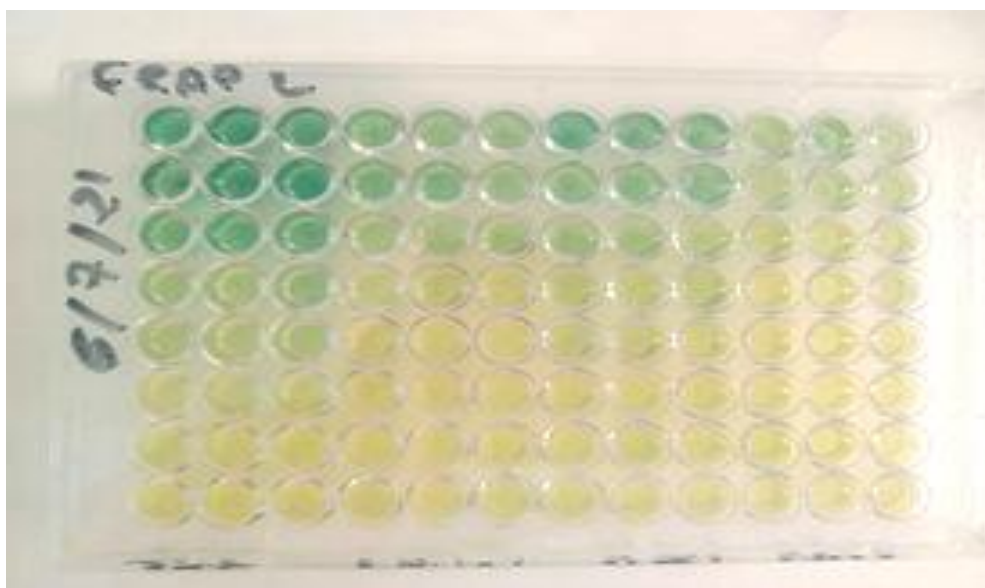


Figure 35 : plaque de dosage du pouvoir réducteur (FRAP) des extraits aqueux de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*

L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre à 700 nm. Le test FRAP est appliqué à une large gamme d'antioxydants, mais sa vitesse de réaction et son rendement final peuvent varier pour chaque composé antioxydant. (Jones, A.2017), (Li, H.B.2008), (Amarowicz, R.2008). Les résultats sont représentés dans le tableau (7) :

**Tableau 7 : Valeurs des A0.5 du test FRAP pour les extraits bruts aqueux de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia***

Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) Extraits et standards	Inhibition %							$A_{0.5}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
<i>Juglans regia</i>	0,05 $\pm$ 0,00	0,07 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,00	0,15 $\pm$ 0,02	0,31 $\pm$ 0,04	0,58 $\pm$ 0,08	0,70 $\pm$ 0,03	92,99 $\pm$ 0,50
<i>Lawsonia inermis</i>	0,05 $\pm$ 0,00	0,05 $\pm$ 0,00	0,05 $\pm$ 0,00	0,07 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,06	0,22 $\pm$ 0,01	>200
Trolox	0,07 $\pm$ 0,00	0,08 $\pm$ 0,00	0,09 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,00	0,19 $\pm$ 0,02	0,28 $\pm$ 0,05	0,60 $\pm$ 0,04	5,25 $\pm$ 0,20
Acide ascorbique	0,07 $\pm$ 0,00	0,09 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,17 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,02	0,47 $\pm$ 0,03	0,79 $\pm$ 0,09	3,62 $\pm$ 0,29

On observe dans le tableau (7), les valeurs du pouvoir réducteur ( $A_{0.5}$ ) par les extraits aqueux des écorces de *Juglans regia* et les feuilles de *Lawsonia inermis* sont de l'ordre de (92,99 $\pm$ 0,50) et (>200).

Ont manifesté respectivement une activité du pouvoir réducteur ( $A_{0.5}$ ) de l'extrait de *Juglans regia* plus forte que celle de l'extrait de *Lawsonia inermis*. D'après les valeurs des  $A_{0.5}$  du test de pouvoir réducteur pour les extraits des écorces de *Juglans regia* et les feuilles de *Lawsonia inermis*, on constate que l'extrait de *Juglans regia* a une  $A_{0.5}$  supérieure (92,99 $\pm$ 0,50) à celle de l'extrait de *Lawsonia inermis* (>200).

Les valeurs des  $IC_{50}$  du test du pouvoir réducteur pour l'extrait des écorces de *Juglans regia* (92,99 $\pm$ 0,50) est inférieure à celle des standards Trolox et acide ascorbique (5,25 $\pm$ 0,20) (3,62 $\pm$ 0,29).

Cette activité est plus faible que celle des standards. Donc, ces valeurs des  $IC_{50}$  du test du pouvoir réducteur des écorces de *Juglans regia* représentent une activité anti radicalaire faible.

Les valeurs des  $A_{0.5}$  du test du pouvoir réducteur pour l'extrait des feuilles de *Lawsonia inermis* (>200), inférieure à celle de standard trolox (5,25 $\pm$ 0,20) et aussi à celle de standard acide ascorbique (3,62 $\pm$ 0,29), ont manifesté respectivement une activité du pouvoir réducteur ( $A_{0.5}$ ) inférieure à celle des deux standards, donc cette activité est 100 fois plus faible que celle de trolox et acide ascorbique.

Alors, ces valeurs des  $IC_{50}$  du test du pouvoir réducteur des feuilles de *Lawsonia inermis* indiquant une activité très faible de pouvoir réducteur.



Dans ce cas au lieu de préparer l'extrait de cette activité avec une masse de 1mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1ml de méthanol on le préparé avec une masse de 0.5mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1ml de méthanol.

En comparant les résultats obtenus avec les résultats d'une autre recherche réalisée sur la même plante de *Juglans regia* on constate que nos résultats sont mieux que l'autre étude.

Donc l'extrait de notre recherche à un pouvoir réducteur ( $92,99 \pm 0,50$ ) supérieur à celui de l'étude réalisée par (Rusu, M. 2018) ( $418,92 \pm 1067,94$ )

Par comparaison avec d'autre variété de la même plante *Lawsonia inermis*, nos résultats ( $>200$ ) sont inférieurs à ceux cités par (Nounah, I. 2017). ( $1,8 \pm 0,01$ ). Nos s'avèrent très faibles par rapport à cette recherche.

### 3.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe+2 phénantroline :

Le fer aqueux, sous sa forme ferreuse réduite (Fe+2), peut être déterminé par spectrophotométrie à partir de son complexe intensément coloré avec la 1,10-phénanthroline en solution acide (pH 3-4). (Belcher, R. 1973)

Seul le fer ferreux Fe(II) ou Fe<sup>2+</sup> forme un complexe stable avec l'orthophénanthroline et donne une couleur orangée. On nomme ce complexe ferroïne. (Belcher, R. 1973)

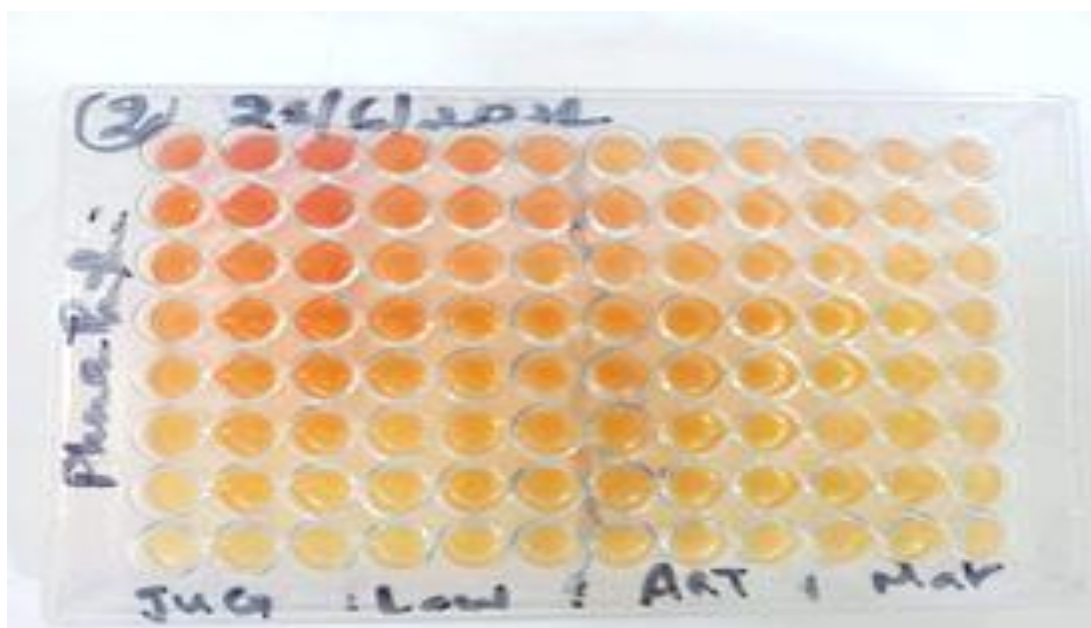


Figure 36 : plaque de dosage de réduction par la formation du complexe Fe+2 phénantroline des extraits aqueux de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*

Suite à une réaction d'oxydoréduction, un complexe Fe+2 phénantroline de couleur rouge-orangé est formé. Cette réduction est déterminée par la mesure de valeurs d'A0.5 des extraits des plantes et celles des standards Trolox et Acide ascorbique ce qui a permis d'obtenir les résultats suivants dans le tableau (8) suivant :

**Tableau 8 : Valeurs des A0.5 du test Fe+2 pour les extraits bruts aqueux de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia***

Concentration (µg/ml) Extraits et standards	Inhibition %							A <sub>0.5</sub> (µg/ml)
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
<i>Juglans regia</i>	0,33±0,02	0,42±0,00	0,65±0,03	0,93±0,09	1,44±0,12	2,33±0,14	3,42±0,20	8,50±0,21
<i>Lawsonia inermis</i>	0,31±0,31	0,33±0,00	0,39±0,00	0,49±0,01	0,69±0,04	0,93±0,08	1,51±0,36	25,90±1,27
Trolox	0.25±0.01	0.24±0.01	0.26±0.01	0.26±0.00	0.32±0.01	0.38±0.01	0.56±0.02	5.21±0.27
Acide ascorbique	0.26±0.01	0.29±0.00	0.29±0.02	0.31±0.01	0.37±0.01	0.50±0.00	0.80±0.00	3.08±0.02

On observe dans le tableau (8), les valeurs de la réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline (A0.5) par les extraits aqueux des écorces de *Juglans regia* et les feuilles de *Lawsonia inermis* sont de l'ordre de (8,50±0,21) et (25,90±1,27).

Ont manifesté respectivement une activité de réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline (A0.5) de l'extrait de *Juglans regia* plus forte que celle de l'extrait de *Lawsonia inermis*. D'après les valeurs des A0.5 du test de réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline (A0.5) pour les extraits des écorces de *Juglans regia* et les feuilles de *Lawsonia inermis*, on constate que l'extrait de *Juglans regia* a un A0.5 supérieure (8,50±0,21) à celle de l'extrait de *Lawsonia inermis* (25,90±1,27).

Les valeurs des A0.5 du test de réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline (A0.5), par la formation du complexe Fe+2-phénantroline (A0.5), pour l'extrait des écorces de *Juglans regia* (8,50±0,21) est proche de celle du standard Trolox et celle de l'acide ascorbique (5.21±0.27) (3.08±0.02).



A partir du Tableau (8) et la Figure (28), on peut déduire que l'extrait de *Juglans regia* montre que la réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline (A0.5) est le plus important ( $8,50 \pm 0,21$ ) par rapport à l' autre extrait, et le plus proche au deux standards.

Cette activité est la plus proche de celle des standards. Donc, ces valeurs des IC50 du test de réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline (A0.5) de *Juglans regia* représentent une activité excellente de la réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline.

Les valeurs des A0.5 du test de la réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline de l'extrait des feuilles de *Lawsonia inermis* ( $25,90 \pm 1,27$ ), inférieure à celle de standard trolox ( $5,21 \pm 0,27$ ) et aussi à celle du standard acide ascorbique ( $3,08 \pm 0,02$ ), ont manifesté respectivement une activité de réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline (A0.5) inférieure à celle des deux standards, donc cette activité est faible par rapport à celle de trolox et acide ascorbique.

Alors, ces valeurs des A0.5 du test du réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline des feuilles de *Lawsonia inermis* indiquant une activité modérée de la réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline.

En comparant les résultats obtenus avec les résultats d'une autre recherche réalisée sur la même plante de *Juglans regia* on constate que nos résultats ( $8,50 \pm 0,21$ ) sont proches des résultats de l'autre recherche ( $03,17 \pm 0,02$ ). (Mirzaei, A.2013).

### 3.5. Activité de l'acétylcholine estérase :

L'évaluation de l'activité enzymatique des extraits de *Juglans regia* et *Lawsonia inermis* a été réalisée par l'inhibition de l'enzyme Acétylcholine estérase.

Cette inhibition est déterminée par la mesure de valeurs d'IC50 des extraits des plantes et celles des standards Trolox et Acide ascorbique qui a permis d'obtenir les résultats suivants :

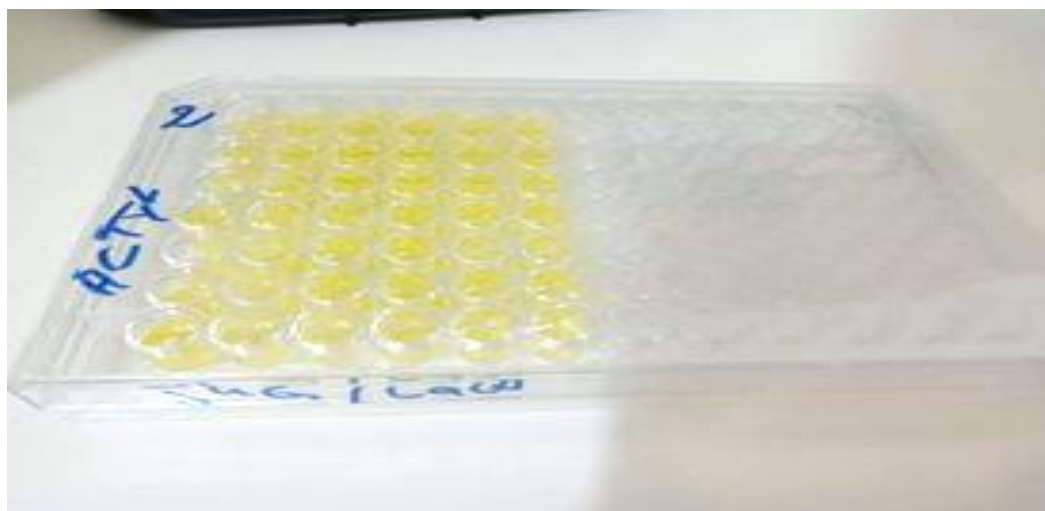


Figure 37 : plaque de dosage de l'acétylcholine estérase des extraits aqueux de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*

Tableau 9 : Valeurs des CI50 du test de l'acétylcholine estérase pour les extraits bruts aqueux de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*

Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) Extraits et standards	Inhibition %							$A_{0.5}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
<i>Juglans regia</i>	Na	Na	Na	Na	Na	Na	Na	Na
<i>Lawsonia inermis</i>	Na	Na	Na	Na	Na	Na	Na	Na
<b>Galanthamine</b>	35,93 $\pm$ 2,28	43,77 $\pm$ 0,00	68,50 $\pm$ 0,31	80,69 $\pm$ 0,41	85,78 $\pm$ 1,63	91,80 $\pm$ 0,20	94,77 $\pm$ 0,34	6.27 $\pm$ 1.15

Na : No Absorbance, Pas d'activité

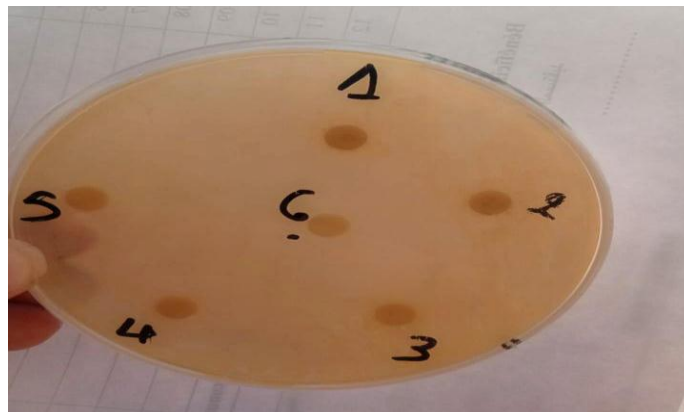
A partir du Tableau (9) qui présente le pourcentage d'inhibition de l'acétylcholine estérase, on remarque que les deux extraits étant inactifs pour les différentes concentrations (Na)

Donc, ils n'ont pas d'activité inhibitrice de l'acétylcholine estérase.

### Activité anti bactérienne

L'évaluation antibactérienne n'a révélé aucune activité. Les résultats obtenus montrent que les deux souches microbiennes testées s'avèrent résistantes aux deux extraits avec une zone

d'inhibition inférieur à 8mm, cela pourrait s'expliquer peut être par une contamination de celles-ci. Nos résultats obtenus sont représentés dans la figure et le tableau suivants



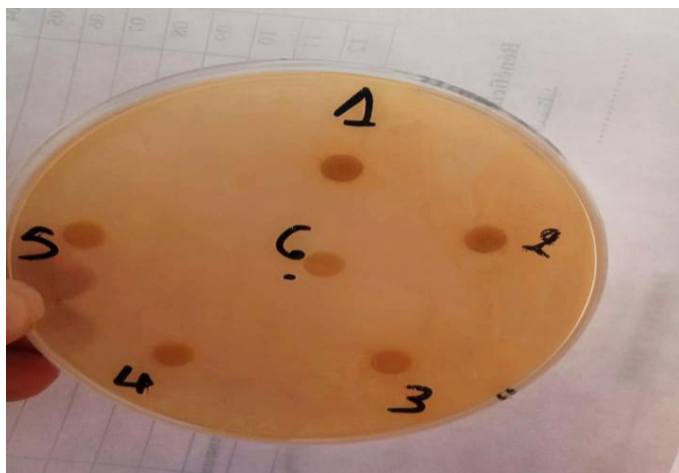
Extrait des écorces de <i>Juglans regia</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition
<i>E. Coli</i>	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition

l'expression des résultats se fait comme suit (Attala, Nabila.2019).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm
- Sensible (+) : diamètre compris entre 8 à 15mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 20 mm
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm

En comparant les résultats obtenus avec ceux de (Seghir birem, k.2015) obtenus lors de ses travaux réalisés sur la même plante *Juglans regia*, on constate que nos résultats sont en accord pour ce qui est de la souche *Staphylococcus aureus*. Contrairement à ceux rencontrés lors des tests réalisés sur la souche *Escherichia coli* Par (Boukhari, fayçal.2017) qui avance une activité nette pour cette souche.

Les résultats obtenus de l'extrait de *Lawsonia inermis* sont présentés dans la figure et le tableau suivant :



	Extrait des écorces de <i>Lawsonia inermis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition
<i>Escherichia coli</i>	(-) Ya pas d'une zone d'inhibition

En 2018, **Hettab benhassane H.** n'a obtenu aucun effet vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* et ceci lors de l'évaluation antibactérienne des extraits bruts de *Lawsonia inermis*, ce qui concorde avec nos résultats.

# ***CONCLUSION***

## CONCLUSION

A la lumière des résultats obtenus au cours de notre recherche, nous pouvons conclure que les extraits bruts aqueux récoltés à partir des feuilles de *Lawsonia inermis* et des écorces de *Juglans regia* constituent une bonne source d'antioxydants.

Cela est observé lors des résultats obtenus par l'évaluation des différentes activités antioxydantes ; à savoir le piégeage du radical libre DPPH ; le piégeage du cation radical ABTS ; le pouvoir réducteur (FRAP) et l'activité de réduction par la formation du complexe Fe<sup>+2</sup>-phenanthroline.

Nos plantes en l'occurrence *Lawsonia inermis* et *Juglans regia* ont manifesté une activité anti-radicalaire au DPPH (CI50), plus forte pour *Juglans regia* que pour *Lawsonia inermis*. L'activité anti radicalaire a été modérée pour les deux plantes, quant à l'activité anti-radicalaire au l'ABTS (CI50), *Juglans regia* a manifesté une plus forte activité que celle de l'extrait de *Lawsonia inermis*.

L'extrait brut de l'écorce de *Juglans regia* s'avère plus actif : il montre que la réduction par la formation du complexe Fe<sup>+2</sup>-phénantroline est plus importante par rapport à l'extrait de *Lawsonia inermis*. Egalement une activité excellente de la réduction par la formation du complexe Fe<sup>+2</sup>-phénantroline.

Cette activité antioxydante ne pourrait être due qu'à la présence importante des métabolites secondaires notamment les polyphénols, les flavonoïdes les stérols, les terpénoïdes, les coumarines, ainsi que d'autres molécules, avec une teneur accrue en flavonoïdes par rapport à la teneur en polyphénols.

Par conséquent, l'évaluation de l'activité enzymatique des extraits aqueux des feuilles *Lawsonia inermis* et de l'écorce de *Juglans regia* na donné aucun effet, donc l'activité inhibitrice de l'acétylcholine estérase est presque nulle pour nos deux plantes testées.

Le criblage de l'activité antimicrobienne réalisé par la méthode de diffusion sur milieu solide et effectué sur deux souches bactériennes pathogènes : *Staphylococcus aureus* et *Esherichia coli* n'a révélé aucun profil d'inhibition contre ces différentes souches Gram positif et Gram négatif.

Au terme de cette étude nous pouvons conclure que l'utilisation des plantes médicinales dans les domaines pharmaceutiques est d'un grand intérêt dans la recherche des molécules

---

bioactives qui sont à l'origine de plusieurs activités biologiques telles que l'activité antibactérienne et anti oxydante.

D'après nos résultats, nous pouvons avancer que *Lawsonia inermis* et *Juglans regia* riches en substances biologiquement actives, leurs conférant un grand intérêt pharmacologique.

Il serait intéressant

- D'approfondir les investigations phytochimiques et biologiques de ces plantes afin d'isoler les molécules responsables de cette activité observée, ce qui permettra d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes.
- D'évaluer les activités biologiques in vivo de ces deux plantes afin d'isoler les substances responsables des activités biologiques étudiées.

***REFERENCES***

***BIBLIOGRAPHIQUES***



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Benhassane, H. (2018). Evaluation du potentiel antimicrobien de *Lawsonia inermis* récoltés dans les régions de Touat et du Tidikel.
- Bhatia, Kanchan ; Rahman, Shakilur ; Ali, Mehboob ; Raisuddin, Sheikh (2006). In vitro, antioxidant activity of *Juglans regia* L. Bark extract and its protective effect on cyclophosphamide-induced urotoxicity in mice.
- Bruneton J., (1993). Pharmacognosie et Phytochimie des plantes médicinales. 2ème édition, Paris.
- Sabatier, S., Barthélémy, D., Ducouso, I., & Germain, É. (1998). Modalités d'allongement et morphologie des pousses annuelles chez le noyer commun, *Juglans regia* L.'Lara'(Juglandaceae). Canadian Journal of Botany.
- Seghir birem, K. (2014 / 2015). Etude phytochimique et biologique des extraits aqueux d'une plante médicinale « *Juglans regia* ».memoire de magister, Université de Mssila.
- Waterhouse AL.Determination of total phenolics.In ERE Wrolstad (ed), Current protocols in food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc., New York, app.2001.
- (Vanier P., (1999): Plantes médicinales.
- -Abbasi M. A. (2010). Investigation on the volatile constituents of *Juglans regia* and their in vitro antioxidant potential.Pakistan Acad. Sci.
- -Adouane, S. (2016). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Thèse de magistère, Université Biskra.
- -Adouane, S. (2016). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Thèse de magistère, Université Biskra.
- -Afolayan A. J. et Meyer J. J. (1997). The antimicrobial activity of 3,5,7-trihydroxyflavone isolated from the shoots of *Helichrysum aureonitens*. J. Ethnopharmacol.
- -Afzal, M., Al-Oriqual, G., Al-Hussan, J.M. and Mohammed, N. ; (1984). Isolation of 1,2-dihydroxy-4-glucosyloxynaphthalene from *Lawsonia inermis*. Heterocycle.
- -Aguilar Mendez, M. A. (2013). Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate (Doctoral dissertation).
- -Ait youssef, M., (2006). Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis press.
- -Almeida I.F. (2008). Walnut (*Juglans regia*) leaf extracts are strong scavengers of pro-oxidant reactive species.
- -Almeida IF, Fernandes E, Lima JLFC, Costa PC, Bahia MF., (2008). Walnut [*Juglans regia*] leaf extracts are strong scavengers of pro-oxidant reactive species.
- -Almeida, I. F., Fernandes, E., Lima, J. L., Costa, P. C., & Bahia, M. F. (2008). Walnut (*Juglans regia*) leaf extracts are strong scavengers of pro-oxidant reactive species. Food Chemistry.
- -Amarowicz, R., Estrella, I., Hernandez, T., Robredo, S., Troszynska, A., Kosinska, A., Pegg, R. (2010). Free radicals-scavenging capacity : antioxidant activity and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*).
- -Amarowicz, R., Estrella, I., Hernandez, T., Robredo, S., Troszynska, A., Kosinska, A., Pegg, R. (2010). Free radicals-scavenging capacity : antioxidant activity and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*).

- -AREF, M., & HEDED, M. (2015). Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf).
- -Athamena S., Chalghem A., Kassah-Laouar S.L. Et Khebri S. (2009) ; activite antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L.
- -Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
- -Belcher, R. (1973). "Application of chelate Compounds in Analytical Chemistry" Pure and Applied Chemistry.
- -Belcher, R. (1973). "Application of chelate Compounds in Analytical Chemistry" Pure and Applied Chemistry.
- -Bhardwaj, D.K., Jain, R.K., Jain, B.C. and Mehta, C.K.; (1978). 1-hydroxy-3,7 dimethoxy- 6- acetoxanthone, a new xanthone from *Lawsonia inermis*.
- -Blois M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature.
- -Bonhomme, M. (2019). Etude botanique de trois espèces de noyers, *Juglans regia*, *Juglans cinerea* et *Juglans nigra*, de leur composition chimique, de leur intérêt thérapeutique et de leur utilisation à l'officine (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- -Bonhomme, M. (2019). Etude botanique de trois espèces de noyers, *Juglans regia*, *Juglans cinerea* et *Juglans nigra*, de leur composition chimique, de leur intérêt thérapeutique et de leur utilisation à l'officine (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- -Bonhomme, M. (2019). Etude botanique de trois espèces de noyers, *Juglans regia*, *Juglans cinerea* et *Juglans nigra*, de leur composition chimique, de leur intérêt thérapeutique et de leur utilisation à l'officine (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- -Bonhomme, M. (2019). Etude botanique de trois espèces de noyers, *Juglans regia*, *Juglans cinerea* et *Juglans nigra*, de leur composition chimique, de leur intérêt thérapeutique et de leur utilisation à l'officine. Thèse de docteur en pharmacie, Université toulouse paul sabatier.
- -Bonhomme, M. (2019). Etude botanique de trois espèces de noyers, *Juglans regia*, *Juglans cinerea* et *Juglans nigra*, de leur composition chimique, de leur intérêt thérapeutique et de leur utilisation à l'officine. Thèse de docteur en pharmacie, Université toulouse paul sabatier.
- -Booth N.L., Dejan N., Richard B., et Stoci E. (2004). New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxycoumarin and their pharmacological activity.
- -Bouhadjera K, (2005). Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* r.br. Et *Aristida pungens* l. Thèse de doctorat, Université Alger.
- -Boukafla, R.(2013). Etude de l'efficacité antioxydante de la plante de henné *lawsonia Inermis* pour la région de Biskra, Université Kasdi merbah-Biskra.
- -Boukhari, F. (2017). Extraction et analyse de l'huile essentielle et des métabolites secondaires lourds de *Juglans regia* L." étude pharmacologique" (Doctoral dissertation).
- -Boukhari, F.,(2017).extraction et analyse de l'huile essentielle et des métabolites secondaires lourds de *Juglans Regia* ;Etude pharmacologique ,thèse de doctorat, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene.

- -Bouزيد, W. (2009). Etude de l'activité Biologique des extraits du fruit de *Crataegus monogyna* jacq (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
- -Bruneton J. (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 3ème édition, Lavoisier, Paris.
- -Bruneton J. (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 3ème édition, Lavoisier, Paris.
- -Bruneton J., (1987). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris, 1ère Edition Lavoisier.)
- -Bruneton J., (1987). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris, 1ère Edition Lavoisier.
- -Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and chemical toxicology.
- -Carvalho M. (2010). Human cancer cell antiproliferative and antioxidant activities of *Juglans regia* L. Food Chem. Toxicol.
- -Catherine Cartwright-Jones Ph, 2015: Ancient Sunrise® Henna for Hair,” Chapter 13, Henna and Your Health, Copyright © 2015, D, TapDancing Lizard LLC.
- -Chabbi, A., & Lemaire, G. (2008). Rôle des matières organiques des prairies dans le cycle de l'azote et impacts sur la qualité de l'eau. Fourrages.
- -Chaïbi, R., Drine, S. A. W. S. E. N., Ferchichi, A. (2017). Chemical study and biological activities of various extracts from *Lawsonia inermis* (Henna) seeds.
- -Chaïbi, R., Romdhane, M., Ferchichi, A., Bouajila, J., & Chaïbi, R. (2015). Assessment of antioxidant, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of Henna (*Lawsonia inermis*) flowers.
- -CHEM 334 Quantitative, Analysis Laboratory Spectrophotometric Determination of Iron.
- -Chiej, R. (1982). Les plantes médicinales. Solar.
- -Chung K.T., et Wei C.I. (1998). Are tannins a double edged sword in biology and health. Trends in Food Science et Technology.
- -Citoglu G.S., et Altanlar N. (2003). Antimicrobial activity of some plants used in folk medicine. J. Fac. Pharm. Ankara. Company, New York.
- -Coleman, T. (2010). Lectal variation in constructional semantics: “Benefactive” ditransitives in Dutch. In Advances in cognitive sociolinguistics. De Gruyter Mouton.
- -Cordell, G. A., (1981). Introduction to alkaloids, a biogenetic approach, John Wiley, New York.
- -Cottiglia F., Loy G., Garan D., Floris C., Casu M., Pompei R., et Bonsignore L. (2001). Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. Phytomedicine.
- -Dacosta Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris.
- -Daira, N., Maazi, M. C., & Chefrour, A. (2016). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) De l'Est Algérien. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.
- -Deina M., Rosa A., Casu V., Cottiglia F., et Bonsignore L. (2003). Natural product : their chemistry and biological significance. Journal of the American Oil Chemistry Society.
- -Delaveau .P (1985) .Hénné : Act Pharmaceutique .
- -Diallo, A. (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). PhD. of the University Bamako.

- -Du, H., Li, C., Wen, Y., Tu, Y., Zhong, Y., Yuan, Z., ... & Liang, B. (2014). Secondary metabolites from pericarp of *Juglans regia*. *Biochemical Systematics and Ecology*.
- -Dzhuraev, K.S., Nuraliev, Y.N., Kurbanov, M., Akhmedova, L.F. and Abyshev, A.Z. ; (1982). Leaf coumarins of *Lawsonia inermis* grown in Tadzhikistan.
- -El Babili F, Valentin A, Chatelain C., (2013). *Lawsonia Inermis* : Its Anatomy and its Antimalarial, Antioxidant and Human Breast Cancer Cells MCF7 Activities.
- -Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherston, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol*.
- -Enneb, H., Belkadhi, A., Cheour, F., & Ferchichi, A. (2015). Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis* L.). *Journal of New Sciences*.
- -Erdemoglu, N., Küpeli, E., & Yeşilada, E. (2003). Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of ethnopharmacology*.
- -EYMARD., 2003 - Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de doctorat, Univ. Nantes, France.
- -Fagbohoun, L. (2014, November). Etude chimique de colorants naturels et matériaux résineux traditionnels au Bénin dans le domaine artisanal. Avignon.
- -Fang, H. L., & DaCosta, H. F. (2003). Urea thermolysis and NOx reduction with and without SCR catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*,
- -Fargette, D., Pinel, A., Abubakar, Z., Traoré, O., Brugidou, C., Fatogoma, S., & Konaté, G. (2004). Inferring the evolutionary history of rice yellow mottle virus from genomic, phylogenetic, and phylogeographic studies. *Journal of virology*.
- -Feknous, S., Saidi, F., & Ramdhane, M. S. (2014). Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). *Revue Nature et Technologie*.
- -Fontes, N., Gerós, H., & Delrot, S. (2011). Grape berry vacuole: a complex and heterogeneous membrane system specialized in the accumulation of solutes. *American Journal of Enology and Viticulture*.
- -Foucault, M. (1976). *Les mots et les choses*. Paris: Gallimard.
- -Ghestem A., Segun E., Paris M, et Orecchioni A.M. (2001). *Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie*. Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- -Ghestem A., Segun E., Paris M., et Orecchioni A.M. (2001). *Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie*. Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- -Goetz, P., & Busser, C. (2007). *La phytocosmétologie thérapeutique*. Paris : Springer.
- -Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). Introduction à la phytothérapie anti-infectieuse. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 3-14). Springer, Paris.
- -Gouarah, N. Ghoul, W. (2020). Etude rétrospective sur les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits issus de deux plantes médicinales de la famille de Lythraceae. mémoire de master, Université de kasdi merbah Ouargla.
- -Gouarah, N. Ghoul, W. (2020). Etude rétrospective sur les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits issus de deux plantes médicinales de la famille de Lythraceae. mémoire de master, Université de kasdi merbah Ouargla.
- -Guignard J.L. (1998). *Abrégé de botanique*. Masson (Ed). Paris.

- -Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents : an overview. Archives of toxicology.
- -Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. Revue médicale de Liège.
- -Haraguchi H., Tanimoto K., Tamura Y., Mizutani K., et Kinoshita T. (1998); Mode of antibacterial action of retrochalcones from Glycyrrhizainflata. Phytochemistry.
- -Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry.
- -Harikrishna D., AppaRao A. V. N., et Prabhakar M. C. (2004), Pharmacological investigation of a flavonoïde glycoside. Indian. J. Pharmacol.
- -Hazebroucq G., Dorvault, (1994). L'officine. 23ème édition. Vigot.
- -Herraouya (1862).recherche pour servir à l'histoire naturelle et chimique, industrielle du Hénné. Ed .paris.
- -Hettab benhassane, H. (2018). Evaluation du potentiel antimicrobien de Lawsonia inermis récoltés dans les régions de Touat et du Tidikel, Université de Adrar.
- -Hoffman L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat.
- -Hoffman L., (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Strasbourg.
- -Imbert, P., Gérardin, P., Rogier, C., Jouvencel, P., Brousse, V., Guyon, P., & Ka, A. S. (2003). Pertinence des critères OMS 2000 de paludisme grave chez l'enfant non immun à Dakar, Sénégal. Bull Soc Pathol Exot.
- -Jean, B. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier.
- -Jones, A., Pravadali-Cekic, S., Dennis, G. R., Bashir, R., Mahon, P. J., & Shalliker, R. A. (2017). Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) of antioxidants using reaction flow chromatography. Analytica Chimica Acta.
- -Jones, A., Pravadali-Cekic, S., Dennis, G. R., Bashir, R., Mahon, P. J., & Shalliker, R. A. (2017). Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) of antioxidants using reaction flow chromatography.
- -Kamel Ghedira et Paul Goetz(2017).Phytothérapie anti-infectieuse.
- -Khan I. A., Kulkari M.V., Gopal M., Shahabuddin M.S., et Sun C.M. (2005). Synthesis and biological evaluation of novel angularly fused polycyclic coumarins. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.
- -Kouno I, Inoue M, Onizuka Y. et al. (1988).
- -LAAMARI, F., & MOSTEFAOUI, C. (2017). Contribution à l'étude de quelques paramètres biochimiques et biologiques (antioxydante et anti bactérienne) de Oudneya africana R de la région de Ghardaïa.
- -Labuckas, D. O., Maestri, D. M., Perello, M., Martínez, M. L., & Lamarque, A. L. (2008). Phenolics from walnut (*Juglans regia* L.) kernels: Antioxidant activity and interactions with proteins.
- -Lachniet, J., Afanasev, A., Arenhövel, H., Brooks, W. K., Gilfoyle, G. P., Higinbotham, D., & Lima, A. C. S. (2009). Precise Measurement of the Neutron Magnetic Form Factor  $G_M^n$  in the Few-GeV 2 Region. Physical review letters.
- -Lattab, A. (2012). Utilisation des extraits de quelques plantes locales pour lutter contre la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis.



- -Laure F. (2005). Etude de la composition chimique et de la biodiversité du *Calophyllum rophyllum* de Polynésie française. Thèse de doctorat, Nice.
- -Leclerc H., Gaillard J.L. Et Simonet M. (1995). Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.
- -Lemordant Denis, Forestier J.P (.1983). Commerce et henné. Identification, contrôle, fraudes, additifs. In : Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, 30<sup>e</sup> année, bulletin n°3-4, Juillet-décembre.
- -Lessourd F ; (1920). Le noyer. Ed. Lacadémie d'agriculture. Paris.
- -Li K., Geng X., Simonsen J., et Karchesy J., (2004). Novel wood adhesives from condensed tannins and polyethylenimine. International Journal of Adhesion and Adhesives.
- -Li, H.B., Wong, C.C., Cheng, K.W., Feng, C. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology.
- -Li, H.B., Wong, C.C., Cheng, K.W., Feng, C. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology.
- -Macheix, J. J., Fleuriot, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- -Mahmood N., Pizza C., et Aquino R; (1993) ; Inhibition of HIV infection by flavanoids. Antivir. Res.
- -Mahmoud, Z.F., Abdel Salam, N.A. and Khafagy, S.M. ; (1980). Constituents of henna leaves- *Lawsonia inermis* L. growing in Egypt.
- -Malekzadeh, F. (1968). Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* L. Applied microbiology.
- -Mansour Djaleb, H. (2013-2014). These presentee en vue de l'obtention du doctorat en sciences, Université de constantine 1 institut des sciences vétérinaire.
- -Mansour, D. H. (2014). Evaluation chimique et activite antidermatophyte de quelques plantes medicinales d'algerie.
- -Mansour, H. (2014). Evaluation chimique et activité antidermatophyte de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse de doctorat, Université Constantine 1.
- -Marfak A. (2003). Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES.
- -Martinez, C., Montillet, J. L., Bresson, E., Agnel, J. P., Dai, G. H., Daniel, J. F., ... & Nicole, M. (1998). Apoplastic peroxidase generates superoxide anions in cells of cotton cotyledons undergoing the hypersensitive reaction to *Xanthomonas campestris* pv. *Malvacearum* race 18. Molecular Plant-Microbe Interaction.
- -Marwa, T. R. A. D. Etude de l'activité biologique d'huile essentielle de *Juniperus thurifera*.
- -Mirzaei, A., Mirzaei, M., Khosravani, S. A., & Salehpour, Z. (2013). Radical scavenging potential of Iranian *Quercus brantii* and *Juglans regia*.
- -Mocan, A.; Diuzheva, A.; Carradori, S.; Andruch, V.; Massafra, C.; Moldovan, C.; Sisea, C.; Petzer, J.P.; Petzer, A.; Zara, S.; et al. Development of novel techniques to extract phenolic compound from Romani.
- -Morena, M., Cristol, J. P., Bosc, J. Y., Tetta, C., Forret, G., Leger, C. L., & Cnaud, B. (2002). Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration

session : a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients. Nephrology Dialysis Transplantation.

- -Muhammad, A., AFZAL, M., AL ORIQUAT, G. A. L. I. B., AL HASSAN, J. M., & MUHAMMAD, N. (1980). Flavone glycosides from lawsonia innermis.
- -Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. LWT - Food Science and Technology..
- -Musa, K. H., Abdullah, A., & Al-Haiqi, A. (2016). Determination of DPPH free radical scavenging activity : Application of artificial neural networks. Food Chemistry.
- -Musa, K. H., Abdullah, A., & Al-Haiqi, A. (2016). Determination of DPPH free radical scavenging activity : Application of artificial neural networks.
- -Nabavi, S. F., Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Mahmoudi, M., & Rad, S. K. (2011). Biological activities of *Juglans regia* flower.
- -Nabavi, S. F., Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Mahmoudi, M., & Rad, S. K. (2011). Biological activities of *Juglans regia* flowers.
- -Nakhala, A.M., Zakin, N., Mahrous, T.S., Ghali, M.and Youssef, A.M.; (1980). Isolation and identification of four aromatic compounds from henna leaves. Chem. Microbial. Technol. Lebenson.
- -Nounah, I., Hajib, A., Harhar, H., Madani, N. E., Gharby, S., Guillaume, D., & Charrouf, Z. (2017). Chemical composition and antioxidant activity of *Lawsonia inermis* seed extracts from Morocco.
- -O.Lebert.(2005 ): Lekarité e t le Hénné deux matières premières africaies à fort pouvoir cuturel locale utilisé dans le cosmétique.
- -Oliveira I. (2008). Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. Food Chem. Toxicol.
- -Oueida F. Non Date : Médecine arabe et ethnopharmacologie : les plantes du Coran. Des sources du savoir aux médicaments du future. From the sources of knowledge to the medicines of the future. Faculté de Pharmacie, Université Libanaise, CNRSL Beyrouth (Liban)
- -Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition.
- -Paris R. R et Moyse. (1965). Précis de matière médicale Edition Paris : Masson.
- -Pereira J.A. (2008). Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. Food Chem. Toxicol.
- -Peronny S. (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*). Thèse de doctorat.
- -Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2011). Methods for total antioxidant activity determination : a review. Biochem Anal Biochem.
- -Prasad, M.M. et G. Seenayya, (2000). Effects of spices on growth of red halophilicocci isolated from salt cured fish and solar salt. Food Research International.
- -Qamar W., et Sultana S. (2011). Polyphenols from *Juglans regia*. (Walnut) kernel modulate cigarette smoke extract induced acute inflammation, oxidative stress and lung injury in Wistar rats. Hum. Exp. Toxicol.
- -Rahimipanah M. (2010). Antioxidant activity and phenolic contents of Persian walnut (*Juglans regia* L.) green husk extract. Afr. J. Food Sci. Technol.
- -Rahmoun, M (2008-2009).Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de produits dérivés de Lawsonsie, Université Abou bakr belkaid –Tlamecen.

- -RAHMOUNI, K. (2019). Activité antimicrobienne des extraits de datte des trois variétés de palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. de la région de Boussaâda (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- -Ram S Verma .et al ; 2013 ; Phytochemical analysis of the leaf volatileoil of walnut tree (*Juglans regia* L.) from western Himalaya ; Industriel Corps and Products.
- -Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.*
- -Ribéreau-Gayon, P. (1968). *Les Composés phénoliques des végétaux* : par Pascal Ribéreau-Gayon. Dunod.
- -Rusu, M. E., Gheldiu, A. M., Mocan, A., Moldovan, C., Popa, D. S., Tomuta, I., & Vlase, L. (2018). Process optimization for improved phenolic compound recovery from walnut (*Juglans regia* L.) septum : Phytochemical profile and biological activities.
- -Sabatier, S., Barthélémy, D., Ducouso, I., & Germain, É. (1998). Modalités d'allongement et morphologie des pousses annuelles chez le noyer commun, *Juglans regia* L. 'Lara' (Juglandaceae). *Canadian Journal of Botany*.
- -Sagdic O., Kuscu A., Ozcan M., et Ozcelik S. (2002). Effect of turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli*. *Food microbiology*.
- -Salido, G. M., Sage, S. O., & Rosado, J. A. (2009). TRPC channels and store-operated Ca<sup>2+</sup> entry. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*.
- -Santos, A., Barros, L., Calhela, R. C., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2013). Leaves and decoction of *Juglans regia* L.: Different performances regarding bioactive compounds and in vitro antioxidant and antitumor effects. *Industrial crops and product*.
- -Sasha W. Eisenman, David E. Zaurov, Lena Struwe ; 2013 ; *Medicinal plants of central Asia : Uzbekistan and Kyrgyzstan* ; Springer ; USA.
- -Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols : antioxidants and beyond. *The American journal of clinical nutrition*.
- -Schroeder, M. P., & Messing, A. M. (1949). Methods for comparing the antibacterial activity of essential oils and other aqueous insoluble compound.
- -Shah, U.N. ; Mir, J.I.; Ahmed, N.; Jan, S.; Fazili, K.M. Bioefficacy potential of different genotypes of walnut *Juglans regia* L. *J. Food Sci.*
- -Shah, W. A., Mir, T. A., & Ahmed, A. (2019). *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. Evaluation.
- -Shah, W. A., Mir, T. A., & Ahmed, A. (2019). *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. Evaluation.
- -Singleton V.L and Rossi J.A.J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.*
- -Strang, T. J., & Wareham, D. G. (2006). Phosphorus removal in a waste-stabilization pond containing limestone rock filters. *Journal of Environmental Engineering and Science*.
- -Sylvie Sabatler. Et al ; 1998 ; modalités d'allongement et morphologie des pousses annuelles chez la noyer commun *Juglans regia* L. ; *Canadian Journal of Botany*.
- -Szydłowska-Czerniaka A, Dianoczki C, Recseg K, Karlovits G, Szlyk E. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods.



- -Tajamul Islam Sahah .et al ; Juglans regia Linn : A phytopharmacological review ; world journal of pharmaceutical sciences ; 2321-3086
- -Tanaya, J.H., (1997). Effect of Natural of Synthetic phytosterol Administration on cholesterol Metabolism in Normolipidemic Humans, National Library of Canada.
- -Tania, G., & Matthew, S. (2003). Category fluency in first-episode schizophrenia. Journal of the International Neuropsychological Society.
- -Tarabet, A. (2017). Contribution à l'étude ethnopharmacologique des plantes médicinales utilisées par voie externe en Kabylie. Thèse de doctorat, Université Tizi Ouzou.
- -Tauzin .A (1998). Le Héné, art des femmes de Mauritanie. Ed Unesco ibis presse.
- -Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. 2007. A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus.
- -Tsuchiya M., et Meziane T. (2000). Fatty acids as tracers of organic matter in the sediment and food web of a mangrove/intertidal flat ecosystem, Okinawa, Japan. Marine Ecology Progress Series.
- -Uchida, T., & Campos, M. A. (2000). Influência do sombreamento no crescimento de mudas de cumaru (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.-Fabaceae), cultivadas em viveiro. Acta amazonica.
- -Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., & Mahajan, R. T. (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases : à review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. Current neuropharmacology.
- Vanier P. (1999) : Plantes médicinales.
- -Vauzour, D. (2012). Dietary polyphenols as modulators of brain functions : biological actions and molecular mechanisms underpinning their beneficial effects. Oxidative medicine and cellular longevity, 2012.
- -Verma, R. S., Padalia, R. C., Chauhan, A., & Thul, S. T. (2013). Phytochemical analysis of the leaf volatile oil of walnut tree (*Juglans regia* L.) from western Himalaya. Industrial crops and products.
- -Zeghad, N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Constantine.Université Mentouri.
- -Zhang J. (2009a). Chemical constituents in green walnut husks of *Juglans regia*. Chinese Traditional and Herbal Drugs.
- -Zhang Z. (2009b). Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia*).

## ABSTRACT

The use of medicinal plants in the pharmaceutical, agrifood and biotechnology fields has received great interest in the search for bioactive molecules which are the secondary metabolites at the origin of several biological activities.

The present work is a synthesis of previous work concerning the evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of extracts from two medicinal plants *Lawsonia inermis* and *Juglans regia*. In this perspective, an extraction by maceration was carried out on the leaves and bark of *Lawsonia inermis* and *Juglans regia* using an aqueous medium. The expected results of this study showed that our crude extracts developed some antioxidant and anti-Alzheimer's activities and little antibacterial effects against two bacterial strains *Staphylococcus aureus* and *Esherichia coli*.

Our literature search summarizes the state of work on antioxidant target molecules from plants of *Lawsonia inermis* and *Juglans regia*. The latter could constitute a useful database in the field of research for new bioactive molecules.

**Keywords:** *Lawsonia inermis* - *Juglans regia* - Antioxidants - Antibacterials - Extraction.

## ملخص

حظي استخدام النباتات الطبية في المجالات الصيدلانية والأغذية الزراعية والتكنولوجيا الحيوية باهتمام كبير في البحث عن الجزيئات النشطة بيولوجيًا التي تعتبر المستقبلات الثانوية في أصل العديد من الأنشطة البيولوجية العمل الحالي عبارة عن توليف للعمل السابق المتعلق بتقييم أنشطة مضادات الأكسدة والميكروبات

لمستخلصات من نباتين طبيين *Lawsonia inermis* و *Juglans regia*

في هذا المنظور تم اجراء استخلاص بالنقع علي اوراق و لحاء نبات

*Juglans regia* و *Lawsonia inermis* باستخدام وسط مائي

أظهرت النتائج المتوقعة لهذه الدراسة أن مستخلصاتنا الخام طورت بعض الأنشطة المضادة للأكسدة ومضادة للزهايمر

وتأثيرات قليلة مضادة للجراثيم ضد سلالتين بكتيريتين

*Esherichia coli* و *Staphylococcus aureus*.

يلخص بحثنا الأدبي حالة العمل على الجزيئات المستهدفة المضادة للأكسدة من نباتات

*Juglans regia* و *Lawsonia inermis*

يمكن أن تشكل الأخيرة قاعدة بيانات مفيدة في مجال البحث عن الجزيئات النشطة بيولوجيًا الجديدة

الكلمات المفتاحية

مضادات الأكسدة - مضادات الجراثيم - الاستخراج - *Lawsonia inermis* - *Juglans regia*

# Etude phytochimique et évaluation biologique des extraits aqueux de *Lawsonia inermis* et de *Juglans regia*

---

## RESUME

L'utilisation des plantes médicinales dans les domaines pharmaceutiques, agroalimentaires et biotechnologiques a reçu un grand intérêt dans la recherche des molécules bioactives qui sont les métabolites secondaires à l'origine de plusieurs activités biologiques.

Le présent travail s'est proposé d'une synthèse des travaux antérieurs concernant l'évaluation des activités anti oxydantes et antimicrobiennes des extraits issus de deux plantes médicinales *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*. Dans cette perspective une extraction par macération a été réalisée respectivement sur les feuilles et l'écorce de *Lawsonia inermis* et de *Juglans regia* par l'utilisation de milieu aqueux.

Les résultats escomptés de cette étude ont montré que nos extraits bruts ont développé quelques activités antioxydantes, anti alzheimer et peu d'effets antibactériens vis-à-vis de deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Esherichia coli*.

Notre recherche résume l'état des travaux sur les molécules cibles antioxydantes issues des plantes de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*. Cette dernière pourrait constituée une base de données utile dans le domaine de la recherche de nouvelles molécules bioactives.

**Mots clés :** *Lawsonia inermis* – *Juglans regia* – Antioxydants – Antibactériens – Extraction.

**Messaya Mayar  
Benamira Madina**

**Etude phytochimique et évaluation biologique des extraits  
aqueux de *Lawsonia inermis* et de *Juglans regia***

**Résumé :**

L'utilisation des plantes médicinales dans les domaines pharmaceutiques, agroalimentaires et biotechnologiques a reçu un grand intérêt dans la recherche des molécules bioactives qui sont les métabolites secondaires à l'origine de plusieurs activités biologiques.

Le présent travail s'est proposé d'une synthèse des travaux antérieurs concernant l'évaluation des activités anti oxydantes et antimicrobiennes des extraits issus de deux plantes médicinales *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*. Dans cette perspective une extraction par macération a été réalisée respectivement sur les feuilles et l'écorce de *Lawsonia inermis* et de *Juglans regia* par l'utilisation de milieu aqueux.

Les résultats escomptés de cette étude ont montré que nos extraits bruts ont développé quelques activités antioxydantes, anti alzheimer et peu d'effets antibactériens vis-à-vis de deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Esherichia coli*.

Notre recherche résume l'état des travaux sur les molécules cibles antioxydantes issues des plantes de *Lawsonia inermis* et *Juglans regia*. Cette dernière pourrait constituée une base de données utile dans le domaine de la recherche de nouvelles molécules bioactives.

**Mots clés :** *Lawsonia inermis* – *Juglans regia* – Antioxydants – Antibactériens – Extraction.

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Mme Bennamoun Leila (Maitre de conférences B, UFM- Constantine 1)

**Examineur :** Mme Riachi-Kahlouche Foulla (Maitre de conférences A, UFM- Constantine 1)

**Encadreur :** Mme Djaalab-Mansour Hadria (Maitre de conférences A, UFM- Constantine 1)