

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية العلوم الطبيعية و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

قسم الكيمياء الحيوية-البيولوجية الخلوية و الجزيئية

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*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Etude phytochimique et activités biologiques d'une espèce  
de la famille des Lamiacées**

---

Présenté par :

Le 20/06/2023

BENIDIR NIHEL

ATMANI HADIL

jury d'évaluation:

**Président du jury :** BELBACHE Hanene (MCB-Université des Frères Mentouri Constantine 1)

**Encadreur :** ZAABAT Nabila (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur :** BOUSETLA Ahlem (MCA- Université des Frères Mentouri Constantine 1)

**Année universitaire**

2022 – 2023

## Remerciements

*Tout d'abord nous remercions le tout puissant de nous avoir donné la force de réaliser ce travail.*

*Ainsi que nous profitons de l'occasion pour remercier du fond du cœur toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Je voudrais remercier, mon directeur de mémoire madame **Nabila Zaabat** MCA à l'université des frères Mentouri constantine<sup>1</sup>, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, avisés qui ont grandement contribué à nourrir ma réflexion.*

*Nos vifs remerciements pour Dr Belbache .H qui a accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Nos sincères remerciements pour Dr Bousetla A qui a accepté d'examiner et d'évaluer notre travail.*

*Nous avons eu le plaisir d'effectuer notre stage de fin d'études dans le laboratoire de l'unité de recherche valorisation des ressources naturelles, molécules bioactives et analyse physico chimiques et biologiques ; Faculté des Sciences Exactes Université des frères Mentouri Constantine 1, dirigé par le professeur **Salah Akkal**.*

*Nou exprimons nos remerciements à tous les docteurs et les responsables de laboratoire de contrôle de qualité au centre de recherche en biotechnologie (CRBt) spécialement **Dr.Bensouci Chawki** qui nous a accueillis dans son laboratoire.*

*Enfin nous remercions tous les membres de laboratoire de chimie  
spécialement **Dr. Lefhal Mostapha, Dr Bousatla Ahlem**, pour leurs  
aide leurs conseils ainsi que leurs encouragements.*

## *DEDICACES*

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU De m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père Nassim.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non âmes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère Nadjoua.

A mes chères sœurs Djihan, Nidal et Nibal qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager, soutenir et m'occuper de mon fils pendant que j'étais occupée par mes études et. Que Dieu les protège et leurs offre la chance e le bonheur.

A mon adorable petits frères Mostafa et Madyane qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

A mon cher fils Jawad, qui me fait oublier toute la fatigue avec son rire. Que Dieu te protège, prunelle de mes yeux.

A Mon mari d'avoir été à mes côtés ces deux dernières années et d'avoir remercié sa famille.

A ma grand-mère Bahwana pour avoir prié pour moi avec un succès durable.

A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant. Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Sans oublier mon binôme Hadil Atmani pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

**Benidir Nihel**

## DEDICACES

Je souhaite dédier ce mémoire à tous ceux qui ont joué un rôle essentiel dans mon parcours :

À mes parents bien-aimés, la source inépuisable de patience, d'amour, de soutien et d'encouragements. Votre présence inconditionnelle a été ma force motrice.

À mes frères, Abd el raouf et Mouad, dont le soutien indéfectible a été une boussole dans ma vie.

À mes sœurs chères, Nour el Houda et Chams el Douaa, vos conseils précieux et votre soutien moral ont illuminé mon chemin tout au long de mes études.

À mon cher fiancé, tu as été mon rocher solide dans les moments les plus difficiles, et ton soutien inébranlable m'a permis de persévérer.

À mes chers grands-parents, Mama Aziza et Baba Azizi, je vous souhaite une santé florissante et je vous remercie pour vos précieuses prières.

À ma binôme chère, Nihel, ta compréhension et ta sympathie m'ont permis de traverser les défis de ce parcours avec sérénité.

À ma famille et à mes proches, votre soutien constant ont été les fondations solides sur lesquelles ma réussite s'est construite.

Enfin, un hommage spécial à tous les enseignants qui ont croisé ma route, du primaire à l'enseignement supérieur. Vos connaissances partagées et votre dévouement à l'éducation ont façonné mon esprit et m'ont ouvert des horizons infinis.

À vous tous, je dédie ce mémoire avec gratitude et reconnaissance éternelle. Que notre cheminement continue d'inspirer et d'illuminer les chemins de ceux qui suivent.

**Hadil Atmani**

## Liste de Figure

Figure 1: <i>Mentha aquatica</i> de la famille Lamiacées. ....	5
Figure 2 : Les caractéristiques morphologiques d'une Lamiacées. ....	6
Figure 3: Répartition géographique de la famille des Lamiacées (en rouge). (AP-Website (Stevens, 2001).) .....	7
Figure 4 : L'espèce de (A) <i>Lamium maculatum</i> , (B) <i>Lamium-galeobdolon</i> et (C) <i>Lamium album</i> . ....	11
Figure 5 : Structure générale des flavonoïdes .....	19
Figure 6 : Les différentes classes de flavonoïdes. ....	20
Figure 7 : Schéma d'une chromatographie sur couche mince (CCM). ....	28
Figure 8 : Les bandes caractéristiques du squelette flavonique. ....	29
Figure 9 : la réaction de formation des complexes de l'acide borique avec les hydroxyles phénoliques. ....	30
Figure 10: Les mécanismes de formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN) .....	45
Figure 11: Les différentes classes des antioxydants (Pietta., 2000) (Ratnam <i>et al</i> ., 2006)....	46
Figure 12: Réduction de DPPH par un antioxydant (G. Agbor, 2014). ....	47
Figure 13: Formation et piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup> par un antioxydant (Miller <i>et al</i> ., 1996). ....	48
Figure 14: Formation du complexe Fe <sup>2+</sup> -phénanthroline (Apak <i>et al.</i> , 2007). ....	48
Figure 15: Mécanisme réactionnel du test FRAP. ....	49
Figure 16 : Espèce <i>Lamium</i> étudiée. ....	61
Figure 17 : Filtration de l'extrait hydrométhanolique .....	62
Figure 18: Affrontements par les 3 solvants (A) dichlorométhane (B) acétate d'éthyle (C) <i>n</i> -butanol. ....	64
Figure 19 : CCM bidimensionnelle de polyamide de l'extrait <i>n</i> -butanol. ....	66
Figure 20: CCM bidimensionnelle de polyamide de l'extrait acétate d'éthyle. ....	66
Figure 21: les compositions de l'extrait CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> sur CCM de gel de silice dans le système ..	67
Figure 22: les compositions de l'extrait CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> dans le système Hexane - AcOEt (5-5)....	67
Figure 23 : Série spectrale UV du composé P1. ....	76
Figure 24: Résultats du test antiradicalaire DPPH sur microplaque. ....	78
Figure 25: Histogrammes des valeurs d'IC <sub>50</sub> de test DPPH. ....	78

Figure 26: Histogrammes des concentrations inhibitrices ( $IC_{50}$ ) des extraits par le test ABTS. .....	80
Figure 27: Microplaque du test ABTS .....	80
Figure 28 : Histogrammes des concentrations inhibitrices ( $IC_{50}$ ) des extraits du test FRAP. ....	81
Figure 29: microplaque de l'activité du pouvoir réducteur (FRAP) des extraits testés. ....	82
Figure 30 : Histogrammes des Valeurs $A_{0,50}$ du test $Fe^{2+}$ -phénantroline des extraits testés. .	83
Figure 31 : Microplaques du test phénanthroline .....	84
Figure 32 : Histogrammes des valeurs d' $IC_{50}$ du test $\alpha$ – amylase. ....	85
Figure 33: microplaque du test $\alpha$ -amylase .....	86

## Liste de Schéma

Schéma 3-1 : Les différentes étapes d'extraction des parties aériennes de la plante étudiée. ...	65
Schéma 3-2 : Schéma de fractionnement de l'extrait <i>n</i> -butanol .....	68
Schéma 3-3: Schéma de séparation de la fraction F5.....	68



## Liste de tableaux

Tableau 1 : Les genres des Lamiacées existants en Algérie.....	7
Tableau 2 : Utilisation traditionnelle des diverses espèces des Lamiacées.....	9
Tableau 3 : Position systématique du genre <i>Lamium</i> . ....	11
Tableau 4 : Les espèces existantes en Algérie du genre <i>Lamium</i> .....	12
Tableau 5 : Principales classes de composés phénoliques (Macheix <i>et al.</i> , 2005),.....	17
Tableau 6 : Les flavonoïdes isolés du genre <i>Lamium</i> . ....	24
Tableau 7 : Relation entre la fluorescence sous lumière de Wood et les structures flavoniques .....	28
Tableau 8: Caractéristiques spectraux UV-visible des flavonoïdes en présence des différents réactifs. ....	31
Tableau 9 : Les réactifs utilisés dans les activités biologiques. ....	61
Tableau 10 : Données de la série spectrale UV du composé P1 .....	76
Tableau 11 : Inhibition du radical DPPH par les extraits de l'espèce étudiée. ....	78
Tableau 12 : Inhibition du radical ABTS <sup>•+</sup> par les extraits de l'espèce étudiée. ....	79
Tableau 13 : Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits testés. ....	81
Tableau 14 : Absorbance du complexe Fe <sup>+2</sup> - phénantroline des extraits testés .....	83
Tableau 15 : Le pourcentage d'inhibition de $\alpha$ -amylase des extraits testés .....	85

## Table des matières

Introduction Générale.....	1
Chapire 1: Étude bibliographique .....	4
1.1    La famille des Lamiacées .....	5
1.1.1 Définition .....	5
1.1.2 Description botanique de Lamiacées : .....	5
1.1.2.1 Appareil végétatif : .....	5
1.1.2.2 Anatomie:.....	6
1.1.3 . Distribution géographique des Lamiacées : .....	7
1.1.3.1 Dans le monde : .....	7
1.1.3.2 En Algérie: .....	7
1.1.4 Utilisations traditionnelles des Lamiacées .....	8
1.2    Le genre <i>Lamium</i> .....	10
1.2.1 Définition .....	10
1.2.2 Description du genre <i>Lamium</i> : .....	10
1.2.3 La position systématique du genre <i>Lamium</i> :.....	11
1.2.4 En Algérie : .....	12
1.2.5 Utilisation en médecine traditionnelle de <i>Lamium</i> : .....	12
1.2.6 L'intérêt pharmacologique des Lamiacées .....	13
1.2.7 L'intérêt pharmacologique du genre <i>Lamium</i> .....	15
1.3    Les Métabolites secondaires :.....	16
1.3.1 Définition .....	16
1.3.2 Les composés phénoliques .....	16
1.3.2.1 Classification des composés phénoliques .....	17
1.3.2.2 Les flavonoïdes .....	18
1.3.2.2.1 Définition.....	18
1.3.2.2.2 Classification des flavonoïdes .....	19

1.3.2.2.3	Les flavonoïdes isolés de la famille des Lamiacées .....	20
1.3.2.2.4	Les flavonoïdes isolés du genre <i>Lamium</i> :.....	22
1.4	Chromatographie .....	27
1.4.1	Définition .....	27
1.4.2	Classification d'après le procédé opératoire .....	27
1.5	Méthodes d'analyse structurale des flavonoïdes par la spectrophotométrie UV visible 28	
1.5.1	La fluorescence sous lumière de Wood.....	28
1.5.2	Spectrophotométrie UV-visible.....	28
1.5.2.1	Addition de NaOH .....	29
1.5.2.2	Addition de NaOAc .....	29
1.5.2.3	Addition de H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> + NaOAc .....	30
1.5.2.4	Addition d'AlCl <sub>3</sub> +HCl :.....	30
1.6	Références du Chapitre 1 .....	32
Chapire 2:	Activités biologiques .....	41
2.1	Les activités biologiques .....	42
2.2	Les propriétés des flavonoïdes .....	42
2.3	Le stress oxydatif .....	43
2.4	Les radicaux libres .....	44
2.5	Les antioxydants.....	45
2.5.1	Définition .....	45
2.5.2	Les antioxydants enzymatiques.....	45
2.5.3	Les antioxydants non enzymatiques.....	45
2.5.4	Les antioxydants d'origine végétale.....	46
2.5.5	Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant .....	46
2.5.5.1	Activité anti-radicalaire au DPPH .....	47
2.5.5.2	Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> .....	47

2.5.5.3	Activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>2+</sup> - phénanthroline	48
2.5.5.4	Activité du pouvoir réducteur (FRAP) .....	49
2.6	Activité enzymatique.....	49
2.6.1	Le diabète et l'enzyme $\alpha$ -amylase .....	49
2.7	Références du Chapitre 2 .....	54
Chapire 3: Matériels et méthodes.....		60
3.1	Matériel .....	61
3.1.1	Matériels utilisés pour les tests biologiques .....	61
3.1.1.1	Les réactifs .....	61
3.1.2	L'étude phytochimique de la plante étudiée .....	61
3.1.2.1	Matériel végétal.....	61
3.2	Extraction et séparation de l'espèce étudiée .....	62
3.2.1	Extraction solide-liquide (macération).....	62
3.2.2	Extraction liquide/liquide .....	62
3.3	Séparation et purification de l'extrait <i>n</i> -BuOH .....	68
3.4	Etude biologique .....	69
3.4.1	préparation des échantillons .....	69
3.4.2	L'activité antioxydante.....	69
3.4.2.1	L'activité de piégeage du radical libre DPPH.....	69
3.4.2.2	Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> .....	70
3.4.2.3	Activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> -(phénanthroline) 70	
3.4.2.4	Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP).....	71
3.4.3	l'activité enzymatique .....	72
3.4.3.1	Activité $\alpha$ -amylase: .....	72
Chapire 4: Résultats et discussions .....		74
4.1	Identification structurale du produit P1.....	75

4.1.1.1	Les données de la série spectrale UV.....	75
4.2	Activités biologiques.....	77
4.2.1	L'activité antioxydante.....	77
4.2.1.1	L'activité de piégeage du radical libre DPPH.....	77
4.2.1.2	Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> .....	79
4.2.1.3	Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP).....	81
4.2.1.4	Activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> -phénanthroline .	82
4.2.2	activité enzymatique.....	84
4.2.2.1	l'activité d' inhibition de $\alpha$ -amylase.....	84
4.3	Références du chapitre 4 .....	87
Conclusion.....		88
Résumés .....		90

---

*Introduction  
Générale*

## Introduction générale

---

Les plantes représentent une source importante de composés chimiques naturels dont les métabolites secondaires ayant une grande variété structurale et qui possèdent des propriétés médicinales, nutritionnelles et cosmétiques.

Le principe actif d'une plante est la substance responsable des effets thérapeutiques et pharmacologiques qui appartient aux différentes classes des composés chimiques tels que les alcaloïdes, les terpènes, les tanins, les flavonoïdes, les acides phénoliques, des huiles essentiels ...etc. Chaque principe actif a des propriétés spécifiques qui peuvent être utilisées pour traiter différentes maladies. Par exemple la quinine, un alcaloïde présent dans l'écorce de quinquina est utilisé pour traiter le paludisme (Chast., 2020)

La flore Algérienne est caractérisée par la diversité florale la plus riche au monde, plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, distribué comme suit : méditerranéenne, saharienne et une flore subtropicale. Chacune de ces plantes peut contenir des centaines voire des milliers de métabolites secondaires, ou de principes actifs qui peuvent produire différentes actions physiologiques sur le corps humain.

Les Lamiacées, ou Labiacées, ou encore Labiées, sont une grande famille naturelle constituée principalement de plantes herbacées et de sous-arbrisseaux. C'est une famille d'une homogénéité très exceptionnelle.

Cependant, une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude des métabolites secondaires et l'évaluation *in vivo* et *in vitro* de leurs activités biologiques.

L'objectif de notre travail porte sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydant et enzymatique des extraits d'une plante appartenant au genre *Lamium*.

Ce manuscrit est réparti en quatre chapitres :

Le premier chapitre est consacré à l'étude bibliographique de la famille des lamiacées et du genre *Lamium*. Le deuxième chapitre présente le stress oxydatif et l'activité enzymatique.

Le troisième chapitre comprend la description du matériel biologique, l'extraction, la purification d'un flavonoïde à partir d'un extrait polaire de l'espèce étudiée et les méthodes d'évaluation *in vitro* des activités antioxydante et enzymatique.

Le dernier chapitre décrit la discussion des résultats obtenus. Enfin, une conclusion générale relative à nos travaux résumant ce manuscrit.

Références Bibliographiques

Chast F. 2020. La découverte de la quinine par Joseph Pelletier et Joseph B. Caventou (1820).  
Revue de Biologie Médicale. 356, 51-66.



*Chapitre 1:*  
*Étude bibliographique*



### 1.1 La famille des Lamiacées

#### 1.1.1 Définition

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des labiées qui dérive du nom latin "*Labium*" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles (**Bouhaddouda., 2016**).

Les Lamiacées constituent une importante famille de plantes angiospermes dicotylédones qui comptent entre 233 à 263 genres et de 6900 à 7200 espèces (**Heywood et al., 2007**) (**Grayer et al., 2003**).

Les espèces de cette famille sont des plantes aromatiques utilisées tant en cuisine qu'en parfumerie ou en pharmacie, comme la ballote, le basilic, la lavande, la marjolaine et la mélisse. Il s'agit d'une grande famille, très typique du monde végétal, qui possède une importance économique due à sa richesse en huiles essentielles (**Guignard et al., 2001**).



**Figure 1: *Mentha aquatica* de la famille Lamiacées.**

#### 1.1.2 Description botanique de Lamiacées :

##### 1.1.2.1 Appareil végétatif :

La famille regroupe des herbes annuelles ou vivaces, des arbustes ou encore des sous-arbrisseaux. Les tiges sont de façon très caractéristiquement de section quadrangulaire, souvent renflées aux nœuds et se multipliant, en une même saison, à l'aide de rejets aériens ou rhizomateux. Chez les espèces adoptant un port plus arbustif (*Thymus*, *Lavandula*...) la tige, ligneuse et vivace est alors arrondie en raison du fonctionnement répété des assises génératrices

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

secondaires circulaires. Les arbres sont extrêmement rares, mais existent parmi le genre américain *Hyptis*, où certains atteignent une hauteur de 12 mètres.

Les feuilles sont toujours simples et opposées, plus exceptionnellement alternes ou pseudo-verticillées, ou encore composées ou pinnatifides. Les stipules sont absentes.

Les fleurs sont hermaphrodites, elles sont regroupées à l'aisselle des feuilles supérieures, en glomérules, eux-mêmes souvent regroupés en épis plus ou moins denses. Leur calice persistant est formé de 5 sépales diversement soudés et a souvent 2 lèvres.

### 1.1.2.2 Anatomie:

La tige est fréquemment de section carrée (sauf chez quelques genres : *Rosmarinus...*), avec quatre cordons de collenchyme angulaire placés symétriquement dans le parenchyme cortical, sous l'épiderme. Cependant, toutes les tiges à section carrées ne sont pas des tiges de Lamiacée, et inversement. Il n'y a généralement pas d'oxalate de calcium. Les poils testeurs sont rarement unicellulaires, papilliformes (*Thymus*), le plus souvent unisériés avec article terminal flabelliforme, quelquefois ramifiés (*Rosmarinus*, *Lavandula...*). Les poils sécréteurs sont sessiles ou su sessiles, avec une tête pluricellulaire. Les fibres pericycliques sont peu nombreuses, et l'endoderme est souvent différencié.

Les feuilles possèdent souvent un hypoderme. Ce sont aussi des plantes à essence dont l'odeur se dégage par simple attouchement. En effet, les cellules à essences se trouvent juste sous la cuticule qui se soulève. Pour cette raison, elles sont utilisées en alimentation, en thérapeutique ou encore en parfumerie.

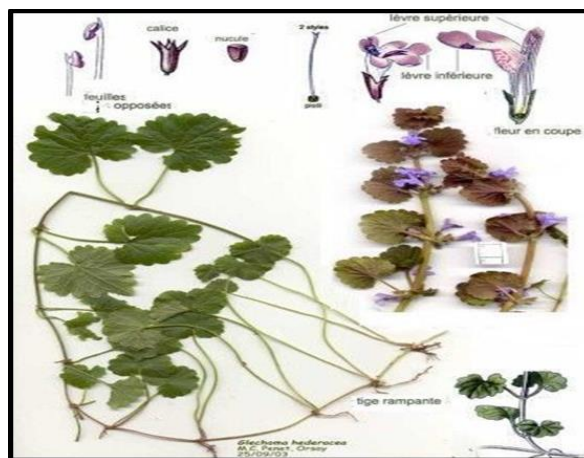


Figure 2 : Les caractéristiques morphologiques d'une Lamiacées.

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

### 1.1.3 . Distribution géographique des Lamiacées :

#### 1.1.3.1 Dans le monde :

Les lamiacées se trouvent presque partout dans le monde. Mais un grand nombre d'espèces se rassemblent dans le bassin méditerranéen. (Martin., 2014) (Brahmi *et al.*, 2017).

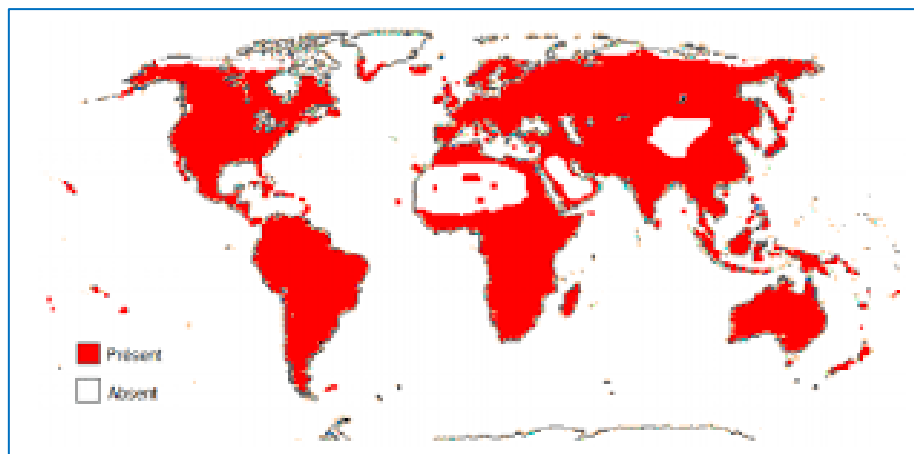


Figure 3: Répartition géographique de la famille des Lamiacées (en rouge). (AP-Website (Stevens, 2001).)

#### 1.1.3.2 En Algérie:

En Algérie, la famille des Lamiacées est représentée par 29 genres et 146 espèces dont 8 genres et 12 espèces décrites par (Ozenda., 1991) dans tout le Sahara, certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (Bendif *et al.* , 2017).

Tableau 1 : Les genres des Lamiacées existants en Algérie.

<i>Teucrium</i>	<i>Scutellaria</i>	<i>Leonurus</i>
<i>Salvia</i>	<i>Prunella</i>	<i>Thymus</i>
<i>Lavandula</i>	<i>Saccocalyx</i>	<i>Melissa</i>
<i>Marrubium</i>	<i>Molucella</i>	<i>Satureja</i>
<i>Prasium</i>	<i>Cleonia</i>	<i>Micromeria</i>
<i>Acinos</i>	<i>Stachys</i>	<i>Lycopus</i>
<i>Clinopodium</i>	<i>Ballota</i>	<i>Preslia</i>
<i>Calamintha</i>	<i>Hyssopus</i>	<i>Mentha</i>
<i>Lamium</i>	<i>Nepeta</i>	<i>Ajuga</i>
<i>Phlomis</i>	<i>Origanum</i>	

### 1.1.4 Utilisations traditionnelles des Lamiacées

Une enquête ethnobotanique a été réalisée sur l'utilisation des plantes médicinales par la population avoisinant le parc national de Djebel Aïssa ont permis de dénombrer 41 espèces médicinales appartenant à 20 familles et 37 genres dont 9 espèces soit 21,95 %) sont la plus utilisées de la famille des Lamiacées suivie des Astéracées (avec 6 espèces soit 14,63 %) **(Hadjadj et al., 2019)**.

Plusieurs genre de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et moderne comme *Lavandula*, *Teucrium* ; *Thymus* et *Salvia*. Les espèces de *Mantha*, *Lavandula*, *Ocimum*, *Origanum*, *Melissa* et *Satureja* sont également employées comme plantes culinaires dues principalement à la présence des huiles essentielles **(Naghbi et al., 2005)**.

Le genre *Teucrium* est largement distribué dans le monde avec 340 espèces dont 20 sont présentes en Algérie. *Teucrium pollium* (germande feutrée) appelée Kheyata poussent à l'état sauvage est largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne comme antidiabétique, antiinflammatoire et antibactérienne **(Quézel et al., 1963 ; Rasekh et al., 2001 ; Esmaeili et al., 2004 ; De Marino et al., 2012 ; Djabou et al., 2013)**.

En médecine traditionnelle Iranienne le thé de cette espèce est utilisé pour traiter de nombreuses maladies telles que les douleurs abdominales, l'indigestion, le rhume et les troubles urogénitaux **(Abdollahi et al., 2003)**.

Ajuga est un genre de la famille des Lamiacées largement répondeur en Europe, en Asie, en Amérique du nord et en Afrique comprend environ 80 espèces et 135 Taxon **(Qing et al., 2017, World Flora Online)**. De nombreuses espèce de ce genre ont une valeur médicinale et sont employées depuis des siècles traditionnellement pour traiter divers troubles notamment la fièvre, l'hypertension, l'hyperglycémie, la pneumonie, la pharyngite aigue et chronique et les douleurs d'articulation **(Ni et al., 2015 ; Ali et al., 2019, Nagarkoti et al., 2021)**.

L'espèce *Lavandula stoechas* connue sous le nom de « karabas otu » est utilisé en Turquie depuis l'Antiquité comme analgésique, antiseptique, cicatrisante, sédative pour soulager l'inflammation des voies urinaires, l'eczéma et renforcer les nerfs et le cœur. Ces effets sont dus à l'huile essentiel qu'elle contient. Cette espèce est utilisé sous forme d'infusion en usage interne et externe **(Sahinler et al., 2022)**.

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

Les huiles essentielles aromatiques de cette famille sont généralement présentes dans les feuilles, elles sont trouvées aussi dans tous les parties aériennes. Elles sont très précieuses grâce à leurs propriétés cosmétique, aromatique et elles jouent un rôle important dans les domaines de la parfumerie et de l'industrie pharmaceutique (**Ozkan et al .,2008**).

**Tableau 2 : Utilisation traditionnelle des diverses espèces des Lamiacées**

Espèce	Partie utilisée	Mode d'utilisation	Utilisation	références
<i>Ajuga iva</i>	Parties aériennes	Infusion Décoction Poudre	Antidiabétique, antirhumatique, Antiseptique, antidiarrhéique, problèmes digestive, hypotensive	<b>Bendif et al., 2018</b>
<i>Salvia Verbenaca</i>	Feuilles	Décoction et Poudre  Infusion	Coliques abdominales, fièvre, cicatrisation, rhume  Problèmes génito-urinaire , digestifs et respiratoires, cutanés	<b>Abbouyi et al., 2014 ; Salhi et al ., 2019. Slimani et al ., 2016.</b>
<i>Lavandula stoechas</i>	la plante entière  Feuilles et fleurs	Décoction  Poudre Décoction	maux de ventre et des affections gastro-intestinales  Les plaies rhume, toux, bronchite, grippe, rhumatisme,	<b>Tahri et al.,2012</b>
<i>Mentha suaveolens</i>	Feuilles	La poudre  Décoction.  Infusion	cataplasme , hémorroïdes et fièvre  Les abcès et les furoncles douleurs dentaires et gastriques, les affections respiratoires et génitales	<b>Ouadeh et al ., 2021</b>

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

Espèce	Partie utilisée	Mode d'utilisation	Utilisation	références
<i>Marrubium vulgare</i>	Tige et feuillée		Maladie cardiaque, convulsion.largement	<b>Maamar sameut et al ., 2020</b>
<i>Thymus vulgaris</i>	Plante entière	Décoction	Pulmonaire, toux, grippe, obésité, infection urinaire.	<b>al ., 2020</b>
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Fleurs, feuilles	Infusion Décoction	Calmer les coliques d'estomac, comme antalgiques, contre la grippe. Antispasmodique et anti-inflammatoire	<b>Tahri et al., 2012</b>
<i>Salvia officinalis</i>	Feuilles	Infusion	Fièvre, indigestion	<b>Tahri et al.,2012</b>

### 1.2 Le genre *Lamium*

#### 1.2.1 Définition

Le genre *Lamium* compte environ 50 espèces de plantes dicotylédones appartenant à la famille des Lamiacées, réparties dans les régions tempérées et subtropicales d'Afrique, d'Asie et d'Europe (**Salehi et al ., 2019**) dont certaines sont bien connues : *Lamium album*, *Lamium maculatum* et *Lamium purpureum*.

Le nom commun « Lamier » fait référence à leur ressemblance superficielle avec les orties mais contrairement à celles-ci, elles n'ont pas de poils urticants et en tant que telles sont inoffensives (**Weiss ., 1988 ; Bisset., 1994**).

#### 1.2.2 Description du genre *Lamium*:

Les feuilles sont cordées ou réniformes, ovales à lancéolées avec un sommet aigu et une base cordée, étant pétiolées sur les nœuds inférieurs sessile ou peu commune aux nœuds supérieurs.

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

La corolle est bilabée de couleur violet foncé, vert jaunâtre, blanc, jaune, etc. (Bendiksby *et al.*, 2011 ; Mennema., 1989 ; Baran, P, 2013).

Leurs fleurs symétriques sont rassemblées en verticilles à l'aisselle des feuilles des parties terminales des stolons dressés ou allongés. Elles ont une corolle tubulaire qui s'ouvre en 2 lèvres saillantes, qui donnent à la fleur l'aspect d'une gorge profonde. elles sont de couleur blanches, rose clair, rose foncé, rose violet ou jaune. Leur fruit dit tétrakènes se compose de 4 nucules.



A

B

C

Figure 4 : L'espèce de (A) *Lamium maculatum*, (B) *Lamium-galeobdolon* et (C) *Lamium album*.

### 1.2.3 La position systématique du genre *Lamium*:

Selon la classification d'APG (Angiosperm Phylogeny Group), le genre *Lamium* appartient à la classification suivante :

Tableau 3 : Position systématique du genre *Lamium*.

<b>Règne</b>	<b>planta</b>
<b>Embranchement</b>	Phanérogames
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous classe</b>	Asterideae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiacées
<b>Genre</b>	<i>Lamium</i>



## Chapitre 1 : Étude bibliographique

### 1.2.4 En Algérie :

Le genre *Lamium* est représenté en Algérie par 7 espèces, deux d'entre eux sont endémiques ( **Hamel et al .,2013 ; Quézel.,1963 ; Dobignard et al ., 2012**)

**Tableau 4 : Les espèces existantes en Algérie du genre *Lamium***

<i>Lamiunm flexusoum</i> Ten.
<i>Lamium longiflorum</i> Ten.
<i>Lamium bifidum</i> Cyr.
<i>Lamium amplexicaule.</i>
<i>Lamium mauritanicum</i>
<i>Lamium purpureum</i>
<i>Lamium hybridum</i> Vill.

### 1.2.5 Utilisation en médecine traditionnelle de *Lamium* :

La médecine traditionnelle a largement utilisé les plantes du genre *Lamium* au cours des siècles. Les usages les plus courants sont décrits dans les pays méditerranéen (Europe et Afrique du Nord) et en Asie occidentale. Les bourgeons, les feuilles et les fleurs sont également très utilisés en cuisine pour la préparation de diverses recettes de tradition locale dans de nombreux pays du bassin méditerranéen.

Le genre *Lamium* est très employé en médecine traditionnelle comme antispasmodique, antiprolifératif, anti-inflammatoire, antiviral, et pour le traitement des hypertensions, des paralysies, du prostate, des hémorragies utérines, des traumatismes et des fractures ( **Baran et al .,2013 ; Yalcin et al., 2006 ; Yordanova et al ., 2014 ; Czerwinska, et al ., 2017**). De plus, ce genre est très efficace comme cicatrisant, topique contre les varices, les plaies et autres lésions cutanées (**Akkol et al ., 2008**)

Le lamier blanc (*Lamium album*) est utilisé depuis des décennies en période de famine en Europe, en Chine et au Japon (**Turner et al., 2011**). Les feuilles et les fleurs de cette espèce sont comestibles crus ou cuits et sont utilisés pour les préparations de thé et des compléments alimentaires. (**Pereira et al ., 2012**) .En méditerranée cette plante est employée comme un

ingrédient essentiel dans certaines recettes culinaires des plats locaux notamment les omelettes les ragouts, et les rôtis (**Heinrich et al .,2006**). La consommation des compléments alimentaires enrichis en extrait de *Lamium album* sert à détoxifier l'organisme, prévenir les troubles menstruels, l'inflammation abdominale et les maladies musculosquelettiques (**Xu et al., 2008**) et éliminer les graisses stockées dans l'organisme (**Ninomiya et al., 2006**).

En Turquie ce genre est représenté par 30 espèces et employé en médecine traditionnelle pour soulager la douleur des rhumatismes et autres affections arthriques en Anatolia. En particulier *Lamium album*, *Lamium maculatum* et *Lamium purpureum* sont utilisées comme remède de grand-mère comme tonique et pour traiter la constipation (**Baytop et al., 1999**).

*Lamium amplexicaule* est une espèce de plante herbacée de la famille des Lamiacées. Elle est distribuée depuis le Nord de l'Afrique jusqu'en Asie. Cette espèce est employée pour traiter le rhumatisme, et la diaphorèse (**Rehman et al ., 2015**). La pâte est préparée à partir des feuilles fraîches écrasées est utilisée en application externe pour soulager les articulations enflées (**Jan et al., 2017**).

En Japon, l'espèce *Lamium amplexicaule* est utilisé dans la préparation d'un plat traditionnel japonais appelée " sept herbes printanières " (**Picuric-Jovanovic et al ., 1997**).

*Lamium galeobdolon* tient son nom de la couleur jaune de ses fleurs, la décoction de ces parties aériennes est prescrite dans le traitement de la fièvre, le paludisme, les verrues, la constipation, la perte des cheveux, des rhumatismes, et les saignements (**Naghbi et al., 2005**) (**Tomas-Barberan et al., 1992**),

Matkow et Potrowska ont signalés que *Lamium maculatum* est utilisé en médecine traditionnelle chinoise pour soigner les traumatismes, la paralysie, les fractures et l'hypertension.

### 1.2.6 L'intérêt pharmacologique des Lamiacées

Les propriétés pharmacologiques des Lamiacées varient en fonction de l'espèce et des composés présents dans la plante. Certaines espèces ont des propriétés anti-inflammatoires (**Algieri et al., 2013**), antivirales (**Yucharoen et al. ,2011**), antioxydantes (**Bouajaj et al. 2013**), antibactériennes (**Araújo et al. 2014**), antifongiques (**Rao et al. 2011**), analgésiques, antispasmodiques (**Akram et al. 2011**) et antitumorales (**Yildirim et al. 2013**) par exemple l'huile essentielle de *Mentha piperita* (menthe poivrée) possède des propriétés analgésiques et

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

---

antispasmodiques, ce qui en fait un traitement efficace pour les maux de tête, les douleurs musculaires et les crampes menstruelles. Alors que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a montré des propriétés antimicrobiennes et antifongiques, ce qui en fait un traitement efficace pour les infections respiratoires et les infections de la peau.

L'utilisation de certaines espèces en infusion ou en décoction en médecine traditionnelle est due à leurs diverses actions pharmacologiques. Par exemple l'activité observée des extraits aqueux de cette famille est attribuée à la présence de la quantité importante des flavonoïdes glycosylés (Zaabat., 2011)

Au Maroc, l'espèce *Melissa officinalis* est largement utilisée en médecine traditionnelle comme anti-inflammatoire, antispasmodique, calmant et fortifiant. Une étude a été réalisée sur l'huile essentielle des feuilles de cette plante a signalé un effet significatif sur l'œdème des pattes de rat induit par la carraghénine (Amina et al., 2013).

En Algérie, l'évaluation de l'activité anti radicalaire des extraits éthanolique, décocté et infusé de six espèces aromatiques des Lamiacées utilisées en médecine traditionnelle : *Phlomis crinita* Cav, *Satureja calamintha* Scheele, *Origanum vulgare*, *Mentha ulegium*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris* a montré un pouvoir anti radicalaire important des genres *Origanum*, *Mentha* et *Thymus*. Les résultats obtenus de la comparaison des extraits confirment que les décoctés sont ceux qui piègent le plus de radicaux libres, suivis par les extraits éthanoliques et enfin les extraits infusés (Tamert et al., 2016).

Dans la médecine traditionnelle roumaine, les parties aériennes d'*Ajuga laxmanii* connu sous le nom de barbe de noble sont utilisées comme agent galactagogue et anti-inflammatoire.

Une recherche a été faite par Toiu et al sur l'évaluation de l'activité antioxydant, antimicrobinne, et anti-inflammatoire in vivo de deux extraits éthanolique et méthanolique des parties aériennes de l'espèce *Ajuga laxmannii* a montré que ces extraits présentent un effet anti radicalaire significatif dans les deux tests (DPPH et ABTS) et une importante activité antifongique vis -à-vis les souches *Candida albicans* et *Penicillium.funiculosum*.

Alors que L'extrait éthanolique a montré une importante activité anti-inflammatoire en réduisant les *leucocytes totaux* et la *phagocytose des PMN* et le stress oxydatif.

Plusieurs espèces de Lamiacées ont également des propriétés antitumorales. Par exemple, *salvia miltiorrhiza* (sauge rouge) , une plante couramment utilisée par la population chinoise pour

favoriser la circulation sanguine et améliorer le système immunitaire . l'extrait des racines séchées de cette espèce exerce un potentiel cytotoxique qui peut confère une résistance à divers types de tumeurs (**Wu et al., 2016**)

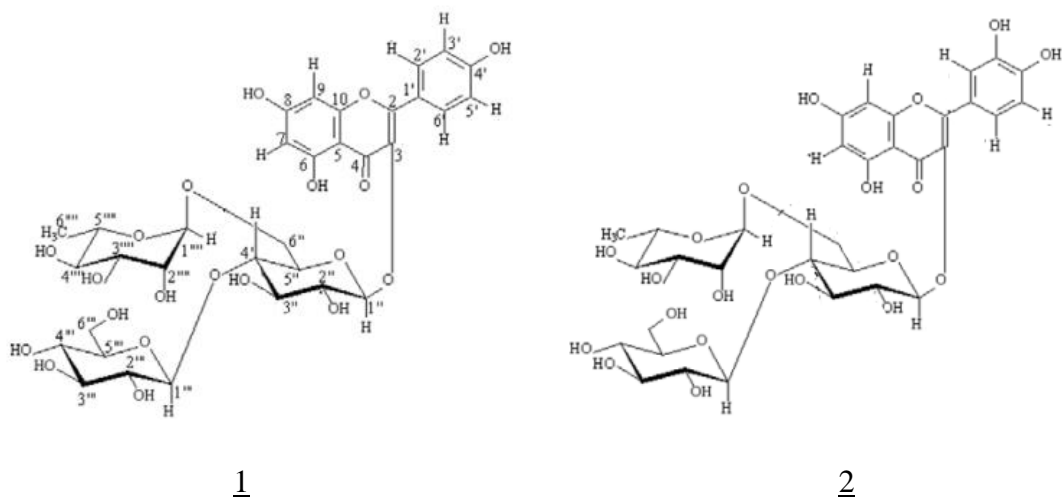
### 1.2.7 L'intérêt pharmacologique du genre *Lamium*

Les espèces du genre *Lamium* possèdent de nombreuses applications dans la médecine traditionnelle grâce à la présence importante de composés chimiques qui constituent des principes actifs efficaces dans de domaine thérapeutique (**Salehi et al ., 2019**).

Une étude réalisée sur les iridoïdes isolés de l'extrait aqueux des fleurs de *Lamium album* qui sont utilisé dans une formule commerciale pour traiter la maladie du foie montre que certains de ces composés possèdent une activité antivirale. En particulier deux isomères lamiridosines A et B isolés de cet extrait qui inhibent de manière significative *in vitro* le virus de l'hépatite C avec une IC50 de 2,31  $\mu M$  (**Zhang et al .,2009**).

L'effet antioxydant des extraits *n*-butanol de deux espèces *Lamium, album* et *Lamium purpureum* de la Roumanie ont été comparés par la capacité de piégeage des radicaux libre DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle). Les résultats obtenus ont montré que les extraits possédaient une activité antiradicalaire dose-dépendante évaluée après 30 minutes d'incubation à toutes les doses testées, tandis que L'extrait *n*-butanol de *purpureum* a présenté l'activité la plus élevée à concentration de 1% par rapport à l'extrait de la deuxième espèce (**Bubueanu et al .,2013**).

Il existe très peu d'études qui décrivent l'influence des composés polyphénols présents abondamment dans les espèces du genre *Lamium* sur l'enzyme tyrosinase. Nugroho et al ont rapporté que deux flavanol glycosylés isolés de l'extrait méthanolique de l'espèce *Lamium amplexicaule* kaempférol 3-O-[glucosyl-(1→4)][rhamnosyl-(1→6)]-glucoside **1** et quercétine 3-O-[glucosyl-(1→4)][-rhamnosyl-(1→6)]-glucoside **2**, exercent une activité inhibitrice *in vitro* contre la tyrosinase de champignon. Le mécanisme de cette activité n'a pas été étudié mais il a été supposé que l'activité tyrosinase de ces molécules soit liée à leurs caractéristiques structurales à partir du nombre et de la position de leurs groupements fonctionnels (Nugroho *et al.*, 2009). Plus le degré d'hydroxylation du flavonoïde est important plus la liaison avec le site catalytique est plus facile ce qui augmente l'inhibition de la tyrosinase selon des études antérieurs (**Kim et al ., 2006 ; Xie et al., 2003**)



### 1.3 Les Métabolites secondaires :

#### 1.3.1 Définition

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires tels que les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés varient d'une espèce à l'autre, et bien que leurs effets soient encore mal connus, il est clair qu'ils interfèrent avec les relations que les plantes entretiennent avec les organismes environnants. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que les parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. (**Krief. S, 2003**).

La diversité des relations entre la plante et son environnement conduit à une extrême diversité de composés secondaires dont beaucoup possèdent pharmacologiques potentielles. Cependant de nombreuses espèces végétales n'ont pas été étudiées en profondeur et il est probable que de nombreux composés utiles restent à découvrir.

Les métabolites secondaires peuvent être divisés en plusieurs catégories : il s'agit des composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes, et des composés azotés, y compris les alcaloïdes. Chacune de ces classes contient un ensemble très diversifié de composés avec un très large éventail d'activités thérapeutiques.

#### 1.3.2 Les composés phénoliques

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. On les trouve dans les plantes,

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

depuis les racines jusqu'aux fruits. Un groupe d'une extrême diversité, et dont les flavonoïdes font partie.

Le terme « phénol » englobe plusieurs milliers de molécules ont été identifiées. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Fig. 1), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Bruneton ., 1999 ; Balasundram et al ., 2006**).

Les polyphénols jouent un rôle important dans la croissance, la fertilité, la reproduction et dans les réactions de protection de la plante (**Ruiz-García., 2013**). Ils sont considérés comme bénéfique pour la santé principalement en raison de leur activité antioxydante (**Rocío et al ., 2017**). Ils possèdent aussi un large spectre d'activités biologiques (**Merichel et al.,2018**).

### 1.3.2.1 Classification des composés phénoliques

D'après (**Macheix et al., 2005**), les composés phénoliques sont regroupés en nombreuses classes qui se différencient par :

- ♣ Les voies de la biosynthèse.
- ♣ La complexité du squelette de base (de simple C<sub>6</sub> à des formes polymérisées)
- ♣ Les degrés de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation ...)

**Tableau 5 : Principales classes de composés phénoliques (Macheix et al., 2005),**

Nombre de C	Classe	Exemples/origine
C <sub>6</sub>	Phénols	catéchol
	Simple	
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénols	Hydroquinone
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acide cinnamique	Acide caféique (Café)
	Coumarines	
	Phénylpropènes	
		Eugénol (Giroflier)

$(C_6-C_3)_2$	Lignane	Pinorésinol (Pin)
$(C_6-C_3)_n$	Lignines	Bois, noyau des fruits.
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes	Apigénine (fruits)
	Isoflavonoïdes	Génistéine (Soja,)
	Anthocyanes	Pélagonidine (fruits rouges)
$(C_6-C_3-C_6)_2$	Biflavonoïde	Amentoflavone
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Proanthocyanes (tannins)	Procyanidines (Raisin rouge)

### 1.3.2.2 Les flavonoïdes

#### 1.3.2.2.1 Définition

Les flavonoïdes appartiennent à la famille des polyphénols : ce sont des molécules aromatiques polysubstituées qui agissent comme métabolites secondaires chez les végétaux. Les flavonoïdes sont la classe la plus abondante. Plus de 9 000 structures naturelles ont été isolées et caractérisées. La diversité structurelle des flavonoïdes est la plus grande parmi les angiospermes. Ils sont généralement localisés dans les feuilles (dans ou entre l'épiderme et les plantes mésophiles), dans les fleurs (cellules épidermiques) ou encore dans les fruits (tégument externe). **(Harbone., 1999).**

Les flavonoïdes ont été isolés en 1814 par le scientifique E. Chervreul , mais n'ont été réellement découverts qu'en 1930, Albert Szent - Györgyui les a désignés sous le nom de Vitamine P pour leur efficacité à normaliser la perméabilité vasculaire, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins , cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines , il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes **(Nijveldt et al .,2001).**

Le terme « flavonoïdes » est dû à la couleur jaune qu'ils produisent (flavus en latin). De plus, leur fonction principale chez les plantes semble être due à leur coloration ; outre la chlorophylle, les caroténoïdes et les bêtaïnes. Ils interviennent dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes **(Crozier ., 2003).**

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6.

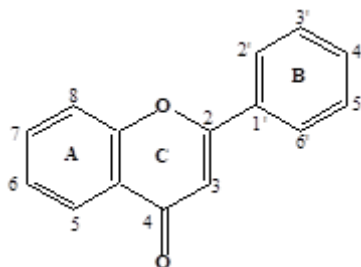


Figure 5 : Structure générale des flavonoïdes

### 1.3.2.2.2 Classification des flavonoïdes

Il existe un grand nombre de flavonoïdes qui se différencient par le nombre, la position et la nature des fonctions phénols et des fonctions méthoxyles substituées sur le noyau, ainsi que par la position des sucres chez les hétérosides (Figure6).

**Les flavones** : Caractérisés par une structure C6 - C3 - C6 avec une liaison C2 - C3 est insaturé, avec une fonction cétone.

**Les flavanes** : Ce sont des composés dont l'hétérocycle central C est saturé. Les flavanes se trouvent dans les écorces des plantes. Ces composés sont connus sous forme monomérique ou polymérique.

**Les flavanones** : L'hétérocycle central C est saturé par rapport à la structure d'une flavone

**Les flavonols** : Ces des flavones sont caractérisées par la présence d'un groupement hydroxyle (OH) en position 3 de l'hétérocycle central.

**Les anthocyanes** : Les anthocyanes sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle central C. Ce sont des composés responsables de la plus grande partie des couleurs rouge, violet et bleu observées dans la nature.

**Les chalcones et les aurones** : Les chalcones sont composés présentent deux cycles aromatiques A et B reliés par une chaîne tri carbonée cétonique  $\alpha, \beta$  insaturé. Ainsi, ces composés phénoliques dépourvus de cycle puranique central C, En ce qui concerne les aurones, il s'agit des isomères structuraux des flavones Ces molécules dérivent des chalcones.



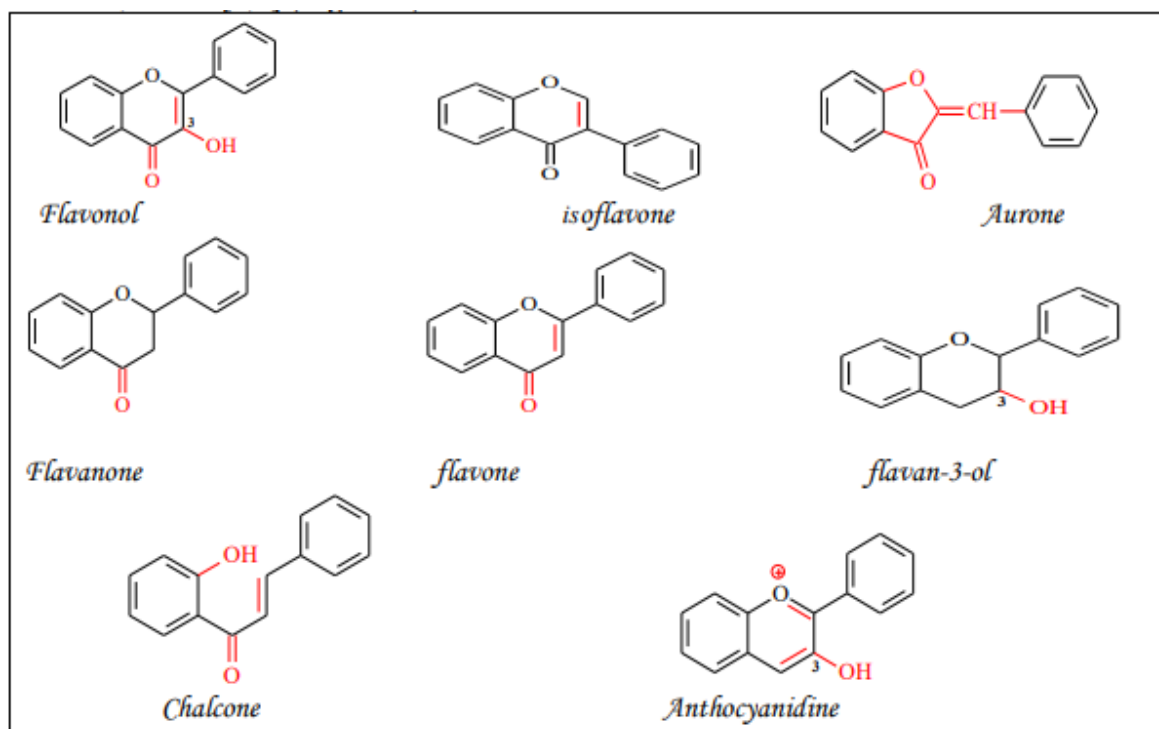


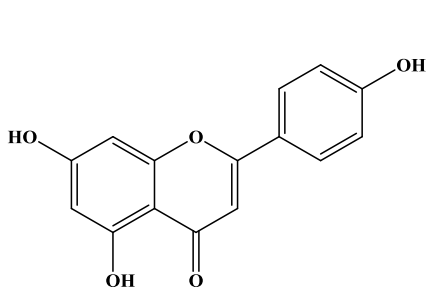
Figure 6 : Les différentes classes de flavonoïdes.

#### 1.3.2.2.3 Les flavonoïdes isolés de la famille des Lamiacées

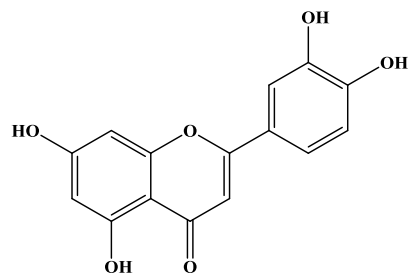
D'après la littérature 113 structures de flavonoïdes ont été répertoriées chez les Lamiacées de 2002 à 2018 dont 60% (65 structures) appartiennent au groupe des flavones : l'apigénine **3** et la Lutéoline **4** sont les plus fréquemment isolés de cette famille. Les flavonols sont représentés par 32 structures qui correspondent à 28% des flavonoïdes isolés. Alors que 12 composés de type flavanones ont été identifiées qui représentent 10% des flavonoïdes. Les flavanols sont représentés principalement par deux structures l'Aromadendrine **5** et la Taxifoline **6** (Abdelaty *et al.*, 2021). La catéchine est le seul composé qui représente les flavanols chez les Lamiacées et qui a été isolé de *Leucas aspera* (Priya *et al.*, 2018) enfin une isoflavone .

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

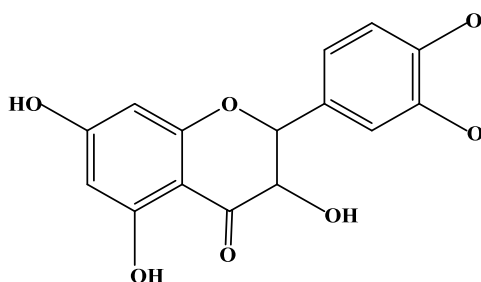
Les flavonoïdes glycosylés quant à eux, sont fréquemment de type flavones-7-O-glycosylés



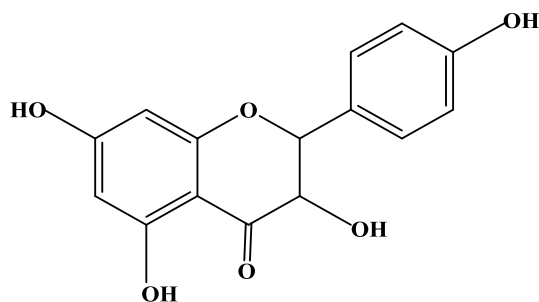
Apigénine 3



Lutéoline 4

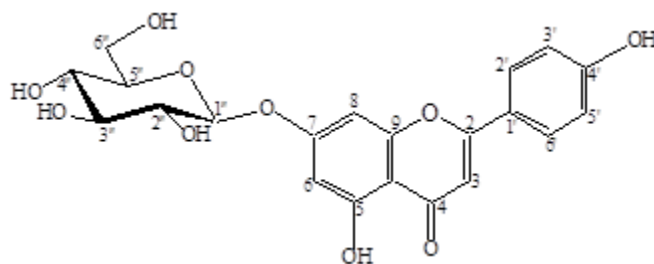


Taxifoline 5



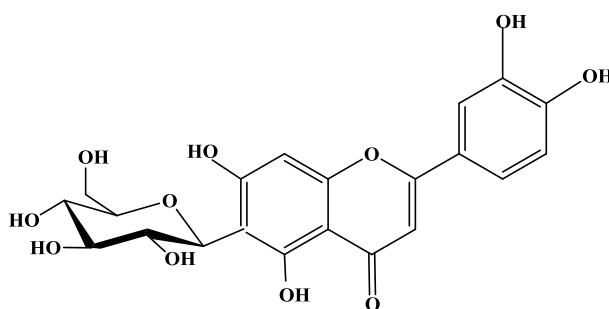
Aromadendrine 6

comme l'apigénin-7-O-glucoside. Des flavonols glycosylés ont été également identifiées comme la quercétin 3-O-glucoside.



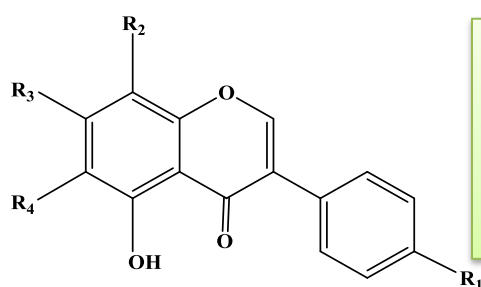
L'apigénin-7-O-glucoside 7

Des C-glycosides de flavones ont été répertoriés comme la lutéolin-6-C-glucoside 8.



## Chapitre 1 : Étude bibliographique

Récemment, L'investigation phytochimique de l'espèce *Melissa officinalis*, une plante utilisée en médecine traditionnelle pour la cuisine et l'aromathérapie a permis d'isoler trois isoflavones : une aglycone 4'- methoxy genisteine **9** et deux isoflavones glycosylés la 6, 8-dimethoxy- biochanin A -7 - O -  $\alpha$  - L- rhamnopyranosyl (1'''-6''') - O - glucoside **10**, et l'isoflavone 6, 8-dimethoxy 7-O- rutinoside, 4'-O- rhamnopyranoside **11** (Seif El-Dein *et al.*, 2023) .

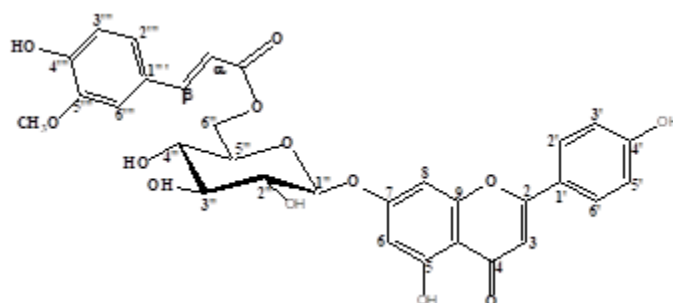


$R_1=OCH_3$  ;  $R_2=R_4=H$  ;  $R_3=OH$      **9**

$R_1=R_4=R_2=OCH_3$  ;  $R_3=O$ -rutinose     **10**

$R_1=O$ -rh ;  $R_2=R_4=OCH_3$  ;  $R_3=O$ -rutinose     **11**

Les dérivés de l'apigénine -*p*-coumarylglucoside sont les plus fréquemment rencontrés dans le genre *Phlomis* et *Marrubium*. Une étude phytochimique de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Phlomis bovei* de Noé a permis d'identifier un flavonoïde glycosylé coumaroylé connu sous le nom d'apigénine-7-O-(6''-(5''' methoxy-coumaryl) glucoside **12** isolé pour la première fois du genre *Phlomis* et de la famille des Lamiacées (Zaabat *et al.*, 2020).



apigénine-7-O-(6''-(5''' methoxy-coumaryl) glucoside **12**

### 1.3.2.2.4 Les flavonoïdes isolés du genre *Lamium* :

Des études phytochimiques ont été effectuées sur le genre *Lamium* depuis plus de 40 ans qui ont montré sa richesse en différentes classe des composés naturels dont les anthocyanes, les

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

---

bétaïnes les terpènes, les iridoïdes et les huiles essentielles (Yalcin *et al.*, 2006 ; Yordanova *et al.*., 2014 ; Czerwinska *et al.*, 2017).

Les espèces de ce genre est une source abondante des acides phénoliques et des flavonoïdes qui sont considérés comme les principaux groupes de composés isolés et qui possèdent diverses activités biologiques (Salehi *et al.*., 2019).

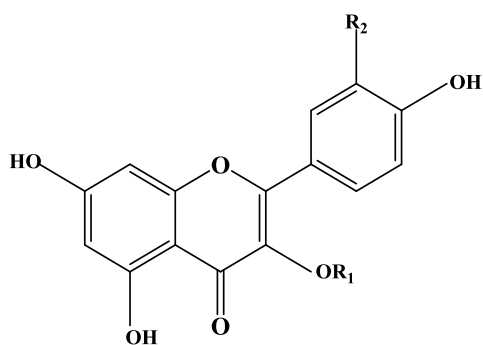
D'après la littérature les flavonoïdes de type flavones, flavonols, flavanols, flavanones et leurs dérivés *O*-glycosylés sont les plus isolés du le genre *Lamium* (Tableau 6).

Une étude phytochimique réalisée par la méthode HPLC sur l'extrait méthanol des fleurs de l'espèce *Lamium album*, une plante utilisée en alimentation humaine en Europe, en chine et au japon a révélé la présence de trois flavonoïdes, la quercétine **13**, l'isoquercétine **14**, et la rutine **15**. Alors que Pereira et al ont détecté pour la première fois la présence de dérivé de la flavone isoscutellaréine **16** qui présente un tiers de la quantité totale des composés phénoliques dans l'extrait éthanol des racines de *Lamium album*. Des dérivés de kampférol et de quercétine ont été également identifiés dans l'extrait éthanolique de *Lamium* d'après la littérature (Botirov *et al.*.,2019).

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

**Tableau 6 : Les flavonoïdes isolés du genre *Lamium*.**

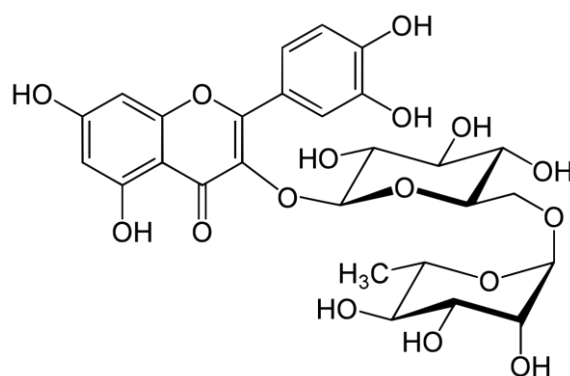
Espèce	Structure	Références
<i>Lamium maculatum</i>	3,7-dimethoxy quercétine <b>18</b> , rutine <b>15</b> ,	<b>Cui Shuya et al., 2003</b>
	3'-methylquercétine-3-O-rutinoside <b>17</b>	<b>Deng et al., 2003</b>
<i>Lamium album</i>	isoscuteallareine-7-O-(6-O-acetylallosyl) (1→2) glucoside <b>19</b>	<b>Pereira et al., 2012</b>
	Isoscuteallareine-7-O-allosyl (1→2) glucoside <b>20</b>	
	, 4' -O-méthylisoscuteallareine-7-O-allosyl (1→2) glucoside <b>21</b>	
	4' -O-méthylisoscuteallareine-7-O-(6-O-acetylallosyl) (1→2) <b>22</b> ;	
	, apigénine-7-O-glucoside <b>23</b> ,	
	apigénine-7-O-rutinoside <b>24</b> naringénine-7-O-rutinoside <b>25</b> lutéoline-7-O-glucoside <b>26</b>	
	quercétine-3-O- glucoside <b>27</b> ; quercétine-3-O-galactoside <b>28</b> ; kaempferol-3-O-galactoside <b>29</b> kaempferol 3-O-rutinoside <b>30</b>	<b>Botirov et al., 2019</b>
<i>Lamium amplexicaule</i>	kaempferol 3-O-[glucosyl-(1→4)][rhamnopyranosyl-(1→6)]-glucoside <b>1</b> quercétine 3-O-[glucosyl-(1→4)][rhamnosyl-(1→6)]-β-D-glucooside <b>2</b> lutéoline-7-O-glucoside	<b>Nugroho et al., 2009</b>



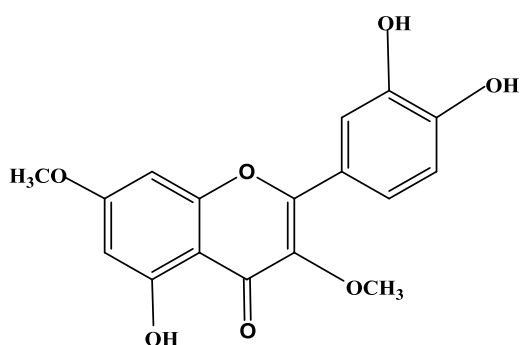
R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>= OH : quercétine **13**

R<sub>1</sub>=glu, R<sub>2</sub>=OH : isoquercétine **14**

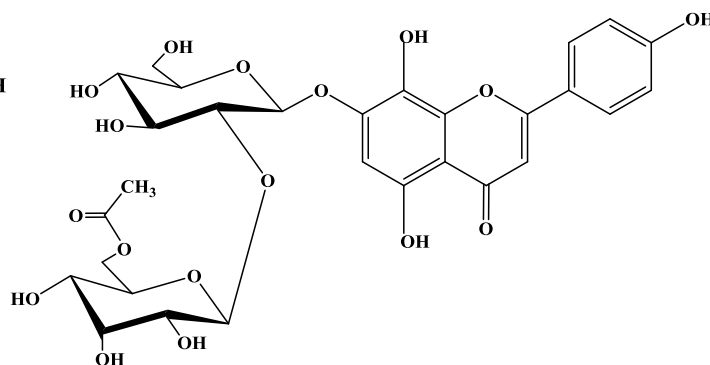
R<sub>1</sub>=6''-α-rhamnosyl-β-glucoside,  
R<sub>2</sub>=OCH<sub>3</sub> : 3'-methylquercétine-3-O-  
rutinoside **17**



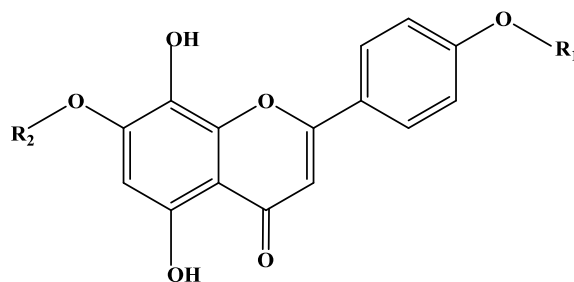
rutine **15**



3,7-diméthoxy quercétine **18**



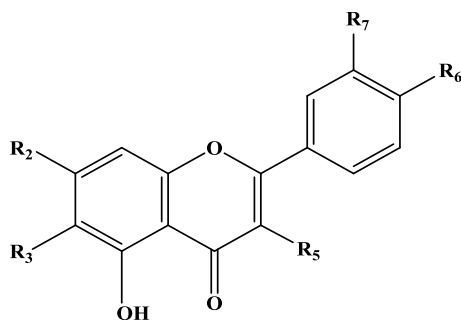
Isoscutellareine-7-O-(6-O-acetylallosyl) (1 → 2 )  
glucoside **19**



	R1	R2	
isoscutellaréine	H	H	<b><u>16</u></b>
Isoscutellaréine-7-O-allosyl (1 → 2) glucoside	H	Allo-Glc	<b><u>20</u></b>
4'-O-méthylisocutellaréine-7-O-allosyl) (1 → 2 ) glucoside	CH <sub>3</sub>	Allo-Glc	<b><u>21</u></b>

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

<b>4'-O-méthylisoscuteftaréine-7-O-(6-O-acétylallosyl) (1 → 2 ) glucoside</b>	CH <sub>3</sub>	Ac-Allo-Glc	<b><u>22</u></b>
Allo : allosyl;                      Glc : glucoside                      Ac : acétyl			



	R <sub>2</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	
<b>apigénine -7-O-glucoside</b>	<i>O</i> -Glu	H	OH	H	<b><u>23</u></b>
<b>apigénine -7-O-rutinoside</b>	<i>O</i> -Rut	H	OH	H	<b><u>24</u></b>
<b>naringénine -7-O-rutinoside</b>	<i>O</i> -Rut	H	OH	H	<b><u>25</u></b>
<b>lutéoline-7-O-glucoside</b>	<i>O</i> -Glu	H	OH	OH	<b><u>26</u></b>
<b>quercétine-3-O- glucoside</b>	OH	<i>O</i> -Glu	OH	OH	<b><u>27</u></b>
<b>quercétine-3-O- galactoside</b>	OH	<i>O</i> -Gal	OH	OH	<b><u>28</u></b>
<b>Kaempferol-3-O-galactoside</b>	OH	<i>O</i> -Glual	OH	H	<b><u>29</u></b>
<b>Kaempférol -3-O-rutinoside</b>	OH	<i>O</i> -Rut	OH	H	<b><u>30</u></b>

### 1.4 Chromatographie

#### 1.4.1 Définition

La chromatographie est une méthode d'analyse physicochimique, utilisée pour séparer les constituants d'un mélange (les solutés) par entraînement, au moyen d'une phase mobile (liquide) le long d'une phase stationnaire (solide), grâce à la répartition sélective des solutés entre ces deux phases. Chaque soluté est donc soumis à une force de rétention (exercée par la phase stationnaire) et une force de mobilité (due à la phase mobile).

#### 1.4.2 Classification d'après le procédé opératoire

**La chromatographie sur colonne (CC)** : la phase stationnaire est contenue dans une colonne en verre.

**La chromatographie planaire** on distingue deux types :

**La chromatographie sur papier (CP)** : une surface plane de cellulose considérée comme support maintient par imbibition une phase stationnaire liquide.

**la chromatographie sur couche mince (CCM)** : repose principalement sur des phénomènes d'adsorption la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon a été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant.

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont :

**La cuve chromatographique** : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.

**La phase stationnaire** : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris) l'amidon ou un polymère organique.

**L'échantillon** : environ un microlitre (uL) de solution diluée du mélange à analyser, déposé en un point situé au - dessus de la surface de l'éluant.

**L'éluant** : un mélange de solvant qui migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon.



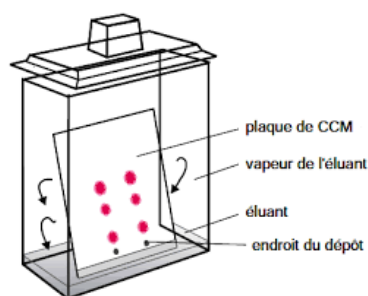


Figure 7 : Schéma d'une chromatographie sur couche mince (CCM).

### 1.5 Méthodes d'analyse structurale des flavonoïdes par la spectrophotométrie UV visible

#### 1.5.1 La fluorescence sous lumière de Wood

L'absorption des substances flavoniques sous lumière de Wood à la longueur d'onde de 365 nm donne des renseignements préliminaires sur la structure chimique. Le tableau 7 montre la relation entre la fluorescence et la structure chimique (Mabry, 1970)

Tableau 7 : Relation entre la fluorescence sous lumière de Wood et les structures flavoniques

La fluorescence	Les structures possibles
<b>Violette noire</b>	Flavones avec 5-OH Flavonol avec 3-OR, 5-OH, 4'-OH Chalcones.
<b>Bleue</b>	Flavone ou flavonol sans OH libre en 5. Flavanone avec OH en 3 ou flavanol. Flavonol avec 3-OH et sans 5-OH.
<b>Jaune ou jaune terne</b>	Flavonol avec 3-OH, et avec ou sans 5-OH
<b>Orange fluorescente</b>	Isoflavones
<b>Jaune-verte</b>	Aurones
<b>Bleue-verte</b>	Flavanone sans 5-OH

#### 1.5.2 Spectrophotométrie UV-visible

C'est la méthode la plus importante pour l'identification des flavonoïdes. Le principe de cette technique est basé sur le fait que chaque composé flavonique a un spectre d'absorption

caractéristique dans le milieu méthanolique, qui change après l'addition de différents réactifs (NaOH, AlCl<sub>3</sub>/HCl, NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) (Tigrine-Kordjani *et al.*, 2011).

Les flavonoïdes présentent deux formes limites : la forme cinnamoyle à qui on attribue la bande (I) son pic d'absorption dans le méthanol est compris entre (300-380 nm) et la forme benzoyle à qui on attribue la bande (II), absorbe dans le méthanol à (240-280 nm) (Maiza., 1993) (Figure 8)

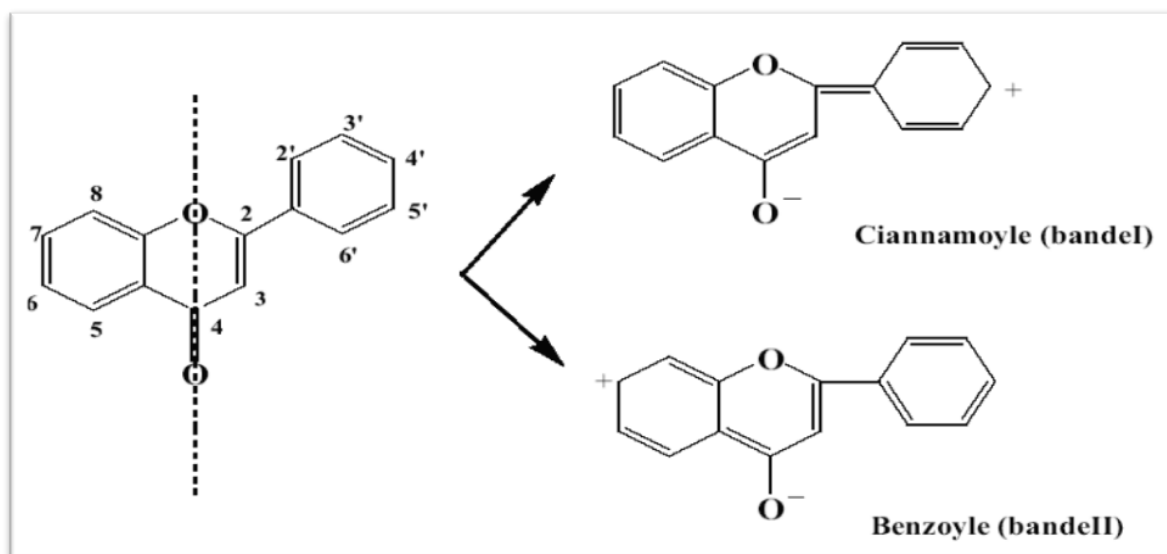


Figure 8 : Les bandes caractéristiques du squelette flavonique.

L'utilisation de différents réactifs nous permet de localiser les substituants sur le squelette flavonique.

### 1.5.2.1 Addition de NaOH

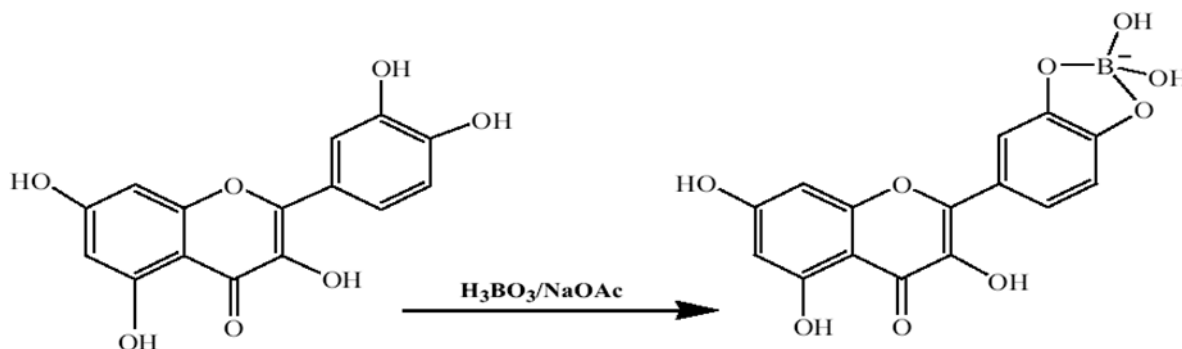
C'est une base forte qui peut ioniser tous les groupements hydroxyles du flavonoïde. C'est pourquoi il est difficile de relier les déplacements du spectre dus à l'addition de NaOH avec le flavonoïde hydroxylé. Cependant, l'effet de NaOH sur les flavones et les flavonols est de détecter les hydroxyles dans les positions 3 et / ou 4'.

### 1.5.2.2 Addition de NaOAc

L'acétate de sodium est une base faible par rapport à la soude, elle ionise les groupements hydroxyles acides C3, C7 et C4'. C'est un réactif spécifique pour détecter le groupement hydroxyle en C7.

### 1.5.2.3 Addition de $H_3BO_3 + NaOAc$

La présence de l'acide borique avec l'acétate de sodium permet de détecter les groupements ortho dihydroxyles sur les carbones C5 et C6. L'acide borique forme alors des complexes avec les hydroxyles phénoliques de la position ortho (**Figure 9**) (**Harborne., 1975**).



**Figure 9 : la réaction de formation des complexes de l'acide borique avec les hydroxyles phénoliques.**

### 1.5.2.4 Addition d' $AlCl_3 + HCl$ :

L'acide de Lewis forme avec les flavonoïdes contenant un groupement hydroxyle en C5 ou en C3 des complexes stables et des complexes instables avec des flavonoïdes possédant des groupements hydroxyles en position ortho. L'addition de l'acide chlorhydrique décompose le complexe formé avec les groupements hydroxyles en ortho, et n'a aucun effet sur les complexes formés avec les groupements OH en C3 ou en C5 (figure). Le tableau 8 résume les principales caractéristiques des spectres UV des flavones et flavonols.

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

**Tableau 8: Caractéristiques spectraux UV-visible des flavonoïdes en présence des différents réactifs.**

Réactifs	Déplacements en nm		Interprétation
	Bande I	Bande II	
<b>MeOH</b>	310-350	250-280	Flavones
	330-360	250-280	Flavonols (3-OR)
	350-385	250-280	Flavonols
<b>NaOH</b>	(+ ) 45 à 65 avec augmentation de l'intensité		
	-Stable, intensité ne diminue pas.		4'-OH
	-Intensité diminue.		
	-Intensité diminue avec le temps, décomposition.		3-OH, 4'-OR 3, 4'-OH, 3, 3', 4'-OH
<b>NaOAc</b>	(+ ) 5 à 20		
	Faible déplacement si on a 6 ou 8 oxygénations.		7-OH
	Pas de déplacement ou très faible.		7-OR
<b>NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	Spectre se décompose avec le temps.		5, 6,7 ou 5, 7,8 ou 3,3',4' tri-OH
	(+ ) 12 à 36 (+ ) 5 à 10		Ortho diOH sur B en 3,4' Ortho diOH sur A (6,7 ou 7,8)
<b>AlCl<sub>3</sub>/ AlCl<sub>3</sub>+HCl</b>	(+ ) 35 à 55		5-OH
	(+ ) 17-20		5-OH avec une oxygénation en 6
	(+ ) 50-60		3-OH ou 3,5-diOH
<b>AlCl<sub>3</sub>+HCl/HCl</b>	(+ ) 30-40		Ortho diOH sur B
	(+ ) 20-25		Ortho diOH sur A et Ortho diOH sur B
	(+ ) 10		Ortho OH, OMe en 3',4'

### 1.6 Références du Chapitre 1

Abbouyi E., Ahmed P., Filali-Ansari N., Khyari P. S., and Loukili H., “Inventory of medicinal plants prescribed by traditional healers in El Jadida city and suburbs (Morocco),” *International Journal of Green Pharmacy*, 2014, 8(4), 242.

Abdollahi M, Karimpour H, Monsef-Esfehani HR. (2003). Antinociceptive effects of *Teucrium polium* L. total extract and essential oil in mouse writhing test. *Pharm Res* 48: 31–35.

Akkol .E.K, Yalcin F N, Kaya D, Calis I, Yesilada E, Ersoz T. (2008). Action anti-inflammatoire et antinociceptive in vivo de certaines espèces de *Lamium* . *J Ethnopharmacol*, 118, 166-172.

Akram, M., Uzair, M., Malik, N.S., Mahmood, A., Sarwer, N., Madni, A., Asif, H.M. (2011): *Mentha arvensis* Linn. a review article. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 4499–4503.

Algieri F., Zorrilla P., Rodriguez-Nogales A., Garrido-Mesa N., Banuelos O., Gonzalez-Tejero M.R., Casares-Porcel M., Molero-Mesa J., Zarzuelo A., Utrilla M.P. (2013): Intestinal anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts of *Phlomis purpurea* L. and *Phlomis lychnitis* L. in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *Journal of Ethnopharmacology*, 146: 750–759

Ali, T.; Zahida, S.; Basher, R. A. (2019). Review on phytochemical and ethnopharmacological studies of *Ajuga bracteosa* Wall. *Ex Benth. J. Drug Deliv. Ther.* 2019, 9, 489–492.

Bounihi, A., Hajjaj, G., Alnamer, R., Cherrah, Y., and Zellou, A. (2013). In Vivo Potential Anti-Inflammatory Activity of *Melissa officinalis* L. Essential Oil. *Advances in Pharmacological Sciences*. 1-7.

Araújo, S.G., Alves L.F., Pinto, M.E.A., Oliveira, G.T., Siqueira E.P., Ribeiro, R.I.M.A., Ferreira, J.M.S., Lima, L.A.R.S. (2014). Volatile compounds of Lamiaceae exhibit a synergistic antibacterial activity with streptomycin. *Brazilian Journal of Microbiology*. 45, 1341–1347

Balasundram, N., Sundram, K. et Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99 : 191–203.

Baran, P., Özdemir, C. Morphological, anatomical and cytological studies on endemic *Lamium pisidicum*. *Pak. J. Bot.* 2013, 45, 73–85.

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

---

Baytop, T. ( 1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), 2nd edition, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 163.

Bendif , H. ( 2017 ) . Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae : *Ajuga reptans* ( L. ) Schreb .. *Teucrium polium* L. *Thymus munbyanus sub sp* . *Coloratus* ( Boiss . & Reut . ) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr , thèse de doctorat , l'école normale supérieure de KOUBA - Alger , département des sciences naturelles , biotechnologie végétale , P. 26 .

Bendif, H., Miara, M D ., Harir M, Merabti, K. , Souilah, N. ,Guerroudj, S. , Labza, R. (2018). An Ethnobotanical survey of Medicinal Plants in ElMansourah (west of Bordj Bou Arreridj , Algeria). *Journal of Soil and Plant Biology*. 1, 24-39.

Bendiksby, M., Brysting, A.K., Thorbek, L., Gussarova, G., Ryding, O. (2011). Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Lamium* L. (Lamiaceae): Disentangling origins of presumed allotetraploids. 60, 986–1000

Bisset, N.G. (Ed.), (1994). Herbal drugs and phytopharmaceuticals, CRC Press, Medpharm, Stuttgart, 73–75.

Botirov, E.K. (2019). Flavonoids and Phenolcarboxylic Acids from *Lamium album*. *Chem. Nat. Compd*. 55, 1159–1160.

Bouajaj, S., Benyamna, A., Bouamama, H., Romane, A., Falconieri, D., Piras, A., Marongiu, B. (2013). Antibacterial allelopathic and antioxidant activities of essential oil of *Salvia officinalis* L. growing wild in the Atlas Mountains of Morocco. *Natural Product Research*, 27,1673–1676.

Bouhaddouda , N. ( 2016 ) . Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*.thèse doctorat , univ . Annaba , p.24.

Brahmi, E ., Hadj – Ahmed, S. , Zarrouk, A. , Bezine, M. , Nury, T. Madami, K. , Chibane, M. Vejus, A ., Andreoletti, P. , Boulekbache – Makhlof, L., Lizard, G. ( 2017 ) . Evidence of biological activity of *Mentha* species extracts en apoptotic and autophagic targets on murine RAW264.7 and human U937 monocytic cells . *Pharmaceutical Biology* . 286-293.

Bruneton, J. (1999). Phytochimie. Plantes médicinales. Pharmacognosie. 3 eme édition, Paris, France. pp : 125165.

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

---

Bubueanu, C., Gheorghe, C., Pirvu, L., Bubueanu, G. (2013). Antioxidant activity of butanolic extracts of Romanian native species—*Lamium album* and *Lamium purpureum*. Rom. Biotechnol. Lett. 18, 7255–7262.

Crozier, A. (2003). Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants' Diet and Health*". Ed. Goldberg. pp: 27- 48.

Czerwińska, M.E., Swierczewska, A., Wozniak, M., Kiss, A.K. (2017). Bioassay-guided isolation of iridoids and phenylpropanoids from aerial parts of *Lamium album* and their anti-inflammatory activity in human neutrophils. *Planta Med.* 83, 1011–1019.

De Marino, S., Festa, C., Zollo, F., Incollingo, F., Raimo, G., Evangelista, G. (2012). Antioxidant activity of phenolic and phenylethanoid glycosides from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry.* 133 (1),21–8.

Deng, Y.R., He, L., Li, W.Q., Wang, H.Q. (2003). Studies on chemical constituents in herb of *Lamium maculatum* L. var *Kansuense*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.*, 28, 730–732.

Djabou, N., Lorenzi, V., Guinoiseau, E., Andreani S., Giuliani, M. C., Desjobert, J.M., Bolla, J.M., Costa, J., Berti, L., Luciani, A., Alain Muselli A. (2013). Phytochemical composition of Corsican *Teucrium* essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxicoinfectious pathogens. *Food Control.* 30, 354–63.

Dobignard, A., Chatelain, C. (2012). Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord (Vol. 3), C.J.B.G, Genève . 431, 449.

Esmaeili, M.A., Yazdanparast, R. (2004). Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: Studies with rat pancreatic islets. *Journal Ethnopharmacology.*95, 27–30.

Grayer, R. J., Eckert, M. R., Veitch, N. C., Kite, G. C. (2003). The chemotaxonomic significance of two bioactive caffeic acid esters, Nepetoidins A and B, in the Lamiaceae. *Phytochemistry*, 64, 519-528.

Guignard, J. L., Pelt, J. M., 2001. *Botanique Systematique moleculaire.*12e edition. Masson, Paris.

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

---

Hadjad, j k., Benaissa, M., Mahammedi, M., & Ouragh A., Rahmoue, A. (2019). l'importance des plantes medicinales pour la population rurale du parc national de djebel aissa (sud ouest algerien). *lejeunia revue de botanique*.

Hamel, T., Seridi, R., G. de Bélair, A. Slimani, B. Babali. (2013). Flore vasculaire rare et endémique de la péninsule de l'Edough (Nord-Est-Algérien). *Rev. Sci. Technol. Synthèse*. 26, 65–74.

Harborne, J.B., Mabry, T.J. and Mabry, H. (1975). *The flavonoïds*. Academic Press , TomeII.

Heinrich M, Muller WE, Galli C. (2006). *Local mediterranean food plants and nutraceuticals*. 59. Karger.

Heywood, V. H., Brumitt, R. k., Culham, A., Seberg, O. (2007). *Flowering plant families of the world*. Royal botanic Gardens, Kew.

[https://www.plantesbotanique.org/famille\\_lamiaceae#:~:text=Description,est%20tr%C3%A8s%20facile%20%C3%A0%20reconna%C3%Aetre](https://www.plantesbotanique.org/famille_lamiaceae#:~:text=Description,est%20tr%C3%A8s%20facile%20%C3%A0%20reconna%C3%Aetre).

Jan, H.A., Ahmad, S.W.L., Jan, S., Ahmad, N., Ullah, N. (2017). Ethnomedicinal survey of medicinal plants of chinglai valley, buner district, pakistan. *Eur. J. Integr. Med.* 13, 64–74.

Kim, D.H., Park, J.Y., Kim, J.H., Han CK, Yoon, J.H., Lee, C.H. (2006). Flavonoids as mushroom tyrosinase inhibitors: A fluorescence quenching study. *J Agric Food Chem* . 54, 935 – 940.

Krief, S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat.*

Maamar sameut, y., Belhacini, f., Bounaceur, f. (2020). *Etude ethnobotanique dans le sud-est de chlef (algérie occidentale. Revue Agrobiologia*. 10(2),2044-61.

.Mabry, T.J., Markham, K.R., and Thomas, M.B. (1970), *The systematic identification of flavonoids*. Springer-Verlag New York, Heidelberg. 254.

Macheix, J. J., Fleuriet, A. , jay-Allemand, C. (2005). *les composés phénoliques des végétaux (un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques)*. Edition techniques et documentation Lavoisier.



## Chapitre 1 : Étude bibliographique

---

Maiza, K., Hammiche, V., Brac de la Perrière, R.A. (1993). Traditional saharian pharmacopoeia., Medicinal and Aromatic Plants .

Martin, P. (2014) . Les familles de plantes à fleurs d'Europe : Botanique systématique e utilitate , Ed, Presses Universitaires de Namur , Belgique , p289.

Matkowski, A., & Piotrowska, M. (2018). Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from Lamiaceae. *Fitoterapia*, 77, 346- 35.

Mennema, J. A Taxonomic Revision of *Lamium* (Lamiaceae); Brill Archive: Leiden, The Netherlands, 1989. Baran, P.; Özdemir, C. (2013). Morphological, anatomical and cytological studies on endemic *Lamium pisidicum*. *Pak. J. Bot.* 45, 73–85

Merichel, P., Domínguez-Rodríguez, G., Castro-Puyana, M., et Marina M. L. (2018). Polyphenols Analysis and Related Challenges. In *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications*. 177-232.

Nagarkoti, K.; Kanyal, J.; Prakash, O.; Kumar, R.; Rawat, D.S.; Pant, A.K. *Ajuga L.* (2021). A systematic review on chemical composition, phytopharmacological and biological potential. *Curr. Bioact. Comp.* 17.

Naghbi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed S. & Ghorbani, A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2(1) : 63-79.

Ni, B.; Dong, X.; Fu, J.; Yin, X.; Lin, L.; Xia, Z.; Zhao, Y.; Xue, D.; Yang, C.; Ni, J. (2015). Phytochemical and biological properties of *Ajuga decumbens* (Labiatae): A review. *Trop. J. Pharm. Res.* 14, 1525–1536.

Ninomiya, K., Nishida, S., Matura, Y., Asada, M., Kawahara, Y., Yoshikawa, M., Nishida, N., Matsuura, Y. (2006). Fat-metabolism improving agent for use in food/drink for improving fat metabolism and preventing/treating lifestyle related disease e.g. diabetes, contains polar solvent extract of herb e.g. rose hip fruit, mugwort or safflower. In *Morshita Jintan KK, MORI-Non-standard*, 19.

Abdelaty, N. A., Attia, E. Z., Hamed, A. N. E., Desoukey, S. Y. (2021). Review on various classes of secondary metabolites and biological activities of Lamiaceae (Labiatae) (2002-2018). *J. Adv. Biomed. & Pharm. Sci.* 4 , 16-31.

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

---

Nugroho, A., Choi J.K., Park J. H., Lee, K.T., Cha B., Park H.. (2009). Two New Flavonol Glycosides from *Lamium amplexicaule* L. and Their *in vitro* Free Radical Scavenging and Tyrosinase Inhibitory Activities. *Letter Planta Med.* 75, 364 – 366

Nijveldt, R. J., Nood, E., van Hoorn, D. E, Boelens, P. G, Norren, K., van Leeuwen, P. A.(2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.* 74(4), 418-425.

Nugroho, A., Choi, J.K., Park, J.H., Lee, K.T., Cha, B.C., Park, H.J. (2009). Two new flavonol glycosides from *Lamium amplexicaule* L. And their *in vitro* free radical scavenging and tyrosinase inhibitory activities. *Planta Med.* 75, 364–366.

Ouadeh, N., Benhissen, S., Belkassam, A., Bendif, H., & Rebbas, K. (2021). Ethnobotanical study and inventory of medicinal plants in the Dréat region (M'Sila, Algeria). *Geo-Eco-Trop.* 45(4), 617-633.

Ozkan, M. (2008): Glandular and eglandular hairs of *Salvia recognita* Fisch. & Mey. (Lamiaceae) in Turkey. *Bangladesh Journal of Botany.* 37, 93–95.

Ozenda, P. (1991). *Flore et végétation du sahara.* C.N.R.S. 3rd Edition, T.III, Paris, 660.

Pereira, O.R.; Domingues, M.D.R.; Silva, A.M.; Cardoso, S.M. (2012). Phenolic constituents of *Lamium album*: Focus on isoscutellarein derivatives. *Food Res. Int.* 48, 330–335.

Picuric-Jovanovic, K., Milovanovic, M., Budincevic, M., Vrbaski, Z. (1997). Antioxydative wirkung von *lamium purpureum* als nahrungsmittelzusatzstoff. In *Acta of the 6th Symposium “Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier”*; Friedrich-Schiller Universität: Jena, Germany.

Priya R, Nirmala M, Shankar T, Malarvizhi A. (2018). Phytochemical compound of *Leucas aspera* L. *Pharmacological Benefits of Natural Products.* 1, 19-35.

Qing, X., Yan, H.M., Ni, Z.Y., Vavricka, C.J., Zhang, M.L., Shi, Q.W., Gu, Y.C., Kiyota, H. (2017). Chemical and pharmacological research on the plants from genus *Ajuga*. *Heterocycl. Commun.* 23, 245–268.

Quézel, P., Santa, S. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.* (1963). Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique: Paris, France. 2,783.

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

---

Rasekh, H. R., Khoshnood, M. J., Kamalinejad, M. (2001). Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats Fitoterapia. 72, 937–9.

Rao, B.R.R., Kothari, S.K., Rajput, D.K., Patel, R.P., Darokar, M.P. (2011). Chemical and biological diversity in fourteen selections of four *Ocimum* species. Natural Product Communications. 6, 1705–1710

Rehman, K., Mashwani, Z.U., Khan, M.A., Ullah, Z., Chaudhary, H.J. (2015). An ethnobotanical perspective of traditional medicinal plants from the khattak tribe of chonthra karak, pakistan. J. Ethnopharmacol. 165, 251–259.

Rocío, G.M., Fernández-Fernández, J. I., Crespo-Villegas, O., et Garde-Cerdán, T. (2017). Elicitors Used as a Tool to Increase Stilbenes in Grapes and Wines . Food Research International. 98, 34–39.

Ruiz-García, Y., & Gómez-Plaza, E. (2013). Elicitors: A tool for improving fruit phenolic content. Agriculture, 3, 33–52.

Sahinler, S. S., Yilmaz, B. S., Sarikurkcu, C., Tepe, B. (2002). The importance of *Lavandula stoechas* L. in pharmacognosy and phytotherapy. International Journal of Secondary Metabolite . 9( 3), 360–376.

Salehi, B., Armstrong, L., Rescigno, A., Yeskaliyeva, B., Seitimova, G., Beyatli, A. (2019). *Lamium* Plants-A Comprehensive Review on Health Benefits and Biological Activities. Molecules. 24, 1913.

Salhi, N., Bouyahya, A., Fettach, S., Zellou, A., and Cherrah, Y. (2019). Ethnopharmacological study of medicinal plants used in the treatment of skin burns in occidental Morocco (area of Rabat). South African Journal of Botany. 121, 128–142.

Seif El-Dein, N. A., AbdAlhady, N. M., Temraz, A. S. M., Abd-Elatiff, D. M., and Ibrahim, M. T. (2023). Phytochemical and Biological Study of *Melissa officinalis* (Family Lamiaceae) Cultivated in Egypt. Azhar Int J Pharm Med Sci . 3 (1),132-143.

Slimani, I., Najem, M., Belaidi R. (2016). “Ethnobotanical survey of medicinal plants used in Zerhoun region, Morocco,” International Journal of Innovation and Applied Studies. 15(4), 846–863.

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

---

Shuya, C., Xingguo, C., and Zhide, H. (2003). Identification and determination of ecdysone and phenylpropanoid glucoside and flavonoids in *Lamium maculatum* by capillary zone electrophoresis. *Biomed. Chromatogr.* 17, 477–482.

Stevens, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]." <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>

Tahri, N., El basti, A., Zidane, L., Rochdi, A., Douira, A. (2012). Etude Ethnobotanique Des Plantes Medicinales Dans La Province De Settat (Maroc)., *Journal of Forestry Faculty.* 12 (2), 192-208

Tamert, A., & Latreche, A. (2016). Activité antioxydante des extraits de six *Lamiaceae* aromatiques de l'Algérie occidentale. *Phytothérapie*, 1-8.

Tigrine-Kordjani, N ., Meklati, B.Y., Chemat, F . (2011). Contribution of microwave accelerated distillation in the extraction of the essential oil of *Zygophyllum album* L. *Phytochemical Analysis.* 22(1), 1–9 .

Toiu, A. , Mocan, A., Vlase, L., Pârvu, A. E., Vodnar, D. C., Gheldiu, A.M., Moldovan, C., and Oniga I. (2018). Phytochemical composition, antioxydant, antimicrobial and in vivo anti-inflammatory activity of traditionally used Romanian *Ajuga Laxmanii* Murray Benth . *Frontiers in Pharmacology .* 9 , 1-15.

Tomas-Barberan, F.A., Gil, M.L. (1992). Chemistry and Natural Distribution of Flavonoids in the Labiatae; Royal Botanical Gardens: London, UK.

Turner, N.J., Łukasz, Ł.J., Migliorini, P., Pieroni, A., Dreon, A.L., Sacchetti, L.E., Paoletti, M.G. (2011). Edible and Tended Wild Plants, Traditional Ecological Knowledge and Agroecology. *Crit. Rev. Plant Sci.* 30, 198–225.

Weiss, R.F. (1988) *Herbal medicine.*, Gothenburg. First Edition UK .

Willis, A. (1973). *Dictionary of Flowering Plants and Fern*, 8th edition, Cambridge University Press, Cambridge, 624-626.

World Flora Online. Available online: <http://www.worldfloraonline.org/> (accessed on 4 October 2022).

## Chapitre 1 : Étude bibliographique

---

Wu, C.F, Bohnert, S., Thines, E. (2016). Cytotoxicity of *Salvia miltiorrhiza* against multidrug-resistant cancer cells. *Am J Chin Med.* 44(4), 871-894.

Xie, L.P., Chen, Q.X., Huang, H., Wang., H.Z, Zhang, R.Q. (2003). Inhibitory effects of some flavonoids on the activity of mushroom tyrosinase. *Biochemistry (Moscow).* 68, 487 – 9113

Xu, F. (2008) Chinese medicine e.g. for treating arthropathy, comprises broad cocklebur, vervain, condyle grass, Phytochem Rev 123 motherwort, saxifrage, cactus, mulberry branch, white dead nettle, Boston ivy, Folium photiniae, water pepper and Chinese fever vine. In: Xu F, XUFF-Individual, p 10.

Yalcin, F.N., Kaya, D. (2006). Ethnobotany, pharmacology and phytochemistry of the genus *Lamium* (lamiaceae). *FABAD J. Pharm. Sci.* 31, 43–52.

Yildirim, A.B., Karakas, F.P., Turker, A.U. (2013): *In vitro* anti-bacterial and antitumor activities of some medicinal plant extracts growing in Turkey. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6, 616–624.

Yordanova, Z.P., Zhiponova, M.K., Iakimova, E.T., Dimitrova, M.A., Kapchina-Toteva, V.M. (2014). Revealing the reviving secret of the white dead nettle (*Lamium album* L.). *Phytochem. Rev.* 13, 375–389.

Yucharoen, R., Anuchapreeda, S., Tragoolpua, Y. (2011): Anti-herpes simplex virus activity of extracts from the culinary herbs *Ocimum sanctum* L., *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum americanum* L. *African Journal of Biotechnology.* 10, 860–866

Zaabat, N. ( 2011 ), Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de deux espèces de la famille des Lamiacées : *Marrubium deserti* de Noé et *Phlomis bovei* de Noé . Thèse de doctorat. Université Constantine1.

Zaabat, N. , Hay, A. E., Michalet, S., Skandrani, I., Chekir-Ghedira, L., Dijoux-Franca, M. G., Akkal , S. (2020). Chemical composition, Antioxydant, Genotoxic and Antigenotoxic Potentials of *Phlomis bovei* De Noé Aerial parts. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.*19 (1).

Zhang, H., Rothwangl, K., Mesecar, A.D., Sabahi, A., Rong, L., Fong, H.H.S. (2009). Lamiridosins, hepatitis c virus entry inhibitors from *Lamium album*. *J. Nat. Prod.* 72, 2158–2162.

*Chapitre 2:*  
*Activités biologiques*

### 2.1 Les activités biologiques

Les polyphénols jouent un rôle important sur la santé humaine en raison de leurs divers effets pharmacologiques tels que les effets antiviraux, anti-inflammatoires, anticancéreux, antiallergiques, antibactériens, cardioprotectives et vasodilatateurs (**Middleton et al., 2000 ; Ksouri et al., 2007**). Ils peuvent prévenir la modification oxydative par neutralisation et piégeage des radicaux libres, ou réduction des métaux par l'intermédiaire de leurs activités antioxydantes (**Ladoh et al., 2015**). Plusieurs études suggèrent que les polyphénols jouent un rôle essentiel dans la prévention de plusieurs maladies associées au stress oxydatif comme le cancer, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives (**Abbas et al., 2017 ; Khan et al., 2015 ; Sz wajgier et al., 2017**). Le principal avantage des polyphénols par rapport à d'autres antioxydants est qu'ils sont largement répandus dans tout le règne végétal et peut être trouvé en grande quantité dans les légumes, les fruits et les céréales.

De nombreuses études ont montré que les plantes possèdent des propriétés antioxydantes dues en grande partie à leurs composés phénoliques (**Pietta., 2000**).

Différentes études in vitro et in vivo montrent que les polyphénols pourraient moduler le métabolisme glucidique et présenter des activités antidiabétiques en faisant intervenir différents mécanismes (**Kim et al., 2016; Martel et al., 2016; Solayman et al., 2016**).

### 2.2 Les propriétés des flavonoïdes

La majorité des activités biologiques des flavonoïdes est due à leur pouvoir antioxydant. Plusieurs études ont montré qu'un régime alimentaire riche en flavonoïdes peut avoir des effets bénéfiques sur la santé.

Les flavonoïdes constituent un groupe de substances très importantes qui présentent un grand intérêt dans beaucoup de domaines. Leurs propriétés antioxydantes (**Liyana-Pathirana et al., 2006**), anti-tumorales (**Gonzalez-Paramas et al., 2011**), antimicrobiennes (**Divya et al., 2014**); anti-inflammatoires (**Al-Khayri et al., 2022**) et certains ont démontré des effets cardioprotecteurs importants (**Hooper et al., 2008**). Les prédestinent à des utilisations dans les industries pharmaceutiques, alimentaires, cosmétiques... etc .

Dans l'industrie alimentaire, les flavonoïdes sont utilisés comme colorants tels que certains anthocyanes autorisés à usage pharmaceutique et alimentaire (E163). Ils sont utilisés dans les produits de charcuterie, dans les produits laitiers, glaces et crèmes glacées et dans les conserves de fruits et légumes.

Des recherches récentes indiquent que ces substances sont phytoprotectrices en raison de leur absorption élevée des ultraviolets, capacité de neutralisation des radicaux libres et propriétés anti-âge (**Ma et al., 2023 ; Wang et al., 2022**)

De nombreux travaux indiquent que l'apigénine une flavone trouvée dans de nombreux fruits et légumes présente plusieurs effets biologiques notamment cancérigène, antimutagène, antivirale et possède également une activité à piéger les radicaux libres. La comparaison de la relation structure activité de ce composé avec d'autres flavonoïdes a permis d'identifier l'apigénine comme agent antitumorale à cause de sa faible toxicité et l'absence de la mutagénicité par rapport à d'autres structure de la même classe (**Wang et al., 2000 ; Kobayashi et al., 2002**).

Les flavonoïdes possèdent une forte activité antioxydante qui génère plusieurs activités biologiques dotées par ces molécules. L'activité du piégeage des radicaux libres est l'un des mécanismes importants de l'activité antioxydante de ce type de composés, ce mécanisme est lié à leur structure et à l'arrangement des groupements hydroxyles (**Di Majo et al., 2005**).

Des chercheurs ont suggéré que les polyphénols dont les flavonoïdes pouvaient intervenir dans le métabolisme glucidique dès les étapes de digestion et d'absorption intestinale des sucres. En effet, les anthocyanes sont capables d'inhiber in vitro l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -glucosidase et de l' $\alpha$ -amylase (deux enzymes clés de la digestion des carbohydrates) (**Funke et al., 2005; McDougall et al., 2005; Tadera et al., 2006**). De plus, il a également été décrit que la quercétine glucoside et les acides phénoliques inhiberaient la captation et le transport du glucose au niveau intestinal (**Cermak et al., 2004; Johnston et al., 2005**).

Le Kaempférol, un flavonoïde naturel agit comme antidiabétique en inhibant la prolifération cellulaire et diminue les substances de résistance à l'insuline (**Imran et al., 2019**)

### 2.3 Le stress oxydatif

L'oxygène, molécule essentielle à la vie, peut avoir des effets néfastes sur l'organisme par la formation de radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisque, vers le milieu des années 50, Gerschman et Hartman avaient déjà évoqué la toxicité de l'oxygène et la « free radical theory » pour expliquer le processus de vieillissement. (**Haleng et al., 2007**).



Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydants de l'organisme. Les mauvaises habitudes alimentaires et le mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense) augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme. (**Haleng et al., 2007**).

A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardiovasculaires, pour optimiser nos défenses antioxydants et diminuer les dommages oxydatifs causés par les EOA au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides, il conviendra donc de disposer d'outils performants permettant d'évaluer correctement le statut de stress oxydant chez un individu afin d'apporter les corrections nécessaires (**Haleng et al., 2007**).

### 2.4 Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) qui contient un électron non apparié. Cela lui confère une instabilité énergétique et cinétique. Ce déséquilibre est temporaire car il est comblé soit en gagnant un autre électron ou en transférant son électron libre à une autre molécule (**Afonso et al., 2007**).

Parmi tous les types de radicaux formés dans la cellule, il faut distinguer un groupe limité de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier dans la physiologie appelés radicaux libres primaires. Ils sont dérivés directement de l'oxygène. D'autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxyde  $\text{ROO}^{\bullet}$ , radical alcoyle  $\text{RO}^{\bullet}$ ) se forment par la réaction de ces radicaux primaires avec des composés biochimiques de la cellule. (**Novelli et al., 1997**).

Le groupe des radicaux libres primaires est souvent appelé " espèces réactives de l'oxygène " (ROS = ERO). Cette spécification n'est pas limitée. Ceux-ci incluent les radicaux libres d'oxygène eux-mêmes : radical superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), radical hydroxyle ( $\text{OH}^{\bullet}$ ), monoxyde d'azote ( $\text{NO}^{\bullet}$ ), ainsi que certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires où la toxicité est importante : oxygène singulet Oxygène ( $^1\text{O}_2$ ), peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Peroxynitrite ( $\text{ONOO}^-$ ) (**Favier et al., 2003**).

La figure. Représenté ci-dessous montre l'origine des différentes espèces réactives de l'oxygène et de l'azote impliqué en biologie.

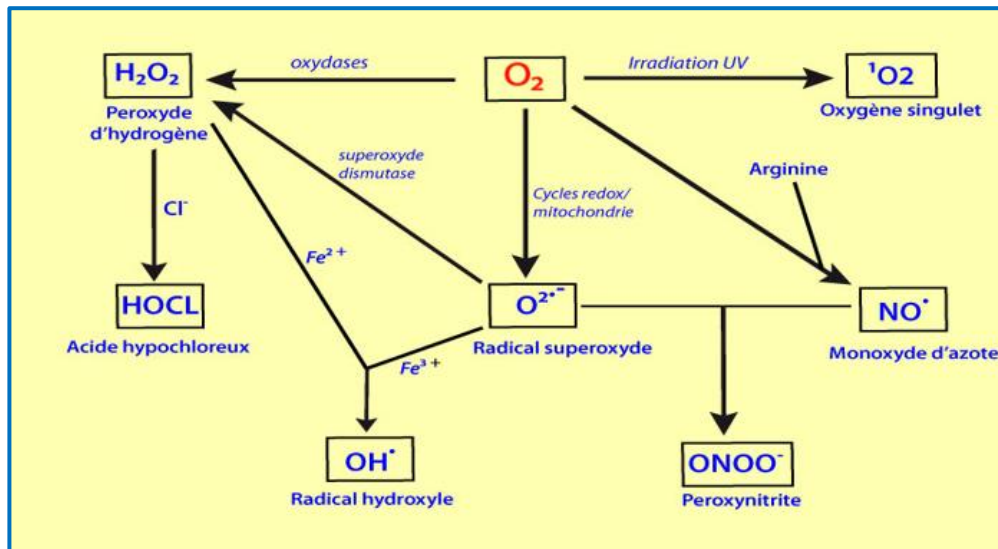


Figure 10: Les mécanismes de formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN)

## 2.5 Les antioxydants

### 2.5.1 Définition

Par définition, les antioxydants sont des espèces chimiques plus ou moins complexes qui réduisent le stress oxydatif dans l'organisme. Par conséquent, les antioxydants peuvent empêcher la synthèse des radicaux libres soit en inhibant l'initiation de la chaîne de réaction décrite, soit en inhibant directement les ROS (**Berger., 2006**).

Les défenses antioxydants de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques et antioxydants d'origine végétale.

### 2.5.2 Les antioxydants enzymatiques

L'organisme humain possède un système enzymatique synthétisés dans la cellule, constitué principalement de trois enzymes : la superoxydedismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (**Ighodaro et al ., 2018**). Ce système est considéré comme la première ligne de défense de l'organisme contre le stress oxydant

### 2.5.3 Les antioxydants non enzymatiques

Ce groupe de systèmes antioxydants qui se comportent comme des piègeurs de radicaux libres renferme de nombreuses substances endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse comme le butyl-hydroxy-toluène (BHT), le butyl-hydroxy-anisole

(BHA) ou issus du métabolisme cellulaire comme l'acide urique (Kohen *et al.*, 2002). C'est une deuxième ligne de défense contre les radicaux.

#### 2.5.4 Les antioxydants d'origine végétale

Les antioxydants d'origine végétale sont présents dans l'alimentation apportant un soutien significatif pour lutter contre le stress oxydatif. Nous les trouvons dans les fruits (pommes, poires, fruits rouges...), les légumes (brocoli, oignon...), les boissons (café, thé, vin...) ainsi que dans les épices, le cacao ou encore les céréales. Ces antioxydants sont surtout connus pour leur capacité à réagir directement avec les radicaux libres en les neutralisant par la réaction de réduction. (Desmier *et al.*, 2016).

Parmi les antioxydants naturels les plus connus, nous pouvons citer les composés phénoliques et les flavonoïdes (Filaire *et al.*, 2012; Zyzdorzcyk *et al.*, 2015).

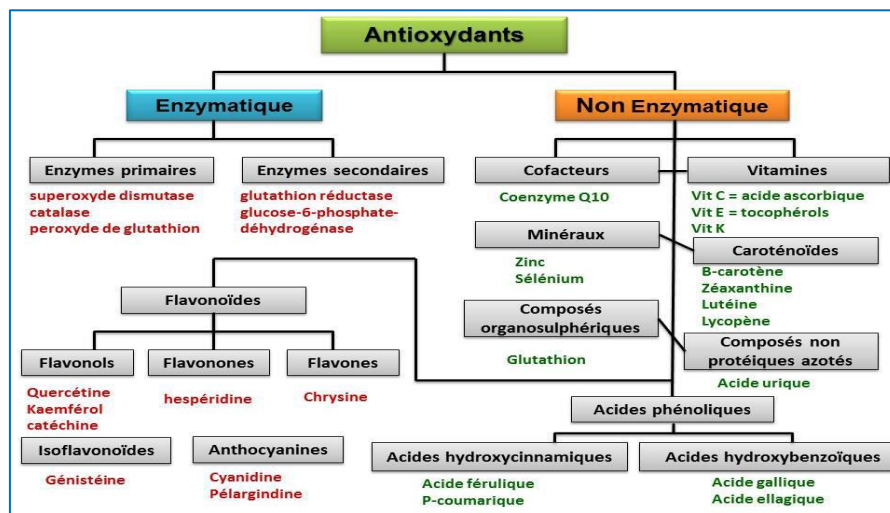


Figure 11: Les différentes classes des antioxydants (Pietta,, 2000) (Ratnam *et al.* , 2006)

( Goodman., 2011).

#### 2.5.5 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant

De nombreuses méthodes *in vitro* et *in vivo* peuvent être utilisées pour évaluer le pouvoir antioxydant et anti radicalaire. Ces techniques sont différentes par les réactifs utilisés, les conditions d'application, leurs protocoles ainsi que le mécanisme d'action par lequel l'extrait testé se manifestent dans le milieu.

Parmi les tests simples les plus fréquemment utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* par le biais d'une méthode spectrophotométrique, nous citons :

## Chapitre 2 : Activités biologiques

### 2.5.5.1 Activité anti-radicalaire au DPPH

C'est l'une des plus anciennes méthodes de mesure de l'activité antioxydants d'un échantillon qui a été développée par Blois (1958) en employant un radical libre stable 1,1 - diphényle - 2 - picrylhydrazyle (**Blois., 1958**).

Le test DPPH est basé sur la théorie selon laquelle le donneur d'hydrogène est un antioxydant. Le radical DPPH<sup>•</sup>, de coloration violette et qui présente une bande d'absorption caractéristique à 517 nm, accepte l'hydrogène libéré par l'antioxydant pour former le DPPH. L'effet de l'antioxydant est proportionnel à la disparition du radical DPPH<sup>•</sup> et à la décoloration de la solution du violet au jaune.

L'activité antiradicalaire s'exprime par le pourcentage d'inhibition (PI) de l'absorbance à 517 nm (**Moon et Shibamoto, 2009**).

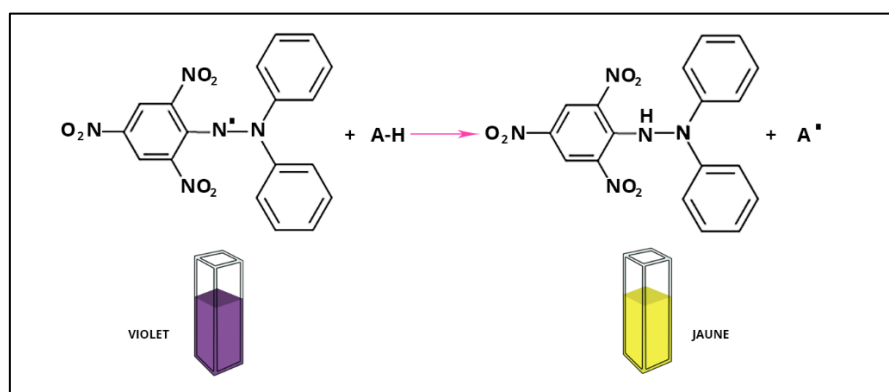


Figure 12: Réduction de DPPH par un antioxydant (G. Agbor, 2014).

### 2.5.5.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>

L'ABTS incolore est d'abord oxydé avec du persulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ ) pour former le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> de coloration bleu - vert. L'ajout d'antioxydant réduit le radical ABTS<sup>•+</sup> en ABTS<sup>+</sup>. L'activité antioxydante est déterminée par la couleur de la solution et exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) de l'absorbance à 734 nm, la longueur d'onde à laquelle le radical ABTS<sup>•+</sup> présente une bande d'absorption caractéristique (**Osman et al., 2006 ; Moon et Shibamoto., 2009**).

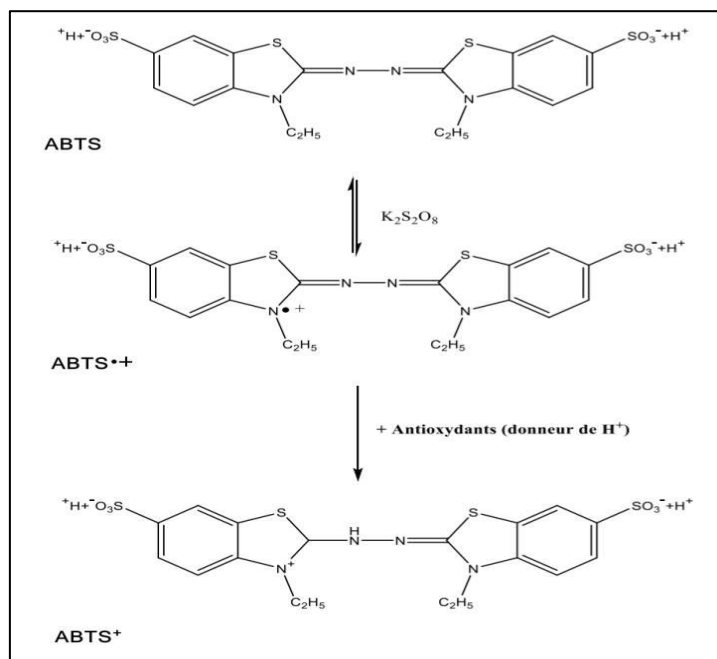


Figure 13: Formation et piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> par un antioxydant (Miller *et al.* , 1996).

### 2.5.5.3 Activité de réduction par la formation du complexe Fe<sup>2+</sup>-phénanthroline

La méthode à la phénanthroline est basée sur le transfert des électrons par la réduction d'ion Fe<sup>3+</sup> en ion Fe<sup>2+</sup> par un antioxydant. Il se forme le Fe<sup>2+</sup> qui réagit avec l'ortho - phénanthroline qui agit comme un ligand pour former un complexe rouge-orange (1,10-phénanthroline-Fe<sup>2+</sup>Tris) (Yefrida *et al.* 2018).

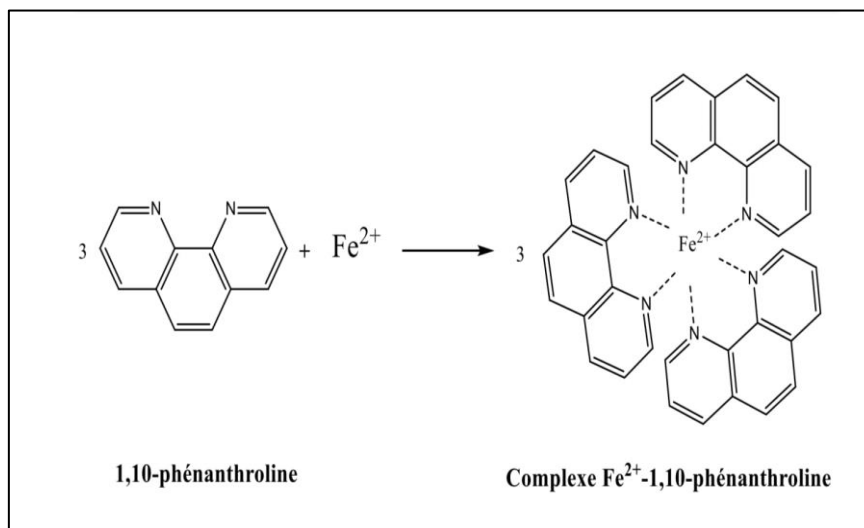


Figure 14: Formation du complexe Fe<sup>2+</sup>-phénanthroline (Apak *et al.*, 2007).

2.5.5.4 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le test de pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) repose sur la mesure de la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{C N})_6$  en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (donne une couleur bleue) qui est l'un des mécanismes antioxydants (Figure II.14.). La présence de  $\text{Fe}^{2+}$  est observée par le changement de couleur du jaune vers le bleu vert. L'absorbance est déterminée par un spectrophotomètre des microplaques à 700 nm. (Li *et al.*, 2008).

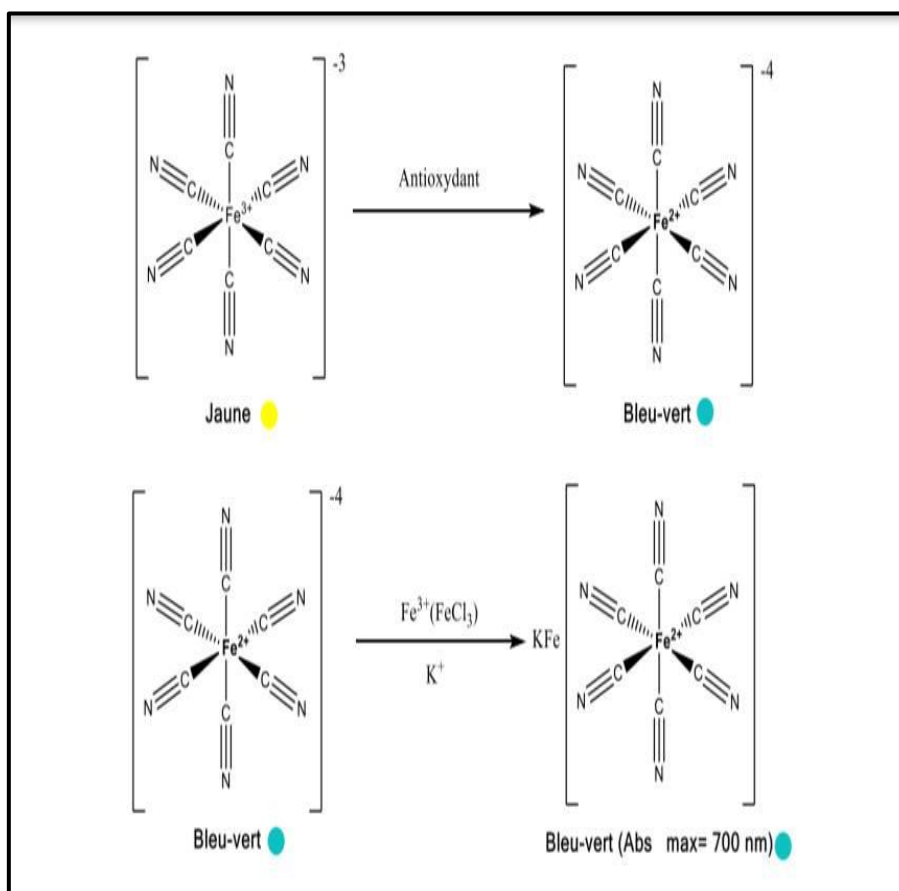


Figure 15: Mécanisme réactionnel du test FRAP

2.6 Activité enzymatique

2.6.1 Le diabète et l'enzyme  $\alpha$ -amylase

D'après l'OMS, le diabète est une maladie chronique complexe tant par ses mécanismes physiopathologiques que par son déterminisme génétique ainsi que la genèse de ses complications. C'est un groupe hétérogène de maladies métaboliques dont la caractéristique principale est une hyperglycémie résultante lorsque l'organisme ne parvient pas à utiliser

l'insuline qu'il produit de manière appropriée ou une carence à l'insuline ou les deux en même temps (**Craig et al. ,2009**).

L'insuline est une hormone qui régule la quantité de sucre dans le sang. Un individu est considéré comme diabétique lorsque le taux de glucose dans le sang mesuré à jeun dépasse 1,26g/L (**Gnagne et al., 2017**).

La prévalence mondiale actuelle du diabète est estimée à 9,3 % qui représentent 463 millions de personnes malades. Elle devrait augmenter de 25% en 2030 et de 51% en 2045, ou les régions dont les économies passeront du statut de revenu faible à intermédiaire seront probablement les plus touchées (**Saeedi et al. , 2019**).

De nos jours la recherche se concentre sur le développement de nouveaux inhibiteurs d'enzymes intestinales d'origine végétale pour lutter contre le diabète. Cette approche est principalement basée sur l'utilisation de plantes médicinales traditionnelles pour aider à réguler la glycémie chez les personnes atteintes de diabète. Ces plantes contiennent des composés actifs qui peuvent aider à réduire la glycémie, améliorer la sensibilité à l'insuline et prévenir les complications liées au diabète.

Une enquête ethnobotanique réalisée par Kouadri Boudjelthia et al., (2018) sur 670 sujets diabétiques dans la région occidentale de Algérie (Chlef, Mostaganem, Mascara, Oran, Sidi-Bel-Abbès, Saida et Tiaret) a permis de recenser 24 plantes médicinales antihyperglycémiques dont *Berberis vulgaris*, *Zygophyllum geslini*, *Erythraea centaurium* et *Olea europea* qui représentent une large utilisation traditionnelle. Les recettes étaient préparées qui sont préparées principalement en décoction (45,37%) , en infusion (39,62%) , des feuilles (42%) et des parties aériennes (16%).

Fukino et al., (2007) ont montré que les polyphénols permettent de diminuer la glycation des protéines circulantes notamment l'hémoglobine glyquée ou glycosylée (HbA1c) marqueur de l'état glycémique sur le long terme du diabète de type 2 (**Fukino et al., 2007**) .

Une étude montre que la consommation de thé vert riche en catéchine (apport de 500 mg par jour de catéchine) chez des patients diabétiques de type 2 sous traitement insulinothérapeutique permettrait d'augmenter l'insulinémie et d'améliorer la baisse du taux d'hémoglobine glyquée (**Nagao et al., 2009**).

Une supplémentation en anthocyanes (160 mg deux fois par jour) conduirait à des effets métaboliques bénéfiques chez des patients diabétiques, en améliorant le profil lipidique, les capacités anti-oxydantes et en prévenant la résistance à l'insuline (**Li et al., 2015**).

Selon **Khan et al** (2018) , les flavonoïdes et les composés phénoliques d'origine naturelle sont proposés comme une alternative pour la prévention et le traitement du diabète. Ces inhibiteurs de  $\alpha$ -amylase peuvent réduire l'absorption de glucides complexes dans l'intestin grêle, ce qui peut aider à contrôler la glycémie chez les patients diabétiques.

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui jouent un rôle important dans les réactions biochimiques nécessaires à la croissance, la maturation et la reproduction des êtres vivants. Mesurer l'activité catalytique des échantillons biologiques par quantification est importante dans divers domaines (**Glatz, 2006**).

L' $\alpha$ -amylase ( $\alpha$ -1-4 D-glucane glucanohydrolase, EC 3.2.1.1) est une enzyme ubiquitaire de différentes sources : animales, végétales et microbiennes (**Sales et al., 2012**).

Elle est essentielle pour la digestion des hydrates de carbone (glucides) produite par la glande pancréatique et la salive et libérée dans l'intestin par le suc pancréatique (**Balan et al., 2017**). L'amylase est l'enzyme clé qui catalyse la première étape du processus digestif des glucides

C'est une enzyme qui catalyse la dégradation des polysaccharides communs (amidon) issus de l'alimentation, en hydrolysant les liaisons  $\alpha$  (1-4) glycosydique. Cette réaction est importante pour la régulation de la glycémie. Toutefois, lors de l'état pathologique du diabète, cette enzyme peut causer des dommages en raison d'un défaut biochimique qui entraîne une élévation du taux de glucose dans le sang.

En inhibant l'activité de cette enzyme, il est possible de limiter l'absorption de glucose par l'intestin grêle et de réguler ainsi la glycémie. De plus, cela permettrait à l'amidon non digéré de parvenir jusqu'au colon (**Sethi et Brahmlin., 2006**)

Les  $\alpha$ - amylases trouvent l'application dans tous les processus industriels, et également dans les industries pharmaceutiques chimiques et alimentaire (**Pandey et al., 2000**).

Le test d'inhibition de l' $\alpha$  - amylase est basé sur la colorimétrie à base de solution d'iode pour déterminer la quantité d'amidon hydrolysé (**Yang et al, 2012**).



## Chapitre 2 : Activités biologiques

---

Fukino et al., (2007) ont montré que les polyphénols permettent de diminuer la glycation des protéines circulantes notamment l'hémoglobine glyquée ou glycosylée (HbA1c) marqueur de l'état glycémique sur le long terme du diabète de type 2 (**Fukino et al., 2007**).

Une étude montre que la consommation de thé vert riche en catéchine (apport de 500 mg par jour de catéchine) chez des patients diabétiques de type 2 sous traitement insulinothérapeutique permettrait d'augmenter l'insulinémie et d'améliorer la baisse du taux d'hémoglobine glyquée (**Nagao et al., 2009**).

Une supplémentation en anthocyanes (160 mg deux fois par jour) conduirait à des effets métaboliques bénéfiques chez des patients diabétiques, en améliorant le profil lipidique, les capacités anti-oxydantes et en prévenant la résistance à l'insuline (**Li et al., 2015**).

Selon Khan et al (2018), les flavonoïdes et les composés phénoliques d'origine naturelle sont proposés comme une alternative pour la prévention et le traitement du diabète. Ces inhibiteurs de  $\alpha$ -amylase peuvent réduire l'absorption de glucides complexes dans l'intestin grêle, ce qui peut aider à contrôler la glycémie chez les patients diabétiques.

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui jouent un rôle important dans les réactions biochimiques nécessaires à la croissance, la maturation et la reproduction des êtres vivants. Mesurer l'activité catalytique des échantillons biologiques par quantification est importante dans divers domaines (**Glatz., 2006**).

L' $\alpha$ -amylase ( $\alpha$ -1-4 D-glucane glucanohydrolase, EC 3.2.1.1) est une enzyme ubiquitaire de différentes sources : animales, végétales et microbiennes (**Sales et al., 2012**).

Elle est essentielle pour la digestion des hydrates de carbone (glucides) produite par la glande pancréatique et la salive et libérée dans l'intestin par le suc pancréatique (**Balan et al, 2017**).

L'amylase est l'enzyme clé qui catalyse la première étape du processus digestif des glucides

C'est une enzyme qui catalyse la dégradation des polysaccharides communs (amidon) issus de l'alimentation, en hydrolysant les liaisons  $\alpha$  (1-4) glycosydique. Cette réaction est importante pour la régulation de la glycémie. Toutefois, lors de l'état pathologique du diabète, cette enzyme peut causer des dommages en raison d'un défaut biochimique qui entraîne une élévation du taux de glucose dans le sang.

## *Chapitre 2 : Activités biologiques*

---

En inhibant l'activité de cette enzyme, il est possible de limiter l'absorption de glucose par l'intestin grêle et de réguler ainsi la glycémie. De plus, cela permettrait à l'amidon non digéré de parvenir jusqu'au colon (**Sethi et Brahmlin., 2006**)

Les  $\alpha$ -amylases trouvent l'application dans tous les processus industriels, et également dans les industries pharmaceutiques chimiques et alimentaire (**Pandey et al., 2000**).

Le test d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase est basé sur la colorimétrie à base de solution d'iode pour déterminer la quantité d'amidon hydrolysé (**Yang et al., 2012**).

### 2.7 Références du Chapitre 2

Afonso, V., Champy R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*. 74 ( 7 ) , 636-643.

Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F.M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M.S., Ishtiaq, A., Hussain, S., Suleria, H.A.R..( 2017). Natural polyphenols: an overview. *International Journal of Food Properties* .20, 1689–1699

Agbor G., (2014). Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay . *Nutr. Diet. IJFS Int. J. Food Sci.*, 1, 1-19.

Al-Khayri, J. M. , Sahana, G. R. , Nagella, P., Joseph B. V., Alessa F. M., and Al-Mssallem, M. Q.(2022). Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules* . 27, 2901.

Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, B., Berker, K., and Özyurt, D. (2007). Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*. 12, 1496-1547

Balan, K., Ratha, P.,Prakash, G., Viswanathamurthi, P., Adisakwattana, S., & Palvannan, T. (2017). Evaluation of *in vitro*  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory potential of N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> schiff base Zn complex. *Arabian Journal of Chemistry*.10, 732–738.

Berger, M.M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 20, 48-53

Blois, M.S. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 181, 1199-1200

Cermak, R., Landgraf, S., and Wolffram, S. (2004). Quercetin glucosides inhibit glucose uptake into brush-border-membrane vesicles of porcine jejunum. *Br. J. Nutr.* 91, 849.

Craig, M.E., Hattersley, A., Donaghue, K.C. (2009). Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes*. 10, 3–12.

Di Majo, D., Giammanco, M., La Guardia, M., Tripoli, E., Giammanco, S., Finotti, E. (2005). Flavanones in citrus fruit: structure-anti-oxidant activity relationships. *Food Research International*. 38, 1161-1166.

Divya, N., Thenmozhi, S., Sureshkumar, B.T. and Selvan, M. (2014). Antibacterial activity of medicinal plant against pound infected pathogens. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 5(11), 4942–4947.

Favier, A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108 – 115.

Filaire E., Toumi H. (2012). Reactive oxygen species and exercise on bone metabolism: Friend or enemy? *Joint Bone Spine*. 79( 4), 341-346.

Funke, I., and Melzig, M.F. (2005). Effect of different phenolic compounds on alpha-amylase activity: screening by microplate-reader based kinetic assay. *Pharm*. 60, 796–797

Glatz, Z. (2006). Determination of enzymatic activity by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B*. 841, 23-37

Gnagne, A. S., Camara D., Brayvett Fofie, N., Bene, k., Zirihi, G. N. (2017). Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans le département de Zouénoula (Cote d'ivoire). *Journal of Applied Biosciences*. 113, 11257-11266.

Gonzalez-Paramas, A.M., Santos-Buelga, C., Duenas, M., Gonzalez-Manzano, S. (2011). Analysis of flavonoids in foods and biological samples. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 11, 1239–55.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier C., Chapelle J.P. (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege*. 62(10), 628-638.

Hooper L., Kroon P. A., Rimm E. B., Cohn J. S., Harvey I., Le Cornu K. A., Ryder J. J., Hall W. L., Cassidy A. (2008). Flavonoids, flavonoid-rich foods and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88, 38-50

Ighodaro, O.M., Akinloye, O.A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*. 54(4), 287—293.

Imran, M., Rauf, A., Shah, Z.A., Saeed, F., Imran, A., Arshad, M.U., Ahmad, B., Bawazeer, S., Atif, M., Peters, D.G. (2019). Chemo-preventive and therapeutic effect of the dietary flavonoid kaempferol: A comprehensive review. *Phytother. Res.* 33, 263–275.

Johnston, K., Sharp, P., Clifford, M., and Morgan, L. (2005). Dietary polyphenols decrease glucose uptake by human intestinal Caco-2 cells. *FEBS Lett.* 579, 1653–1657.

Khan, M., Alam, A., Khan, K.M., Salar, U., Chigurupati, S., Wadood, A., Ali, F., Mohammad, J.I., Riaz, M., and Perveen, S. (2018). Flurbiprofen derivatives as novel  $\alpha$ -amylase inhibitors: Biology-oriented drug synthesis (BIODS), in vitro, and in silico evaluation. *Bioorganic Chemistry.* 81, 157-167

Khan, M., Baarine, M., Singh, I. (2015). Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester in neurodegenerative diseases. In: *Caffeic Acid: Biological Properties, Structure and Health Effects.* Nova Science Publishers, New York, USA.

Kim, Y., Keogh, J., and Clifton, P. (2016). Polyphenols and Glycemic Control. *Nutrients.* 8, 17

Kobayashi T, Nakata T, Kuzumaki T. (2002). Effect of flavonoids on cell cycle progression in prostate cancer cells. *Cancer Lett.* 176 (1), 17–23

Kohen, R., Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology.* 30(6), 620-650.

Kobayashia T, Nakatab T, Kuzumakia T. (2002). Effect of flavonoids on cell cycle progression in prostate cancer cells. *Cancer Letters.* 176, 17–23.

Kouadri Boudjelthia W, Hammadi K, Kouidri M, Noui A, Djebli N. (.2018), Ethnobotanical survey of anti-diabetic plants applied in West of Algeria. *South Asian J Exp Biol*; 8 (2): 57-62; 2018

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch.* 45, 244-249.

Ladoh Yemeda, C.F., Dibong, S.D., Nyegue, M.A., Djembissi Talla, R.P., Lenta Ndjakou, B., Mpondo Mpondo, E., Yinyang, J., Wansi J.D. (2014). Activité antioxydante des extraits

méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. J. Appl. Biosci. 84, 7636–7643.

Li, D., Zhang, Y., Liu, Y., Sun, R., and Xia, M. (2015). Purified Anthocyanin Supplementation Reduces Dyslipidemia, Enhances Antioxidant Capacity, and Prevents Insulin Resistance in Diabetic Patients. J. Nutr. 145, 742–748.

Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F. (2006). Antioxidant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. Journal of the Science of Food and Agriculture. 86(3), 477–485.

Ma, E. Z, Khachemoune, A. (2023), Flavonoids and their therapeutic applications in skin diseases. Arch Dermatol Res. 315, 321–31.

Martel, J., Ojcius, D.M., Chang, C.-J., Lin, C.-S., Lu, C.-C., Ko, Y.-F., Tseng, S.-F., Lai, H.-C., and Young, J.D. (2016). Anti-obesogenic and antidiabetic effects of plants and mushrooms. Nat. Rev. Endocrinol. 13(3), 149-160

Moon J-K, Shibamoto T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. J. Agric. Food Chem., 57(5): 1655-1666.

McDougall, G.J., and Stewart, D. (2005). The inhibitory effects of berry polyphenols on digestive enzymes. BioFactors Oxf. Engl. 23, 189–195.

Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., et Rice-Evans, C. A. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls, FEBS Lett. 384(3), 240-242.

Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C., (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. Pharmacol Rev. 52, 673-839

Nagao, T., Meguro, S., Hase, T., Otsuka, K., Komikado, M., Tokimitsu, I., Yamamoto, T., and Yamamoto, K. (2009). A Catechin-rich Beverage Improves Obesity and Blood Glucose Control in Patients With Type 2 Diabetes. Obesity 17, 310–317.

Osman, A.M, Wong, K.Y, Fernyhough, A. (2006). ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: isolation and structural elucidation of covalent adducts. Biochem. Biophys. Res. Commun., 346(1): 321-329 .

Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod.* 63,1035-1042

Ratnam, D. V., Ankola D. D, Bhardwaj V., Sahana, D. K., et Kumar, V. R.. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* 113(3), 189-207.

Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N.(2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: results from the international diabetes federation diabetes atlas, 9(th) edition. *Diabetes Res Clin Pract.* 157,107-843.

Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O., & Silveira, D., (2012).  $\alpha$ -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences.* 15: 141-183.

Solayman, M., Ali, Y., Alam, F., Islam, A., Alam, N., Ibrahim Khalil, M., Hua Gan, S., and others (2016). Polyphenols: potential future arsenals in the treatment of diabetes. *Curr. Pharm. Des.* 22, 549–565.

Szwajgier, D., Borowiec, K., Pustelniak, K.. (2017). The neuroprotective effects of phenolic acids: molecular mechanism of action. *Nutrients.* 9, 477.

Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., and Matsuoka, T. (2006). Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 52, 149–153.

Wang, T., Zhao, J., Yang, Z., Xiong, L., Li, L., Gu, Z.(2022) . Polyphenolic sunscreens for photoprotection. *Green Chem.* 24, 3605–22.

Wang W, Heideman L, Chung CS, Pelling JC, Koehler KJ, Birt DF. (2000) . Cell-cycle arrest at G2/M and growth inhibition by apigenin in human colon carcinoma cell lines. *Mol Carcinog* .28(2),102–10.

Ye Frida, Suyani H., Alif A., Efdi M., & Hermansyah A., (2018). Modification of phenanthroline method to determine antioxidant content in tropical fruits methanolic extract. *Research Journal of Chemistry and environment* . 22(4), 28-35

Yzydorzyc, C., Mitanchez, D., Buffat, C. , Ligi I., Grandvullemin, I., Boubred, F., Simeoni, U.(2015) . Stress oxydant chez l'enfant prématuré : causes, biomarqueurs et possibilités

## *Chapitre 2 : Activités biologiques*

---

thérapeutiquesOxidative stress after preterm birth: Origins, biomarkers, and possible therapeutic approaches. Archives de Pédiatrie. 22(10), 1047-105.



*Chapitre 3:*  
*Matériels et méthodes*

### 3.1 Matériel

#### 3.1.1 Matériels utilisés pour les tests biologiques

##### 3.1.1.1 Les réactifs

Lors de l'étude des activités antioxydante et enzymatique, nous avons utilisés les réactifs suivants :

Tableau 9 : Les réactifs utilisés dans les activités biologiques.

L'activité	Les réactifs
L'activité antioxydante	DPPH, méthanol, ABTS, persulfate de potassium, tampon phosphate buffer, TCA, chlorure ferrique( Fe Cl <sub>3</sub> ), Phénanthroline, Eau distillé, BHT ,ferricyanure de potassium (k <sub>3</sub> Fe), .
L'activité enzymatique	IKI, enzyme $\alpha$ -amylase, HCL, méthanol, amidon.

#### 3.1.2 L'étude phytochimique de la plante étudiée

##### 3.1.2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal étudié a été récolté en mars 2021 à Batna. Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été pesés (m= 110g).

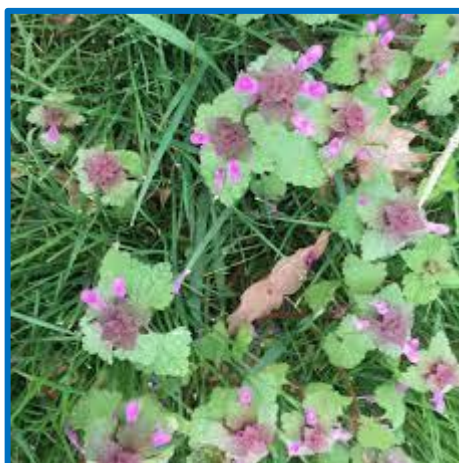


Figure 16 : Espèce *Lamium* étudiée.

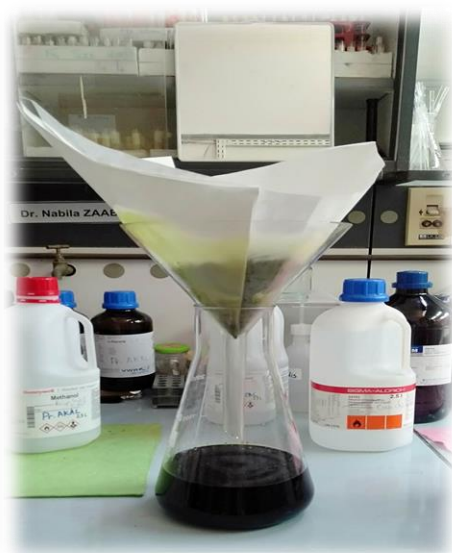
### 3.2 Extraction et séparation de l'espèce étudiée

#### 3.2.1 Extraction solide-liquide (macération)

Après le séchage du matériel végétal, 110 g des parties aériennes de la plante sont macérés à température ambiante dans un mélange hydroalcoolique (Méthanol/ eau : 8/2) pendant 24h.

Après filtration l'extrait récupéré est évaporé et concentré sous pression réduite dans un évaporateur (Rotavapor) rotatif à 40°C

Cette opération a été répétée 3 fois avec renouvellement du mélange (MeOH+H<sub>2</sub>O).



**Figure 17 : Filtration de l'extrait hydrométhanolique**

#### 3.2.2 Extraction liquide/liquide

C'est une extraction basée sur le transfert de composés d'une phase liquide vers une autre phase liquide à condition que ces deux phases ne soient pas miscibles. Cette partie a été commencée par la préparation de phase aqueuse suivie par les extractions en utilisant des solvants de polarité croissante : le dichlorométhane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), l'acétate d'éthyle (EtOAc) et le *n*-butanol (*n*-BuOH).

L'extrait hydro alcoolique sec est dilué avec de l'eau distillée, une décantation pendant une nuit permet le dépôt de la chlorophylle, des cires..etc. Une solution aqueuse a été obtenue après filtration.

- Affrontement par dichlorométhane

La solution aqueuse obtenue subit une extraction de type liquide-liquide dans une ampoule à décantée. 40ml de dichlorométhane sont ajoutés, et laissés reposer pendant 30min jusqu'à l'obtention de deux phases :

- ✓ Une phase inférieure : la phase aqueuse
- ✓ Une phase supérieure : la phase organique (la phase dichlorométhane), Figure 18.
- ✓ Cette opération est répétée 3 fois.

La phase organique récupérée est concentrée sous pression réduite à sec à 35°C pour obtenir un extrait dichlorométhane (Ext D) de masse (0,159g).

- Affrontement par l'acétate d'éthyle :

Le même protocole précédent est appliqué, en ajoutant 30 ml d'acétate d'éthyle à la phase aqueuse puis laisser reposer pendant 30 min jusqu'à obtenir 2 phases,

- ✓ Une phase supérieure : la phase aqueuse.
- ✓ Une phase inférieure : la phase organique (la phase acétate d'éthyle), **Figure 18**.
- ✓ Cette opération est répétée 3 fois.

La phase organique récupérée est concentrée pour obtenir un extrait acétate d'éthyle (Ext A) de masse (0,250g).

- Affrontement par *n*-butanol :

En suivant les mêmes étapes précédentes pour obtenir un extrait *n*-butanol (Ext B) de masse (1,96g).

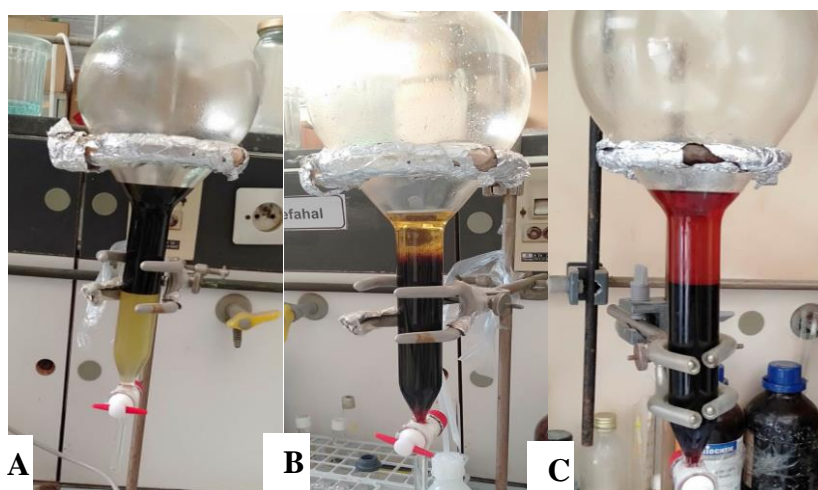


Figure 18: Affrontements par les 3 solvants (A) dichlorométhane (B) acétate d'éthyle (C) *n*-butanol

Le protocole d'extraction est représenté dans le Schéma 3-1.

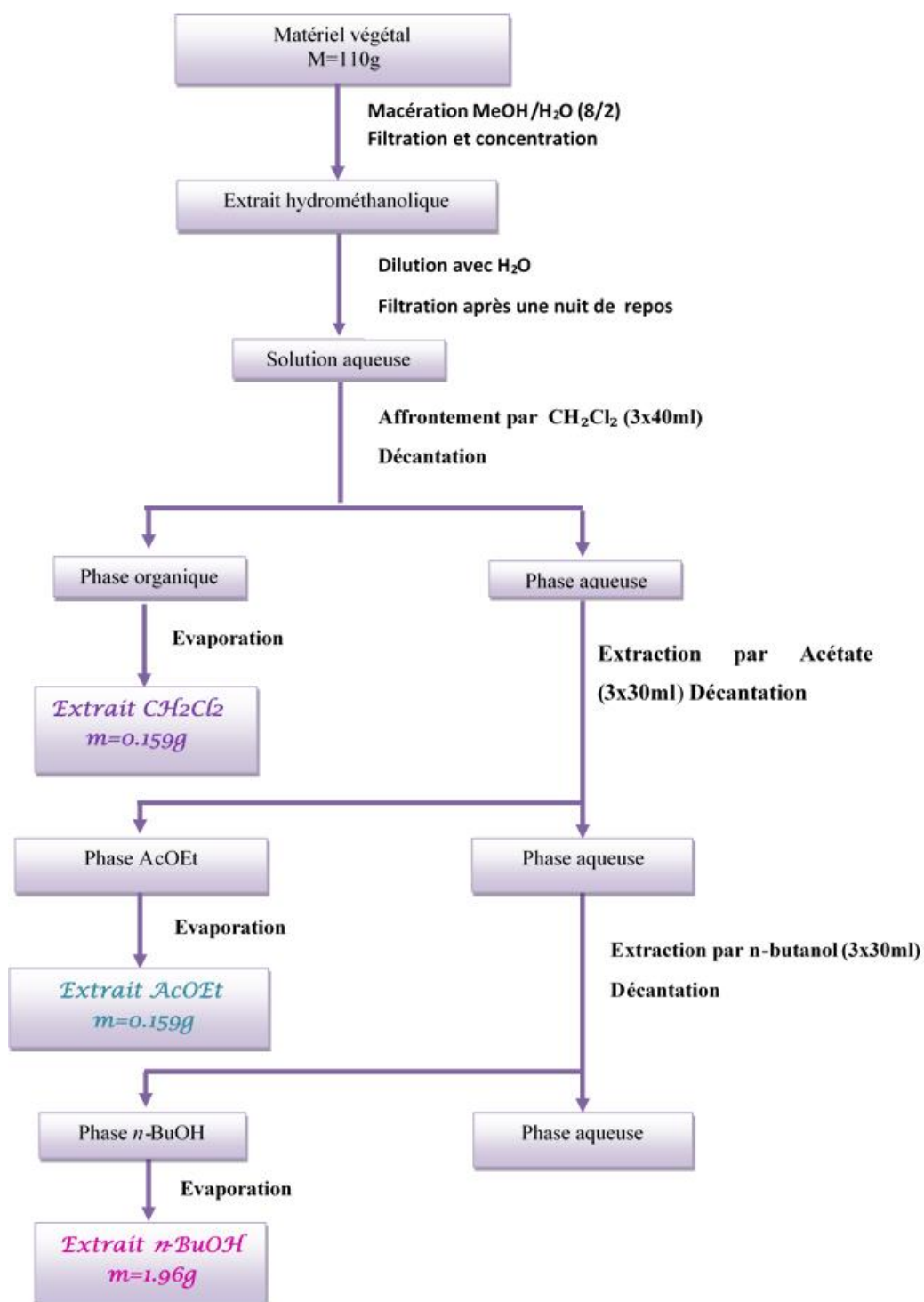


Schéma 3-1 : Les différentes étapes d'extraction des parties aériennes de la plante étudiée.

Afin de déterminer la composition des extraits polaires des parties aériennes de l'espèce étudiée, une CCM bidimensionnelle de polyamide DC6 pour chaque extrait a été réalisée en utilisant deux systèmes d'élutions différents puis la CCM est visualisée sous lampe UV à 365 nm.

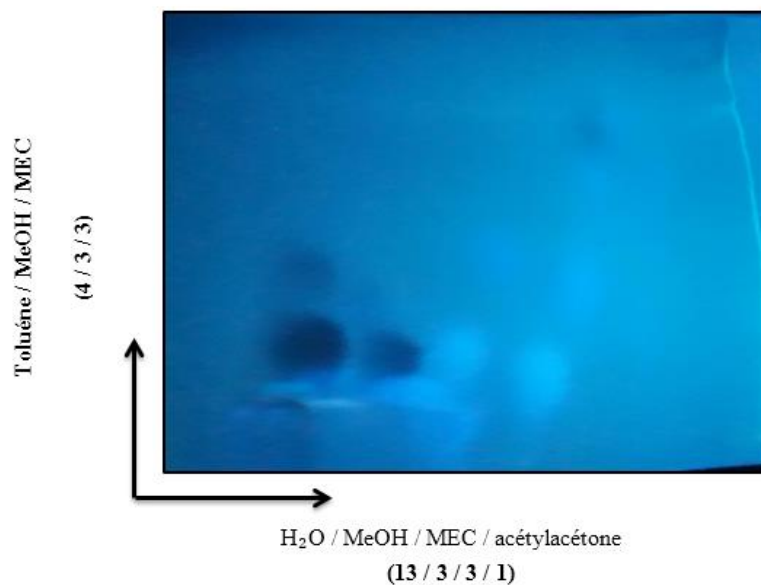


Figure 19 : CCM bidimensionnelle de polyamide de l'extrait *n*-butanol.

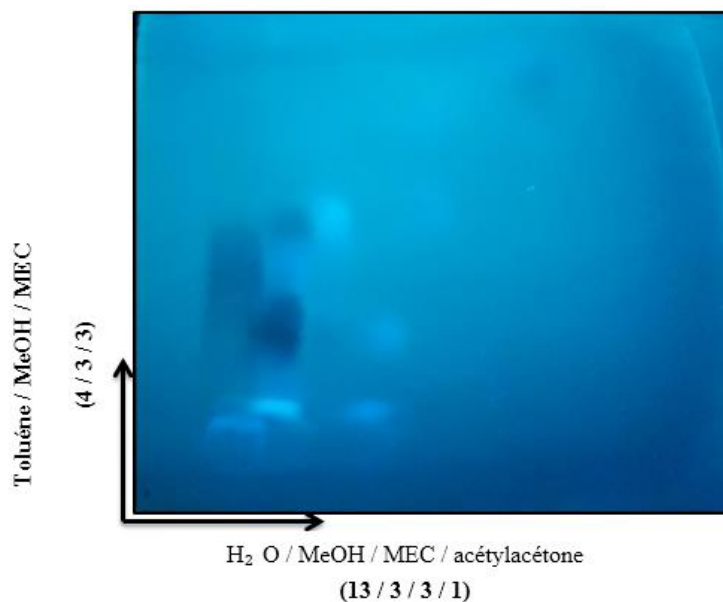
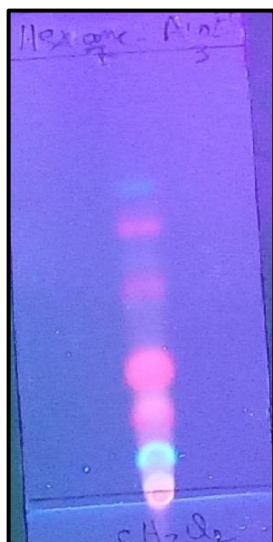


Figure 20: CCM bidimensionnelle de polyamide de l'extrait acétate d'éthyle.

Les couleurs des taches nous ont permis de révéler la présence des flavonoïdes

Afin de déterminer la composition de l'extrait  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , une chromatographie sur couche mince de gel de silice a été utilisée déposée sur feuille d'aluminium a été réalisée, en utilisant le système d'éluion approprié.

**Avant révélation**

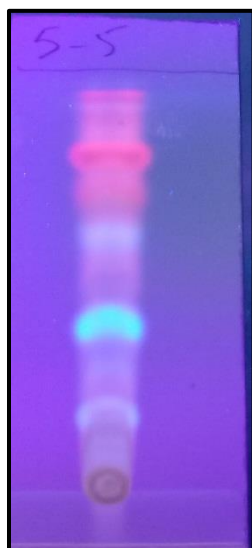


**Après révélation par la vanilline sulfurique**

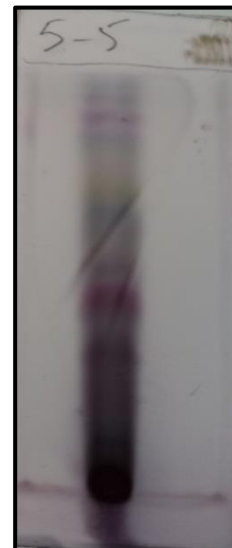


**Figure 21: les compositions de l'extrait  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  sur CCM de gel de silice dans le système Hexane - AcOEt (7-3).**

**Avant révélation**



**Après révélation par la vanilline sulfurique**



**Figure 22: les compositions de l'extrait  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  dans le système Hexane - AcOEt (5-5)**



### 3.3 Séparation et purification de l'extrait *n*-BuOH

Un premier fractionnement de 0,5 g de l'extrait *n*-butanol a été réalisé par une chromatographie sur colonne de gel de sephadex en utilisant un système d'élution isocratique (MeOH+H<sub>2</sub>O) (9/1). Huit fractions ont été obtenues.

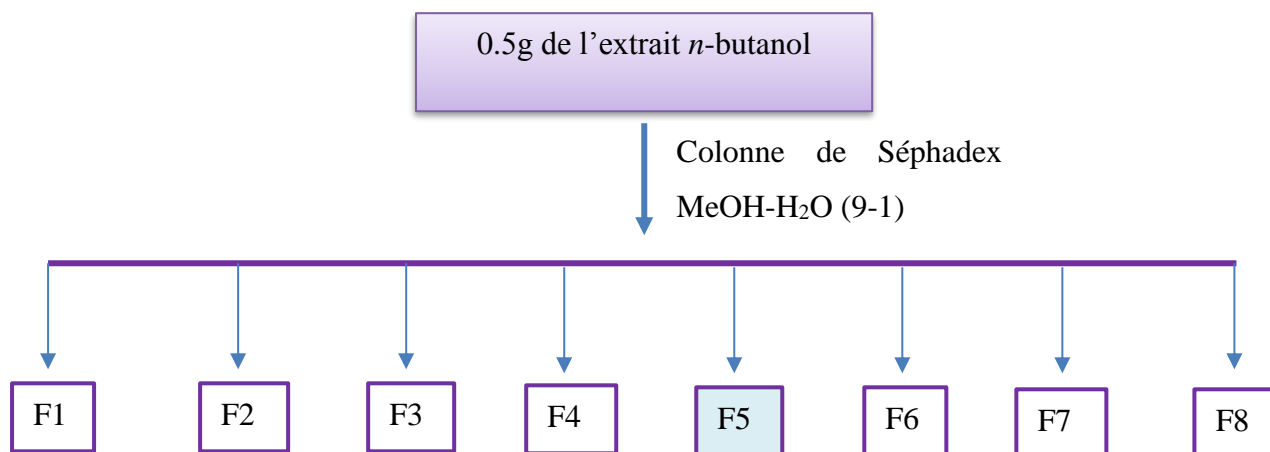


Schéma 3-2 : Schéma de fractionnement de l'extrait *n*-butanol

Nous nous sommes intéressés uniquement à la fraction F<sub>5</sub> dont la CCM (gel de silice) montre deux taches majoritaires de couleur violet noir on utilisant un système d'élution en gradient (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>- MeOH). La fraction F<sub>5</sub> a été ensuite passée sur une colonne de gel de silice pour donner 10 fractions et permettant ainsi d'obtenir le composé P1.

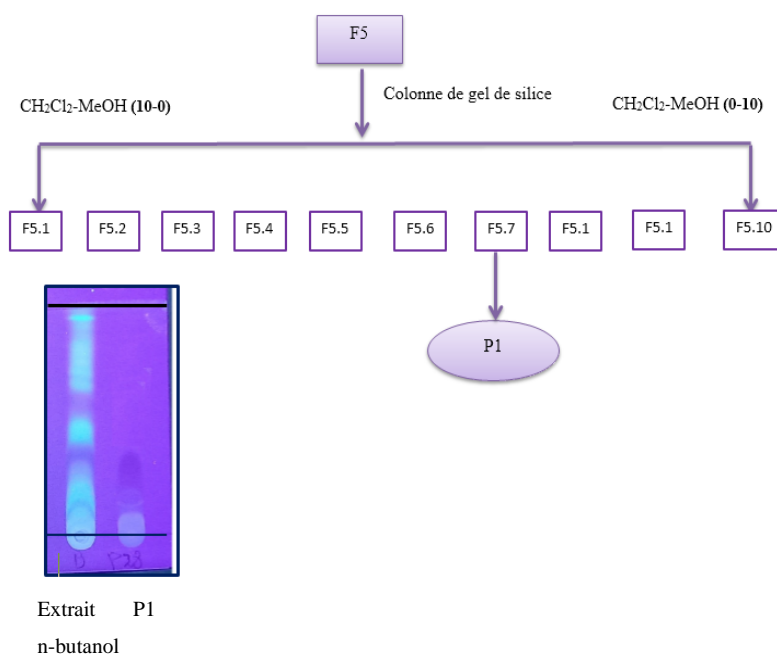


Schéma 3-3: Schéma de séparation de la fraction F<sub>5</sub>

### 3.4 Etude biologique

Ce travail a été réalisé au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBt) au sein de laboratoire de Biochimie.

#### 3.4.1 préparation des échantillons

4 mg de chaque extrait (Acétate d'éthyle, *n*-butanol, dichlorométhane) ont été dissous dans 1 mL de solvant (MeOH) dans des tubes Eppendorf. La solution obtenue de chaque extrait est agitée dans un ultrason pour l'homogénéisée .

Une gamme de dilution à (1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64) a été préparée partant d'une solution mère à 4mg/mL dissoute dans le méthanol.

#### 3.4.2 L'activité antioxydante

##### 3.4.2.1 L'activité de piégeage du radical libre DPPH

Ce test a été évaluée selon la méthode spectrophotométrie décrite par Blois (1958) .

#### **Protocole**

Sur une plaque de 96 puits. 40 µL de Chaque dilution est placée dans un puit auxquelles 160µL de DPPH sont additionnés.

La solution de DPPH à 0.004% (0.004 g dans 100 mL de MeOH), est préparée au préalable dans une fiole couverte avec du papier aluminium jusqu'à son utilisation. Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 40 µL du méthanol avec 160 µL de solution de DPPH.

L'absorbance du mélange est mesurée à 517 nm par un lecteur de microplaque. La lecture est faite contre un blanc (éthanol) après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.

Le contrôle positif est réalisé avec une solution d'un antioxydant standard ( le trolox et l'acide ascorbique) dont l'absorbance a été mesurée à différentes dilutions (1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64) dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) \times 100$$

*Abs contrôle* : absorbance du contrôle ou du témoin négatif à 517 nm.

*Abs échantillon* : absorbance de l'échantillon à 517 nm.

(*Abs* : absorbance)

Les résultats sont exprimés en IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice de 50 %) : est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% des radicaux DPPH dans la solution testée. Les IC<sub>50</sub> sont calculées graphiquement à l'aide de la courbe des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés.

#### 3.4.2.2 *Activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>*

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de **Re et al. (1999)**

##### **Protocole :**

La solution ABTS est préparée de la manière suivante : 19.2 mg d'ABTS dissout dans 5 mL d'eau puis ajouter 3.3 mg de persulfate de potassium(K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), on laisse le mélange reposer entre 12 est 16h à l'obscurité et à température ambiante avant utilisation. Le mélange est dilué avec de l'eau distillé jusqu'à l'obtention d'une absorbance 0,7±0.02 à 734 nm.

40 µl de chaque dilution sont répartis sur une microplaque de 96 puits auxquels 160 µL d'ABTS sont ajoutés. Le mélange est incubé pendant 10min à l'abri de la lumière. La lecture de l'absorbance est effectuée par le spectrophotomètre des microplaques à 734 nm. Le blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'échantillon par le méthanol.

Le trolox et l'acide ascorbique sont utilisés comme standards.

##### **Pourcentage d'inhibition :**

L'activité ABTS<sup>•+</sup> est exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

#### 3.4.2.3 *Activité de réduction par la formation du complexe Fe<sup>+2</sup>-(phénanthroline)*

L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka.

### **Protocole**

Préparation des solutions réactionnelles, le phénanthroline (0.5 %) : dissoudre 0.05g de Phenanthroline dans 10mL de MeOH), La solution du chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) (0.2%) : dissoudre 0.02g de  $\text{FeCl}_3$  dans 10mL de  $\text{H}_2\text{O}$ ).

Sur 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 chlorure Ferrique  $\text{FeCl}_3$  (0,2%) , 30  $\mu\text{L}$  de phénanthroline (0.5%) et 110 $\mu\text{L}$  de méthanol. L'absorbance du mélange est mesurée à 510 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant la solution de l'échantillon par le solvant utilisé (Méthanol).

Le trolox et l'acide ascorbique sont utilisés comme standards.

#### *3.4.2.4 Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)*

L'activité du pouvoir réducteur est déterminée par la méthode **d'Oyaizu (1986)**

### **Préparation des réactifs**

ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (0.1%) : 1g de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  est dissout dans 100 mL  $\text{H}_2\text{O}$

Acide trichloroacétique (TCA) (10%) : 1 g de TCA est solubilisé dans 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$

Chlorure ferrique  $\text{FeCl}_3$  (0.1%) : solubiliser 0,1 g de  $\text{FeCl}_3$  dans 100 mL  $\text{H}_2\text{O}$

### **Protocole**

Sur une microplaque à 96 puits 10  $\mu\text{L}$  d'échantillon dilué dans une solution de méthanol à des concentrations différentes ont été ajoutés à 40  $\mu\text{L}$  du tampon phosphate buffer (0,2M, pH=6.6) et à 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (1% . Le mélange est incubé à une température de 50°C dans une étuve pendant 20 min. par la suite 50  $\mu\text{L}$  d'acide trichloroacétique (10%), 40  $\mu\text{L}$  d'eau distillée et 10  $\mu\text{L}$   $\text{FeCl}_3$  (0.1%) sont additionnés. L'absorbance a été mesurée à 700 nm.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le Méthanol

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

La valeur  $EC_{50}$  est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5 et calculée à partir du graphe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon.

### 3.4.3 l'activité enzymatique

#### 3.4.3.1 *Activité $\alpha$ -amylase:*

L'activité inhibitrice de l'alpha -amylase a été déterminée par la méthode de **Zengin et al., (2014)**

#### **Protocole**

25  $\mu$ L de chaque concentration de l'échantillon sont répartis sur une microplaque de 96 puits , 50  $\mu$ L de l'enzyme alpha amylase sont additionnés. puis incubé pendant 10 min à 37°C.

puis incubé pendant 10 min à 37°C. Ensuite, 50  $\mu$ L d'amidon (0,1%) sont additionnés. Le mélange est incubé une autre fois pendant 10 minutes à 37°C. Après incubation, 25  $\mu$ L d'acide hypochlorique (1M) et 100  $\mu$ L d'iodure de potassium iode (Annexe V) sont ajoutés. La lecture de l'absorbance est réalisée à 630 nm. L'Acarbose, un inhibiteur commercial, est utilisé comme contrôle positif à différentes concentrations préparées dans la solution tampon.

Le pourcentage d'inhibition de l'  $\alpha$ -amylase a été calculé par la formule suivante :

$$\% \text{Inhibition} = 1 - \left[ \frac{(Ac - Ae) - (As - Ab)}{(Ac - Ae)} \right]$$

Ae=Absorbance [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+ Vol de solvant d'extrait]

As=Absorbance [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl]

Ab=Absorbance [Extrait+IKI+125  $\mu$ L de tampon ]

#### **Références du chapitre 3 :**

Blois, M.S. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 181, 1199-1200.

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*. 44, 307-315

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26, 1231-1237

Szydłowskaczerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., and Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*. 76, 899-905.

Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., and Ceylan, O. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*. 53, 244-251

*Chapitre 4:*  
*Résultats et discussions*

### 4.1 Identification structurale du produit P1

#### 4.1.1.1 Les données de la série spectrale UV

L'ensemble des données de la série spectrale UV est reporté dans le (Tableau 10, Figure 23):

Le maximum d'absorption de la bande I à 335 nm et la bande II à 271 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol et la fluorescence noir violette sous UV-Visible nous oriente vers une structure d'un flavonoïde de type flavone.

L'addition de NaOH provoque un effet bathochrome de la bande I ( $\Delta\lambda=+61\text{nm}$ ) avec une légère augmentation de l'intensité lumineuse par rapport au spectre MeOH indique la présence d'un OH libre en 4'. La nouvelle bande qui apparaît à  $\lambda=331$  nous informe que la position 7 du squelette flavonique est hydroxylé (OH).

L'effet bathochrome ( $\Delta\lambda=+56\text{nm}$ ) de la bande I en présence de  $\text{AlCl}_3+\text{HCl}$  par rapport au spectre enregistré dans le MeOH indique la présence d'un groupement OH en position 5. L'absence de l'effet hypsochrome de la bande I dans le spectre  $\text{AlCl}_3+\text{HCl}$  par rapport au spectre  $\text{AlCl}_3$  indique l'absence du système ortho di-OH dans ce composé. Ainsi l'effet bathochrome faible ( $\Delta\lambda=+5\text{nm}$ ) après l'ajout de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ( $\text{NaOAc}+\text{H}_3\text{BO}_3$ ) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH et la stabilité du spectre en présence de NaOH après 5min excluent la présence d'un système ortho d'hydroxylé sur le cycle B.

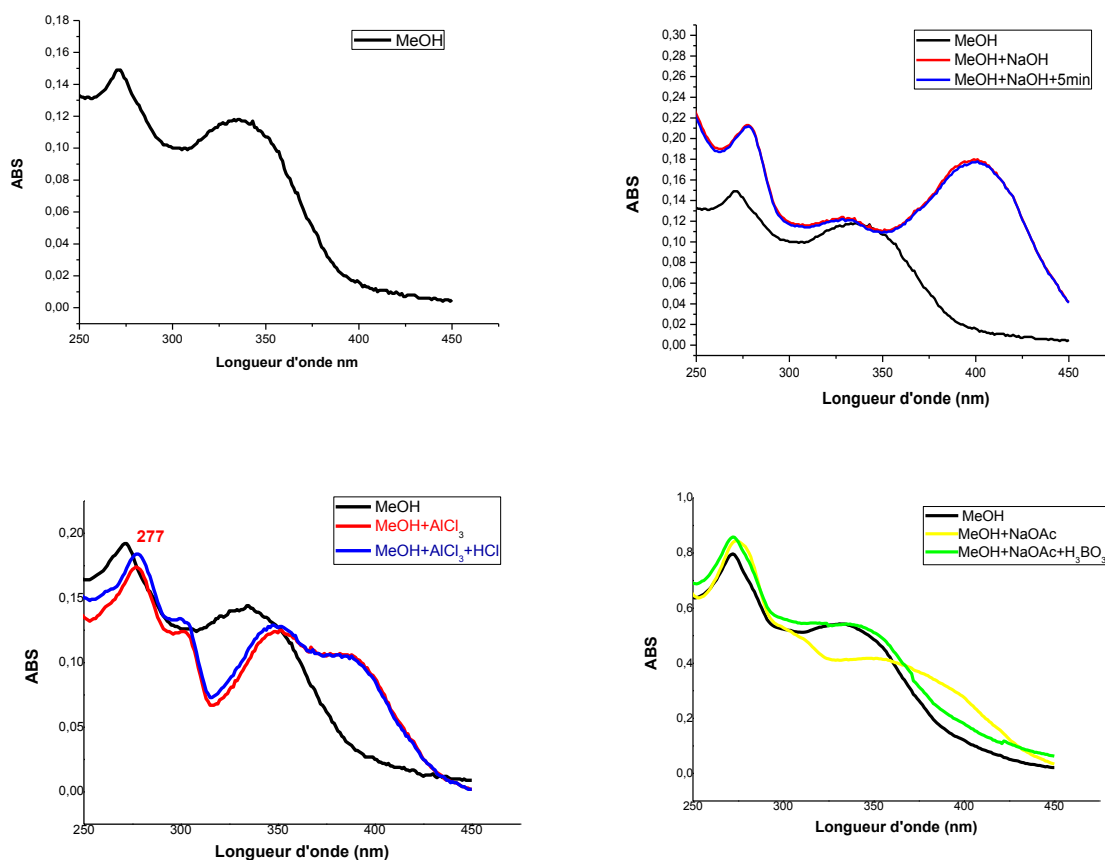
L'addition de NaOAc provoque un déplacement bathochrome de la bande II ( $\Delta\lambda=+5\text{nm}$ ) par rapport au spectre méthanol, confirme le OH libre en 7. Ce faible déplacement peut être dû à la présence d'un substituant en 6 ou en 8 (OR).



## Chapitre 4 : Résultat et discussions

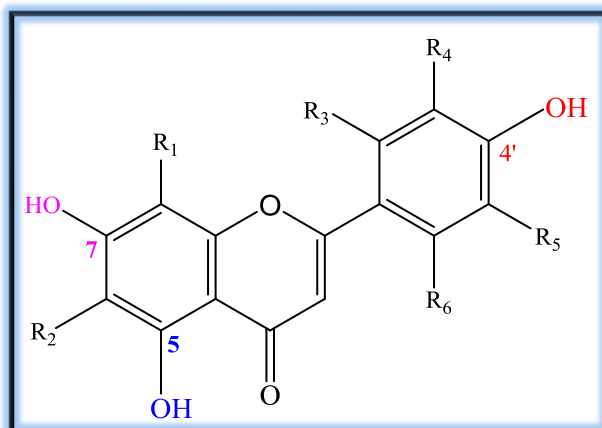
**Tableau 10 : Données de la série spectrale UV du composé P1**

	Réactif	Bande I $\lambda$ (nm)	Autres bandes	Bande II $\lambda$ (nm)
	MeOH	335	/	271
<b>Série 1</b>	+NaOH	396	331	277
	+NaOH+ 5 min	396	331	277
<b>Série 2</b>	+AlCl <sub>3</sub>	391	351 309	277
	+AlCl <sub>3</sub> /HCl	391	351 309	277
<b>Série 3</b>	+NaOAc	364	/	276
	+NaOAc /H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	340	/	273



**Figure 23 : Série spectrale UV du composé P1.**

Ces données spectrales permettent la proposition de la structure partielle suivante



## 4.2 Activités biologiques

L'activité biologique des extraits des parties aériennes de la plante étudiées a été réalisée par l'évaluation *in vitro* des activités antioxydantes, antidiabétique. Ces tests ont été réalisés systématiquement au moins 3 fois pour chaque échantillon.

### 4.2.1 L'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits (dichlorométhane = Ext D, n-butanol = Ext B et acétate d'éthyle = Ext A) issus des parties aériennes de la plante étudiée a été évaluée en utilisant quatre méthodes différentes : DPPH, ABTS, FRAP et phénantroline. Les standards utilisés comme contrôle positifs sont : le BHA, BHT, acide ascorbique, alpha-tocophérol et le trolox.

#### 4.2.1.1 L'activité de piégeage du radical libre DPPH

Cette méthode est basée sur la capacité de réduction d'une solution alcoolique du DPPH en présence d'un antioxydant (extrait) qui est déterminée par la mesure des concentrations inhibitrices à 50 % (IC<sub>50</sub>): les substances de référence (standards) étaient le trolox et l'acide ascorbique. Les résultats sont présentés dans la figure 25 et le tableau 11.

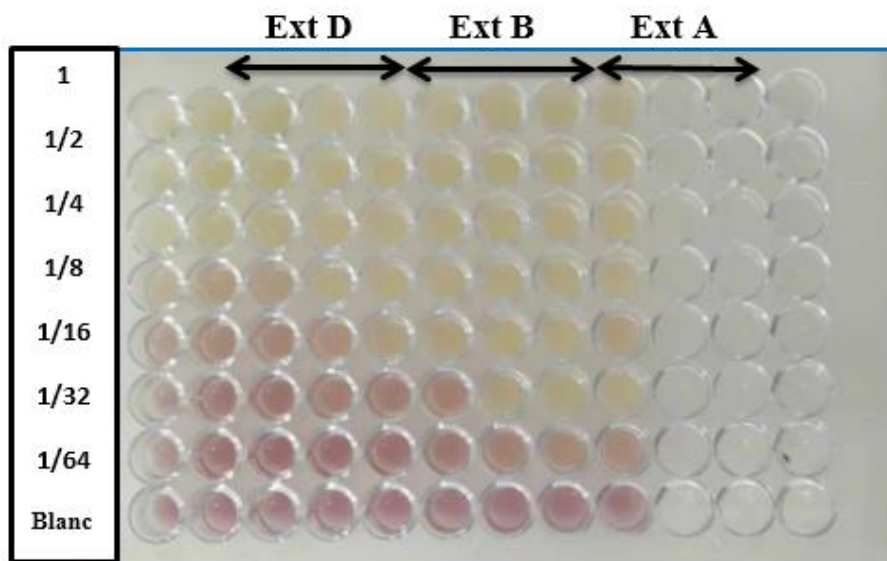


Figure 24: Résultats du test antiradicalaire DPPH sur microplaque.

Tableau 11 : Inhibition du radical DPPH par les extraits de l'espèce étudiée.

Extraits	% d'inhibition							IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	12.5 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	
Ext D	3,35±14,99	10,51±18,76	10,69±2,56	17,56±2,56	30,58±0,62	54,01±3,67	67,51±1,28	375,56±8,99
Ext B	8,68±2,36	14,42±0,31	33,00±2,05	55,26±3,73	78,93±3,20	82,07±2,32	81,48±1,74	88,42±6,19
Ext A	16,61±3,03	35,55±1,69	59,64±0,51	79,11±2,12	82,96±0,18	80,94±0,54	79,64±1,75	40,53±0,19
	0,78125 µg	1,5625 µg	3,125 µg	6,25 µg	12,5 µg	25 µg	50 µg	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Trolox	6,42±0,91	13,33±2,14	30,19±0,67	61,48±2,98	87,16±0,28	88,46±0,11	87,72±0,47	5,12±0,21
Acide ascorbique	0,31±1,02	12,90±0,28	29,69±0,39	76,67±0,37	84,94±0,84	87,78±0,49	86,36±0,21	4,39±0,01

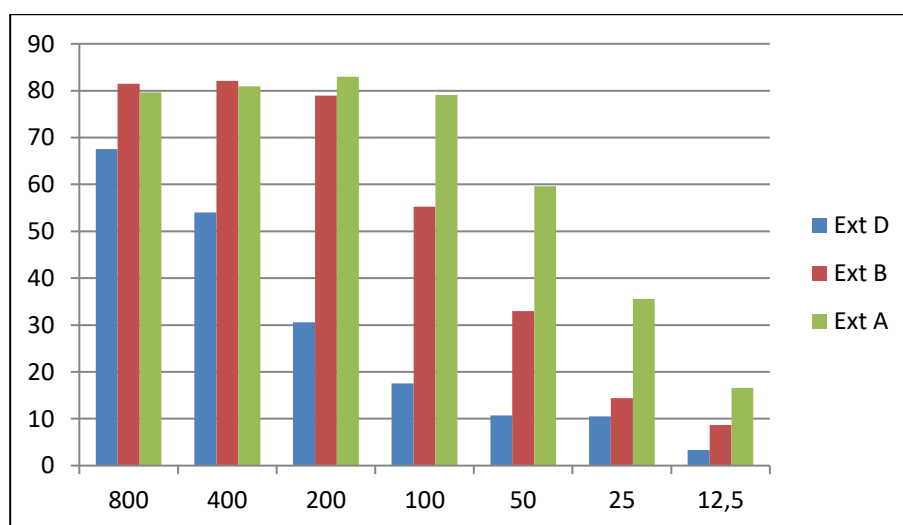


Figure 25: Histogrammes des valeurs d'IC<sub>50</sub> de test DPPH.

## Chapitre 4 : Résultat et discussions

D'après les résultats obtenus, on constate que l'Ext A ( $IC_{50} = 40,53 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$ ) présente une activité anti-radicalaire huit fois plus faible que le Trolox ( $IC_{50} = 5,12 \pm 0,21 \mu\text{g/mL}$ ) et neuf fois plus faible que l'acide ascorbique ( $IC_{50} = 4,39 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ ). Cet extrait possède une activité supérieure par rapport à celle de l'Ext B ( $IC_{50} = 88,42 \pm 6,19 \mu\text{g/mL}$ ). Alors que l'Ext D a présenté l'activité la plus faible avec une  $IC_{50} = 375,56 \pm 8,99 \mu\text{g/mL}$ .

Paduch et al. (2007) ont trouvés que l'extrait acétate d'éthyle de *Lamium album* n'a pas montré une activité antiradicalaire alors que celle de l'extrait de notre plante est faible. Les travaux de Bubueanu et al signalent un ( $IC_{50} = 19,29 \mu\text{g/mL}$ ) de l'extrait butanolique de *Lamium album* de la Roumanie. Cette valeur représente un pouvoir antiradicalaire important vis-à-vis du DPPH par rapport à celui mesuré dans notre étude qui concerne une autre espèce ( $IC_{50} = 88,42 \pm 6,19 \mu\text{g/mL}$ ). Alors que l'extrait méthanolique de *Lamium. maculatum* possède une activité antiradicalaire a exercé une capacité antiradicalaire plus forte avec  $IC_{50}$  de l'ordre  $32,3 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$  par rapport à celui de *Lamium album* avec  $IC_{50}$  de  $63,5 \pm 0,7 \mu\text{g/mL}$ .

Les différentes valeurs observées des  $IC_{50}$  peuvent être attribuées à la composition chimique des extraits en polyphenols notamment en flavonoides qui est liée aux éléments structuraux nécessaires à l'obtention d'une activité antioxydante optimale qui ont pu être établis par plusieurs auteurs (Wolfe et al., 2008 ; Mercader et al., 2008 ; Von Gadow et al., 1997).

### 4.2.1.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>

La formation de ABTSH<sup>+</sup> (incolore) ce fait par la présence d'un antioxydant à partir de l'ABTS<sup>•+</sup> (bleu/vert) en piégeant un H<sup>•</sup>. La mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice des différents extraits est réalisées par comparaison avec les standards BHA et BHT. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 12 et la figure 26.

**Tableau 12 : Inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> par les extraits de l'espèce étudiée.**

	12.5	25	50	100	200	400	800	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
<b>Ext D</b>	16,07±2,83	25,42±0,56	36,75±0,96	55,87±2,08	73,99±3,27	85,58±0,41	88,30±0,59	85,01±3,26
<b>Ext B</b>	10,38±0,16	21,14±2,39	38,11±0,98	67,67±1,42	87,62±2,26	92,53±0,24	92,37±1,28	70,82±1,76
<b>Ext A</b>	29,28±0,63	49,44±0,45	77,75±0,68	87,99±0,18	91,85±1,03	92,43±0,63	92,53±0,50	27,47±0,22
	0,78125	1,5625	3,125	6,25	12,5	25	50	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
<b>Trolox</b>	14,74±0,37	26,15±0,65	51,70±1,51	89,72±0,67	92,89±0,19	92,89±0,19	91,84±1,19	3,21±0,06
<b>Acide ascorbique</b>	13,43±0,82	28,76±0,67	52,94±0,94	93,21±0,11	93,08±0,19	92,40±0,88	92,96±0,11	3,04±0,05

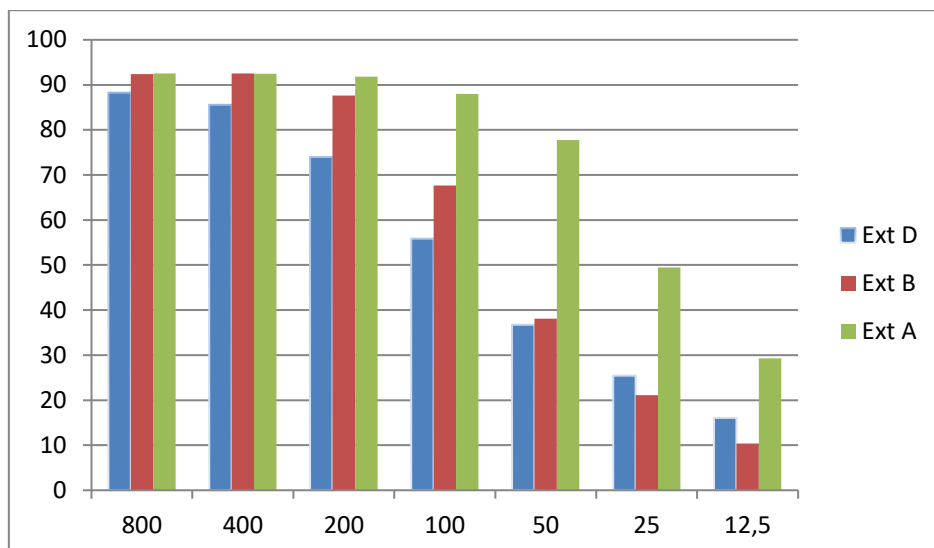


Figure 26: Histogrammes des concentrations inhibitrices (IC<sub>50</sub>) des extraits par le test ABTS.

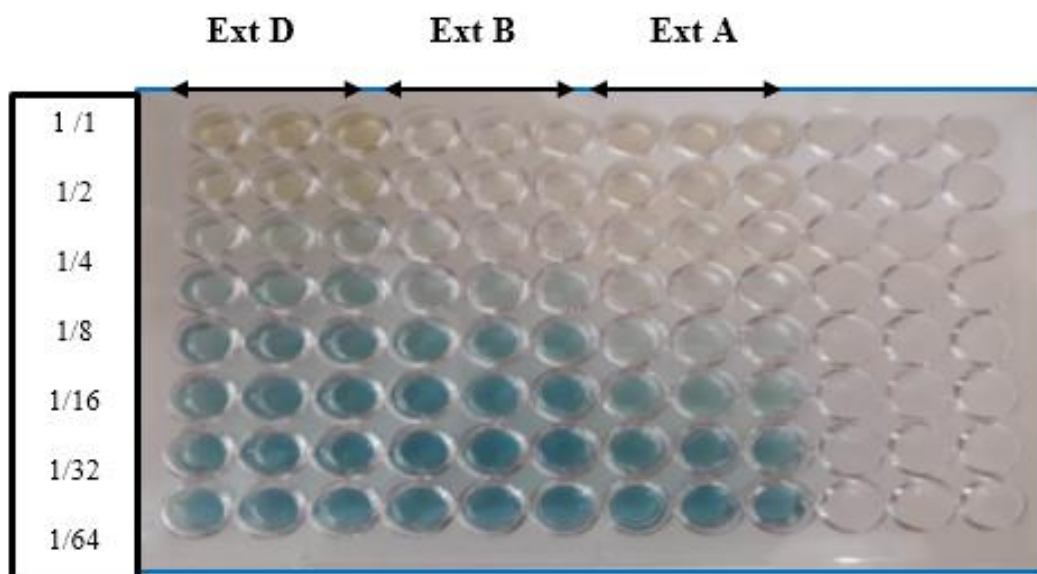


Figure 27: Microplaque du test ABTS

Dans ce test, la capacité de piégeage des radicaux libres présentée par l'Ext A ( $IC_{50} = 27,47 \pm 0,22 \mu\text{g/mL}$ ) est neuf fois plus faible que le trolox ( $IC_{50} = 3,21 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$ ) et l'acide ascorbique ( $IC_{50} = 3,04 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$ ). Alors que ce pouvoir inhibiteur vis-à-vis le radical ABTS est trois fois plus fort que les deux autres extraits l'Ext B ( $IC_{50} = 70,82 \pm 1,76 \mu\text{g/mL}$ ) et l'Ext D ( $IC_{50} = 85,01 \pm 3,26 \mu\text{g/mL}$ ) qui possèdent une faible activité par rapport aux standards.

Une étude à été réalisée par Daniel et al (2015) sur les extraits méthanolique de *Lamium maculatum* et *Lamium album* de la Roumanie a montré que ces extraits présentent un important

## Chapitre 4 : Résultat et discussions

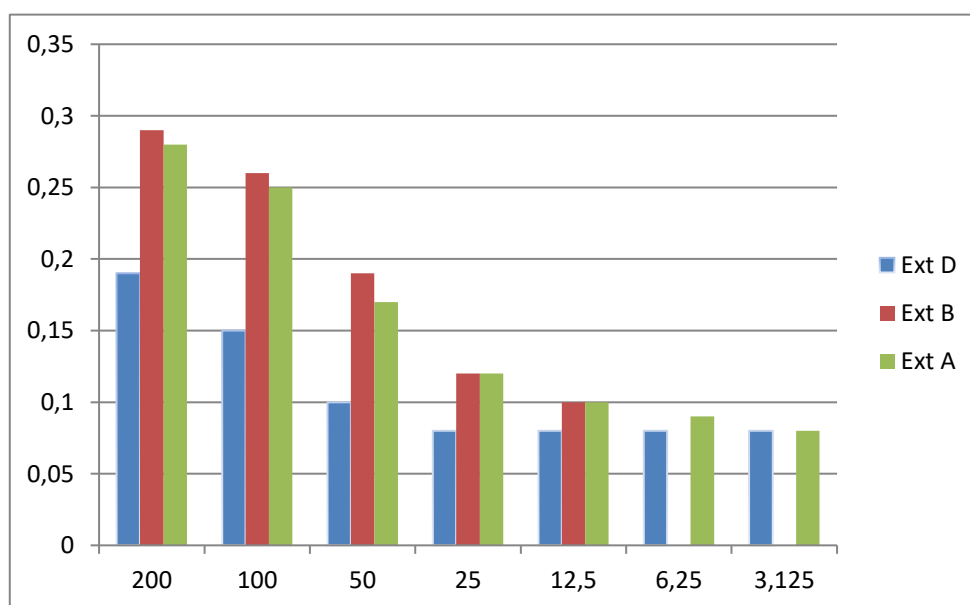
pouvoir antiradicalaire vis-à-vis du radical cation ABTS<sup>+</sup> avec des valeurs d'IC<sub>50</sub>= 13,2±0,1 µg/mL et IC<sub>50</sub>= 19,9±0,5 µg/mL respectivement.

### 4.2.1.3 Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de fer ferrique (Fe<sup>+3</sup>) de la couleur jaune à la forme ferreuse (Fe<sup>+2</sup>) de la couleur bleu verte. Par conséquent, Fe<sup>+2</sup> peut être évalué en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur bleu vert dans les milieux réactionnels à 700 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 28 et le Tableau 13.

**Tableau 13 : Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits testés.**

	3,125	6,25	12,5	25	50	100	200	A <sub>0,5</sub> (µg/mL)
<b>Ext D</b>	0,08±0,01	0,08±0,01	0,08±0,01	0,08±0,01	0,10±0,02	0,15±0,03	0,19±0,01	>200
<b>Ext B</b>	NA	NA	0,10±0,01	0,12±0,02	0,19±0,05	0,26±0,06	0,29±0,07	>200
<b>Ext A</b>	0,08±0,00	0,09±0,00	0,10±0,02	0,12±0,02	0,17±0,07	0,25±0,06	0,28±0,07	>200
	0,0976	0,195	0,390	0,781	1,562	3,125	6,25	A <sub>0,5</sub> (µg/mL)
<b>Trolox</b>	0,07±0,00	0,08±0,00	0,09±0,01	0,13±0,00	0,19±0,02	0,28±0,05	0,60±0,04	5,25±0,20
<b>Acide ascorbique</b>	0,07±0,00	0,09±0,01	0,12±0,01	0,17±0,01	0,25±0,02	0,47±0,03	0,79±0,09	3,62±0,29



**Figure 28 : Histogrammes des concentrations inhibitrices (IC<sub>50</sub>) des extraits du test FRAP.**

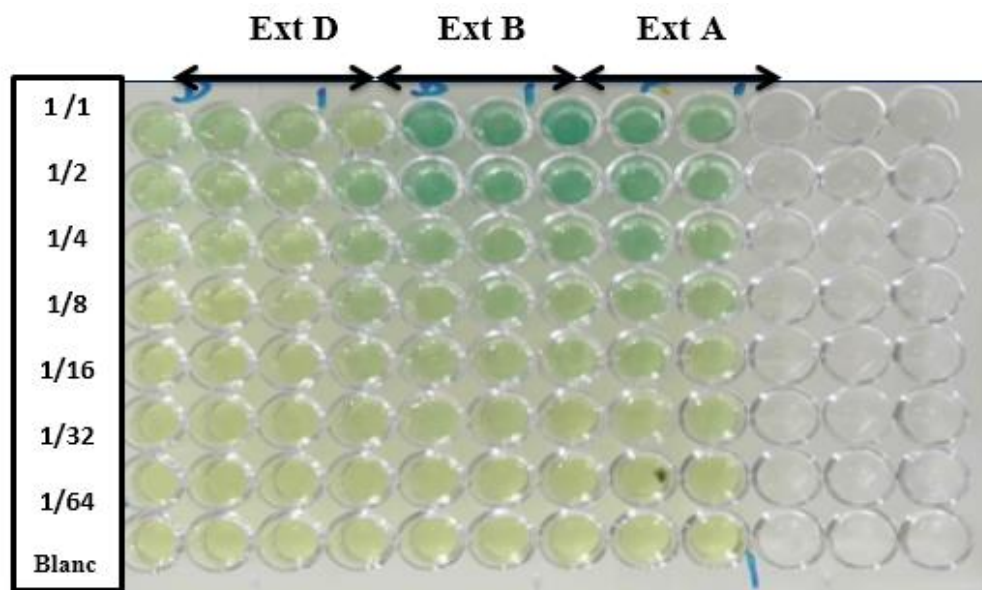


Figure 29: microplaque de l'activité du pouvoir réducteur (FRAP) des extraits testés.

Les trois extraits testés ont enregistré le plus faible pouvoir réducteur ( $A_{0,5} > 200 \mu\text{g} / \text{mL}$  par rapport aux standards le trolox ( $A_{0,5} = 5,25 \pm 0,20 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) et l'acide ascorbique ( $A_{0,5} = 3,62 \pm 0,29 \mu\text{g}/\text{mL}$ ).

La capacité des extraits de cette plante à réduire les radicaux libres est due à la présence des composés phénoliques contenant des groupes hydroxyles qui peuvent agir comme donneur d'électrons (Siddhuraju *et al.*, 2007).

Des travaux précédents effectués sur *Lamium flexuosum* de l'Algérie ont révélés que l'extrait acétate d'éthyle ( $0,98 \pm 0,05 \text{ mg}/\text{g}$  d'extrait) et butanol ( $0,54 \pm 0,01 \text{ mg}/\text{g}$  d'extrait), possèdent un pouvoir réducteur faible (Bouasla *et al.*, 2021).

#### 4.2.1.4 Activité de réduction par la formation du complexe $\text{Fe}^{+2}$ -phénanthroline

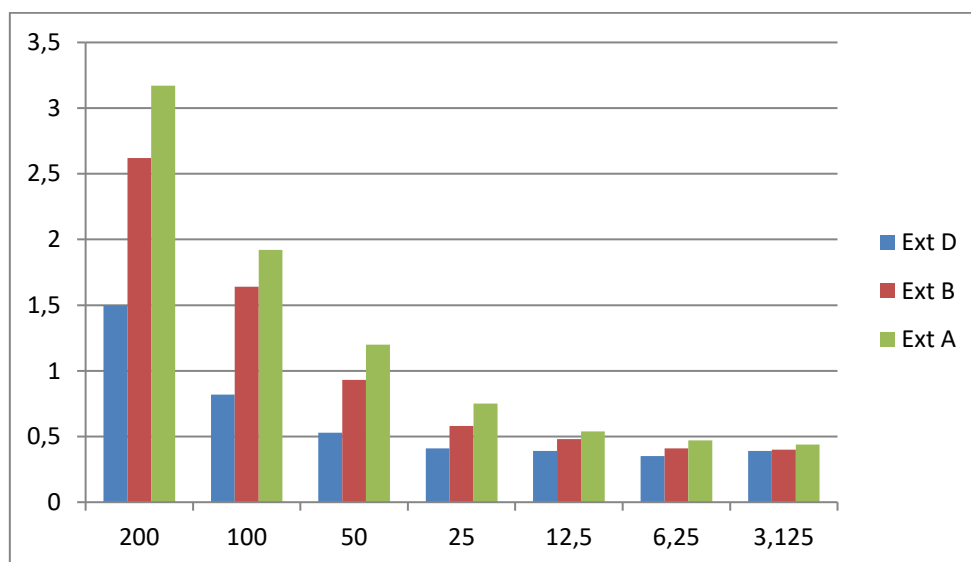
Cette activité est basée sur la formation d'un complexe  $\text{Fe}^{+2}$ -phénanthroline de couleur rouge-orangée à partir le fer ferrique ( $\text{Fe}^{+3}$ ) qui est réduit en fer ferreux ( $\text{Fe}^{+2}$ ) en présence d'un antioxydant.

La détermination des valeurs de  $A_{0,50}$  des extraits de la plante et celles des standards nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans la figure 30 et le Tableau 14.

## Chapitre 4 : Résultat et discussions

**Tableau 14 : Absorbance du complexe Fe<sup>2+</sup> - phénantroline des extraits testés**

	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	A <sub>0,5</sub> (µg/mL)
<b>Ext D</b>	0,39±0,01	0,35±0,03	0,39±0,01	0,41±0,02	0,53±0,01	0,82±0,09	1,50±0,09	44,57±2,35
<b>Ext B</b>	0,40±0,02	0,41±0,00	0,48±0,01	0,58±0,06	0,93±0,07	1,64±0,25	2,62±0,12	16,39±3,11
<b>Ext A</b>	0,44±0,02	0,47±0,02	0,54±0,01	0,75±0,01	1,20±0,04	1,92±0,10	3,17±0,28	8,68±1,36
	0,0976	0,195	0,390	0,781	1,562	3,125	6,25	A <sub>0,5</sub> (µg/mL)
<b>Trolox</b>	0,25±0,01	0,24±,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
<b>Acide ascorbique</b>	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



**Figure 30 : Histogrammes des Valeurs A<sub>0,50</sub> du test Fe<sup>2+</sup>-phénantroline des extraits testés.**



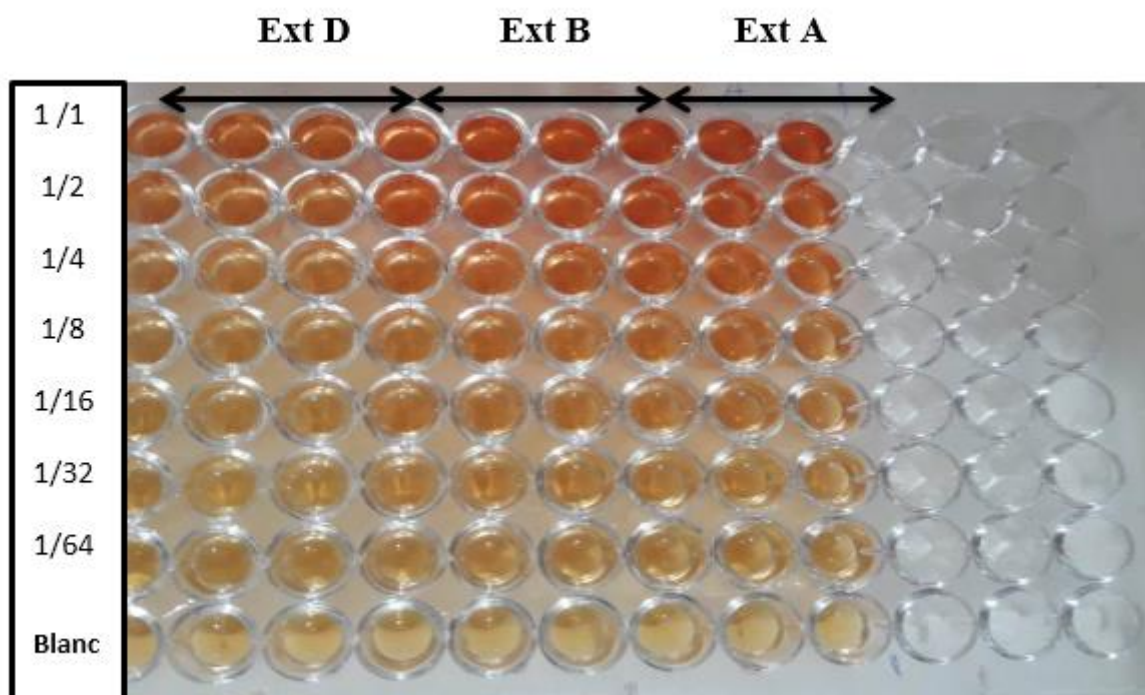


Figure 31 : Microplaques du test phénanthroline

Les résultats de ce test indiquent que Ext A ( $A_{0,5}=8,68$ ) et l'Ext B ( $A_{0,5}=16,39$ ) ont enregistré un pouvoir réducteur important pour former un complexe  $Fe^{2+}$  - phénanthroline.

Ce pouvoir réducteur vis-à-vis de l'ion ferrique de l'Ext A est une fois et demi inférieur à celui obtenu avec le trolox ( $A_{0,5}= 5,21\pm 0,27(\mu\text{g}/\text{mL})$ ) et presque 2 fois moins faible par rapport à l'acide ascorbique ( $A_{0,5}= 3,08\pm 0,02 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) et deux fois plus fort que l'Ext B ( $A_{0,5}=16,39\pm 3,11 \mu\text{g}/\text{mL}$ ). Alors que l'Ext D ( $A_{0,50}=44,57\pm 2,35 \mu\text{g}/\text{mL}$ ), a montré le pouvoir réducteur le plus faible par rapport aux standards et aux autres extraits.

En conclusion, les résultats de l'activité antioxydante des extraits polaires et apolaires de la plante étudiée ont montré que l'extrait acétate d'éthyle (Ext A) présentait la meilleure activité dans les quatre types de tests qui pourraient être attribués à la richesse en molécules à haut potentiel antioxydant telles que des flavonoïdes. En revanche, l'extrait *n*-butanol (Ext B) présente une activité significative de réduction par la formation du complexe  $Fe^{+2}$  -phénanthroline.

#### 4.2.2 activité enzymatique

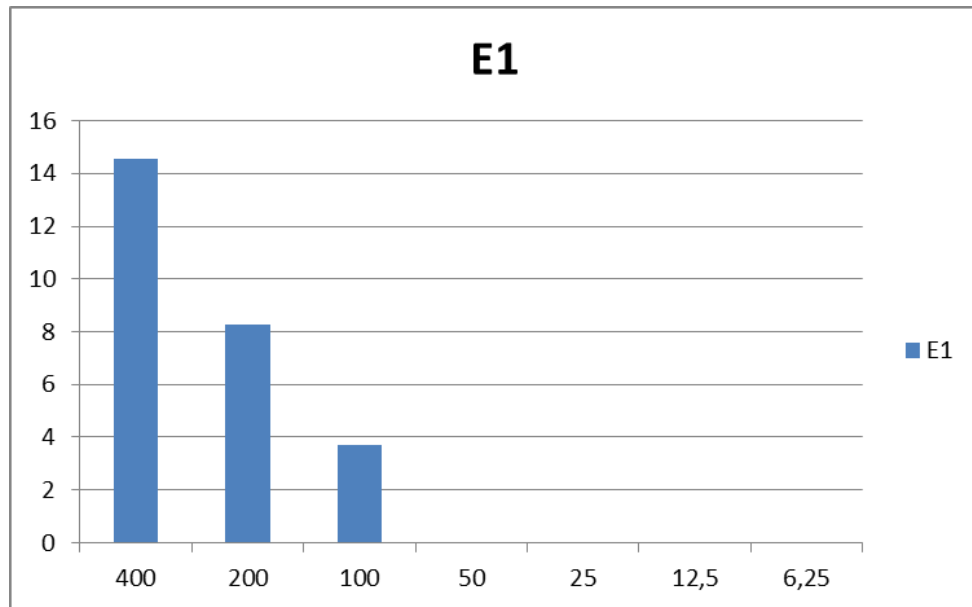
##### 4.2.2.1 l'activité d'inhibition de $\alpha$ -amylase

L'activité enzymatique des extraits Ext A, Ext B et Ext D a été évaluée en utilisant la méthode d'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase.

## Chapitre 4 : Résultat et discussions

**Tableau 15 : Le pourcentage d'inhibition de  $\alpha$ -amylase des extrais testés**

% d'inhibition								
Concentration	6.25 $\mu\text{g/mL}$	12.5 $\mu\text{g/mL}$	25 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>ExtD</b>	NA	NA	NA	NA	3,69±1,72	8,26±4,44	14,56±5,19	>400
<b>ExtA</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<b>Ext B</b>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	62,5 $\mu\text{g}$	125 $\mu\text{g}$	250 $\mu\text{g}$	500 $\mu\text{g}$	1000 $\mu\text{g}$	2000 $\mu\text{g}$	4000 $\mu\text{g}$	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
<b>Acarbose</b>	7,76±0,17	8,08±0,30	9,46±0,11	10,70±0,96	31,81±2,89	37,21±3,54	53,05±1,59	3650,93±10,70



**Figure 32 : Histogrammes des valeurs d'IC<sub>50</sub> du test  $\alpha$  – amylase.**

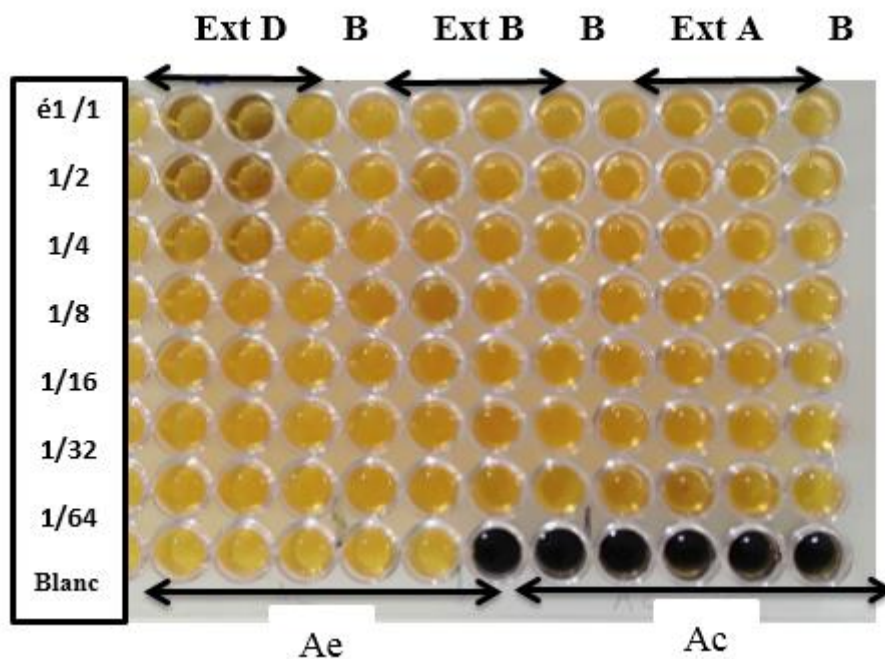


Figure 33: microplaque du test  $\alpha$ -amylase

D'après les résultats obtenus l'extrait D ( $IC_{50} > 400$ ) présente une forte activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase aux concentrations 100, 200 et 400  $\mu\text{g/mL}$  par rapport au standard l'acarbose ( $IC_{50} = 3650,93$ ). Alors que les deux autres extraits Ext A et Ext B ( $IC_{50} = \text{NA}$ ) ne présente aucun d'effet inhibiteur par rapport à celui de l'acarbose.

La forte activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase observée dans l'ext D peut être attribuée à la présence des molécules appartenant à la classe des terpènes, particulièrement les diterpènes qui sont considérés comme ayant un caractère taxonomique important dans la famille des Lamiacées.

### 4.3 Références du chapitre 4

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26, 211-219.

Bouasla, I., Hamel, T. , Barour, C. , Bouasla, A., Hachouf M. , Bouguerra, O. M., Messarah, M. (2021). Evaluation of solvent influence on phytochemical content and antioxidant activities of two Algerian endemic taxa: *Stachys marrubifolia* Viv. and *Lamium flexuosum* Ten (Lamiaceae). *European Journal of Integrative Medicine*. 42, 101267

Bubueanu, C., Gheorghe, C., Pirvu, L., Bubueanu, G. (2013). Antioxidant activity of butanolic extracts of Romanian native species *Lamium album* and *Lamium purpureum*. *Rom. Biotechnol. Lett.* 18, 8855–8862.

Danila, D.; Adriana, T.; Camelia, S.; Valentin, G.; Anca, M. (2015). Antioxidant activity of methanolic extracts of *Lamium album* and *Lamium maculatum* species from wild populations in the Romanian eastern Carpathians. *Planta Med.* 81

Mercader, A. G., Duchowicz, P. R., Fernandez, F. M., Castro, E. A., Bennardi, D. O., Autino, J. C., Romanelli, G. P., (2008). QSAR prediction of inhibition of aldose reductase for flavonoids. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16, 7470-7476.

Paduch, R., Wójciak-Kosior, M., Matysik, G. (2007). Investigation of biological activity of *Lamii albi* flos extracts. *J. Ethnopharmacol.* 110, 69–75.

Siddhuraju, P., and Becker, K. (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*. 101, 10- 19.

Von Gadow, A., Joubert, E., and Hansmann, C.F. (1997). Comparison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*),  $\alpha$ -Tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45, 632-638.

Wolf, J. T., Liu, R. H. (2008). Structure-activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 8404-8411.

## *Conclusion*

## Conclusion

L'étude des métabolites secondaires et l'évaluation de leurs activités *in vivo* et *in vitro* sont devenues un domaine de recherche important pour comprendre le potentiel thérapeutique des plantes médicinales. Cette approche permet de découvrir de nouveaux composés bioactifs, d'évaluer leur efficacité et leur toxicité, et de développer de nouveaux médicaments à base de plantes.

Notre travail a été consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation du potentiel biologique *in vitro* d'une espèce médicinales Algérienne appartenant à la famille des Lamiacées et au genre *Lamium*.

L'étude phytochimique préliminaire des extraits issus des parties aériennes de la plante étudiée en utilisant la chromatographie sur couche mince analytique sur gel de silice et polyamide nous a permis de révéler la présence des flavonoïdes et des terpènes.

La méthodologie de séparation et de purification de l'extrait *n*-butanol a été essentiellement fondée sur la chromatographie sur colonne qui nous a permis d'isoler un composé P1 de type flavonoïde. une structure partielle a été proposée on se basant sur la spectroscopie UV-visible.

Le potentiel antioxydant des extraits dichlorométhane, acétate d'éthyle et *n*-butanol a été déterminé par quatre méthode : DPPH, ABTS, FRAP et phénantroline.

les résultats ont montré que l'extrait acétate d'éthyle (Ext A) présentait la meilleure activité dans les quatre types de tests par rapport aux autres extraits qui pourrait être attribuée à la richesse en molécules à haut potentiel antioxydant telles que des flavonoïdes. En revanche, l'extrait *n*-btanol (Ext B) présente une activité significative de réduction par la formation du complexe Fe<sup>+2</sup>-phénanthroline.

L'activité enzymatique des différents extraits a été évaluée en mesurant leurs capacités à inhiber l'enzyme  $\alpha$ -amylase. L'extrait dichlorométhane a présenté une activité antidiabétique *in-vitro* importante par rapport aux standards. Cette activité biologique est probablement liée à la richesse de l'espèce en composés terpéniques.

## *Résumés*

## Abstract

We focused on the phytochemical and biological study of a species belonging to the *Lamium* genus.

After hydromethanolic maceration, and successive extraction with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ethyl acetate and n-butanol of 110g of the plant's aerial parts. Three extracts were obtained.

The phytochemical investigation of the n-butanol extract allowed for the separation and determination of a flavonoid P1. The partial structure was established using an UV-Visible spectroscopic method.

The antioxidant activity of the aerial parts extracts of the plant was evaluated using the DPPH, ABTS, FRAP and phenantroline tests.

The ethyl acetate extract showed the highest activity in the tests of reducing power by the formation of the Fe<sup>2+</sup>-phenantroline complex ( $A_{0,5}=8,68\mu\text{g/mL}$ ) compared to trolox ( $A_{0,5}=5,21\pm 0,27(\mu\text{g/mL})$ ) and ascorbic acid ( $A_{0,5}=3,08\pm 0,02\mu\text{g/mL}$ ).

The dichloromethane extract showed a strong inhibitory activity against the enzyme  $\alpha$ -amylase at concentration of 100, 200 and 400 ( $\mu\text{g/mL}$ ) with  $\text{IC}_{50} > 400$  compared to the standard acarbose  $\text{IC}_{50} = 3650,930$

**Key words:** Lamiacées, *Lamium*, flavonoids, antioxidant, antidiabetic,



كنا مهتمين بالدراسة الكيميائية النباتية والبيولوجية لأنواع تنتمي إلى جنس *Lamium*. بعد النقع بخليط من الماء و الميثانول التركيز و الاستخلاص المتتالي بواسطة  $CH_2Cl_2$ , الاسيتات الايثيل و البيوتامول ل 110 غ من الأجزاء الهوائية تم الحصول على ثلاثة مستخلصات الديكلوروميثان خلات الإيثيل و البيوتانول.

سمحت الدراسة الكيميائية لمستخلص البيوتانول بفصل مركب فلافونويدي حيث تم تحديد الهيكل الجزئي باستخدام طريقة التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية المرئية.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات النباتية الثلاثة باستخدام اختبارات ABTS و phenontroline FRAP. DPPH. قدم مستخلص أسيتات الإيثيل أعلى نشاط في اختبار قوة الاختزال عن طريق تكوين معقد  $Fe^{+2}$ -phenanthroline، حيث  $A_{0.5} = 8,68$  ميكروغرام /مل مقارنة مع (trolox)  $A_{0.5} = 5,21 \pm 0,27$  وحمض الاسكوربيك  $A_{0.5} = 3,08 \pm 0,02$  ميكروغرام /مل

400 و بينما يحتوي مستخلص ثنائي كلورو ميثان على نشاط مثبط قوي  $\alpha$ -amylase بتراكيز 100 و 200 و 400 حيث ان  $IC_{50} > 400$  ميكروغرام/ مل مقارنة مع الأكاربوز. ( $IC_{50} = 3650,93$ )

الكلمات المفتاحية *Lamium* : الفلافونويد ، مضادات الأكسدة ، مضادات السكر:

Année universitaire : 2022-2023	Présenté par : Benidir nihil Atmani Hadil
<b>Etude phytochimique et activités biologiques d'une espèce de la famille des Lamiacées</b>	
<b>Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimies.</b>	
<p>Nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et biologique d'une espèce appartenant au genre <i>Lamium</i>.</p> <p>Après macération hydrométhanolique , concentration et affrontements successifs au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> , à l'acétate d'éthyle et au <i>n</i>-butanol de 110 g des parties aériennes de la plante , trois extraits ont été obtenus.</p> <p>L'investigation phytochimique de l'extrait <i>n</i>-butanol a permis la séparation et la détermination d'un flavonoïde P1. La structure partielle a été établie par l'utilisation de la méthode spectroscopique UV-Visible.</p> <p>L'activité antioxydante des trois extraits de la plante, a été évaluée en utilisant les tests DPPH, ABTS, FRAP et phénantroline. L'extrait acétate d'éthyle a présenté l'activité la plus élevée dans le test du pouvoir de réduction par la formation du complexe Fe<sup>+2</sup>-phénanthroline (A<sub>0,5</sub>=8,68µg/mL) par rapport au trolox (A<sub>0,5</sub>= 5,21±0,27(µg/mL) et à l'acide ascorbique (A<sub>0,5</sub>= 3,08±0,02 µg/mL).</p> <p>L'extrait dichlorométhane montre une forte activité inhibitrice de l' <math>\alpha</math> -amylase aux concentrations 100 , 200 et 400 µg/mL avec une IC<sub>50</sub> &gt;400) par rapport au standard l'acarbose (IC<sub>50</sub>=3650,93).</p>	
<b>Mots-clefs :</b> Lamiacées, <i>Lamium</i> , flavonoïdes, antioxydante, antidiabétique	
<b>Laboratoires de recherche :</b> Laboratoire de Phytochimie et analyse physico-chimiques et biologiques du l'université Mentouri- Constantine 1	
<p><b>Président du jury :</b> BELBACHE Hanene (M.C.B - Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p> <p><b>Encadreur :</b> ZAABAT Nabila (M.C.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1</p> <p><b>Examineur :</b> BOUSETLA Ahlem (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p>	