



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale.

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et physiologie de reproduction

Intitulé :

**Etude phytochimique et évaluation de la toxicité et l'activité anti-
inflammatoire de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L.**

Présenté et soutenu par : *Mokhtari Nousseiba*

Djamaa Hayette

Le : 14/07/2019

Jury d'évaluation :

Président du jury : Hamouda Dounia (MCA- UFM Constantine).

Rapporteur : Chibani Salih (MCA - UFM Constantine).

Examineurs : Bouchoukh Imene (MAA - UFM Constantine)

*Année universitaire
2018- 2019*

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu, le tout Puissant de nous avoir donné la volonté et la patience pour achever ce travail réalisé à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Frères Mentouri Constantine.

*Merci infiniment à nos encadreur **Mr Chibani Salih** docteur à la faculté des sciences, Université des Frères Mentouri de Constantine, qui a dirigé ce travail et veillé à ce qu'il soit mené à terme. Nous tenons surtout à vous remercier pour vos conseils qui m'ont été de grande utilité.*

Grand et respectueux remerciement va aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail :

***Mme Hammouda D.** Pour le grand honneur de présider le jury.*

***Mme Bouchoukh I.** pour avoir bien voulu examiner ce travail.*

Nous tenons à redire le plaisir que nous avons eu à travailler au sein du laboratoire de la faculté des sciences, Université des Frères Mentouri de Constantine , et nous remercie ici tous les membres.

*De très précieux remerciements vont au **Mr Bahri laid**, le chef de laboratoire de biologie animale UFMC 1 pour la qualité de ses conseils et leur aide.*

*Enfin, nous tenons à remercier nos très **chers parents**, pour leur soutien morale et physique, ainsi à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet.*

Merci à tous !

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents, qui sont toujours près de moi, m'encouragent, me conseillent, avec tous les moyens, aucun mot, ne peut exprimer ce que vous méritez pour toutes les sacrifices que vous n'avez pas cessé de me donner depuis ma naissance, merci ! Que dieu vous garde et vous protège ;

A toute ma famille ;

A tous mes proches particulièrement ; mon binôme Nousseiba

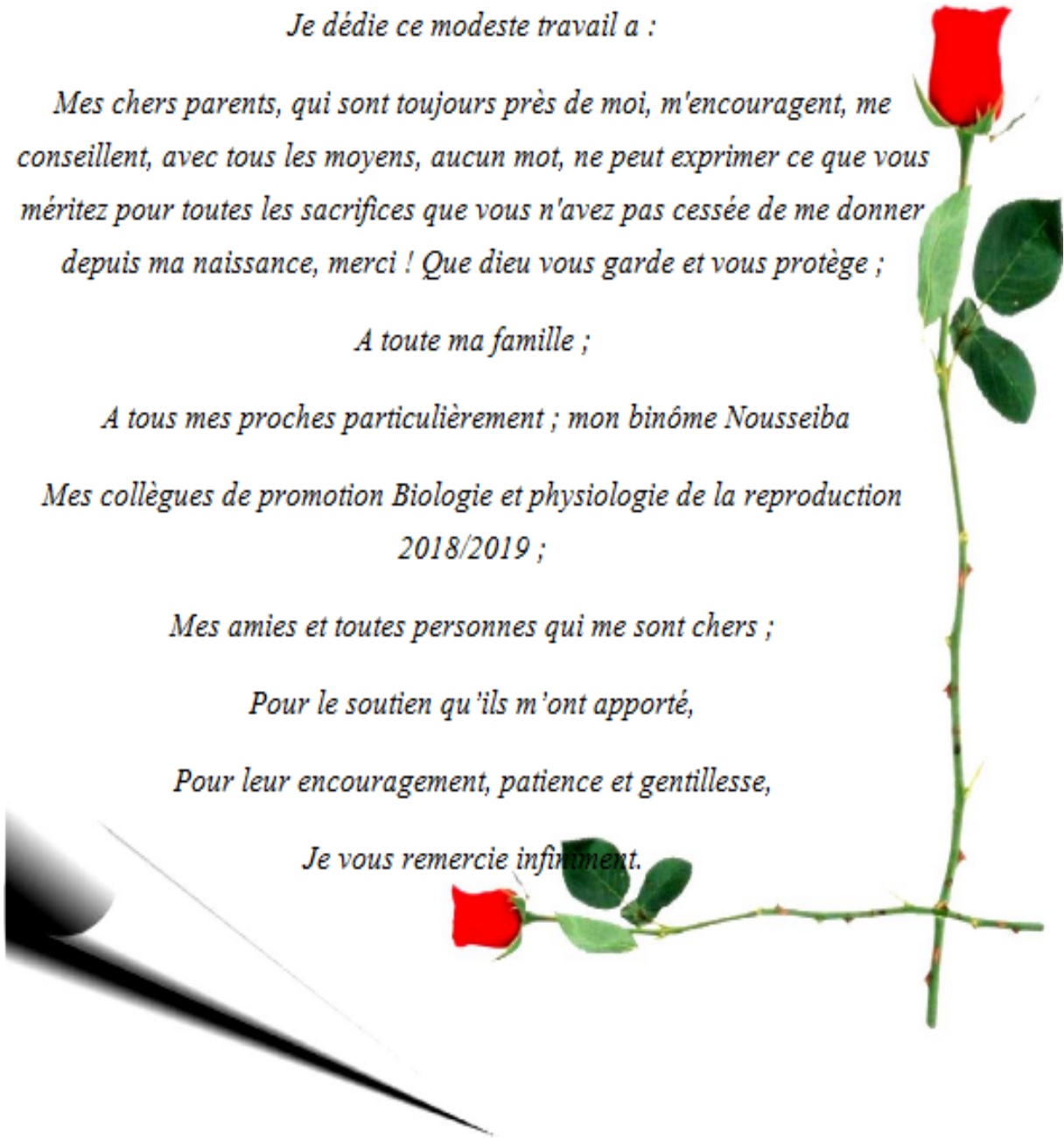
*Mes collègues de promotion Biologie et physiologie de la reproduction
2018/2019 ;*

Mes amies et toutes personnes qui me sont chers ;

Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,

Pour leur encouragement, patience et gentillesse,

Je vous remercie infiniment.



Hayette

Dédicace

Avant tout, merci à Dieu le tout puissant de m'avoir son soutien durant les périodes les plus difficiles Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude

A mes parents.

Je dédie aussi ce travail à :

Ma chère sœur **Imene** et ma nièce **Zarine** .

Mes chers frères **Ramzi, Ali, Chouaib.**

Ma belle sœur **Amel** .

Ma cousine **Chaima** .

Toutes mes amies .

Je dédie mon travail aussi à Monsieur **S. Chibani** pour leur soutien et leur encouragement aussi bien pour sa patience jusqu'à la fin de ce modeste travail et un grand merci pour vous.



Nousseiba

Listes des abréviations

DO	: Densité optique
CHCl₃	: Chloroforme
HCl	: Acide chlorohydrique
°C	: Degré celcius
H₂SO₄	: Acide sulfurique
H	: Heurs
Ip	: Intra-péritonéale
EP	: éther de pétrole
EMSR	: Extrait méthanolique de <i>santolina rosmarinifolia</i> .L
FeCl₃	: trichloride de fer
g	: gramme
KOH	: Hydroxyde de potassium
MeOH	: Méthanol
mg	: Milligramme
Mg	: Magnésium
MS	: Matière sèche
min	: Minutes
ml	: Millilitre
NaOH	: Sodium hydroxide
NaCl	: Chloride de sodium
Na₂CO₃	: Carbonate de sodium
Na₂SO₄	: Picrate de sodium
OMS	: Organisation mondiale de la santé
SM	: Solution mère
µl	: Mictolitre

Listes des figures

Figure 01	L'espèce <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.	06
Figure 02	Répartition géographique du <i>Santolina rosmarinifolia</i> L.	08
Figure 03	Structure d'unité de base des polyphénols.	14
Figure 04	Structure de base des flavonoïdes.	15
Figure 05	Squelette de base des flavonoïdes.	16
Figure 06	Structure de quelques flavonoïdes.	17
Figure 07	Structure d'un aurone.	18
Figure 08	Structure des isoflavonoïdes.	18
Figure 09	Structure des anthocyanes.	19
Figure 10	Structure chimique des anthraquinones.	20
Figure 11	Structure des tanins.	20
Figure 12	structure de base de l'isoprène.	22
Figure 13	Noyau Stérol.	23
Figure 14	Matériel végétal des organes de <i>S. rosmarinifolia</i> L.	29
Figure 15	Schéma illustrant les étapes expérimentales réalisées dans cette étude	29
Figure 16	Les extraits Chloroformique préparés	30
Figure 17	Les extraits étherique préparés.	31
Figure 18	évaporateur rotatif.	31
Figure 19	Spèctrophotomètre UV utilisé pour la lecture de l'absorbance	35
Figure 20	injection de l'extrait.	38
Figure 21	injection de formol	38
Figure 22	Mesure du volume de l'œdème.	38
Figure 23	Résultats de criblage de quinones.	41
Figure 24	Résultats de criblage des anthraquinones.	41
Figure 25	Résultats de criblage des flavonoïde.	43
Figure 26	Résultats de criblage des tanins.	45

Figure 27	Résultats de criblage des saponisides.	45
Figure 28	Résultat de criblage de triterpène.	46
Figure 29	Résultat de criblage de stérol.	47
Figure 30	Résultat de criblage de stéroïde.	47
Figure 31	Courbe d'étalonnage d'acide gallique.	48
Figure 32	les signes de la toxicité appartenant sur les souris	50
Figure 33	Evolution de l'œdème en présence d'un prétraitement par voie intra- péritonéale de, après l'injection de le formol (0,04 ml; 5%), Chaque point représente une moyenne de 6rats	51

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Résultats de mise en évidence des quinones et des anthraquinones	40
02	Résultats de mise en évidence des flavonoïdes et des anthocyanes	42
03	Résultats de mise en évidence tanins	43
04	Résultats de mise en évidence saponisides	44
05	Résultats de mise en évidence de Stérols, stéroïdes et triterpènes	45
06	L'effet de la dose de <i>S.rosmarinifolia</i> L. sur les souris.	49

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

	Page
Introduction générale.....	1

Chapitre I : Etude bibliographique

I. Etude des plantes médicinales.....	04
I. 1. Généralité sur la famille des Astéracées.....	04
I.2. Description botanique de la famille astéraceae.....	05
A. L'appareil reproducteur.....	05
I.3. Présentation du genre <i>santolina</i>	05
I.3.1 Espèce <i>Santolina rosmarinifolia</i> .L.....	05
I.3.1.1 Caractéristiques botaniques.....	06
I.3.1.2 Classification systématique.....	07
I.3.1.3. Origine et répartition géographique du <i>santolina</i>	08
I.4. Propriétés biologiques du genre <i>Santolina</i>	08
I.4.1. Utilisation en médecine traditionnelle.....	08
I.5. Activités biologiques.....	09

I.6. Etudes chimiques antérieures du genre Santolina.....	09
---	----

Chapitre II : métabolites secondaires

II. Métabolites secondaires.....	12
II.1. Fonctions des métabolites secondaires.....	12
II.2 Classification des métabolites secondaires.....	13
II.2.1. Composés phénoliques.....	13
II.2.1.1. Flavonoïdes.....	14
a. Propriétés des flavonoïdes	15
b. Classification des flavonoïdes.....	15
II.2.1.2. Anthocyanes.....	18
II.2.1.3. Quinones.....	19
II.2.1.4. Antraquinone.....	19
II.2.1.5. Tanins.....	20
a. Tanins hydrolysables.....	21
b. Tanins condensés ou tanins catechiques ou proanthocyanidols.....	21
c. propriétés pharmacologique des tanins.....	21
II.3. Terpènes.....	22
II.3.1. Classification des terpenoïdes	22
II.4. Stéroïdes	23
II.5. Stéroles	23
II.6. Saponosides.....	24
II.7. Activité biologique	24
II.7.1. Activité anti-inflammatoire.....	24
II.7.1.1. L'inflammation.....	24
II.7.2. l'activité de la toxicité.....	26

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Matérielle végétal.....	28
III.2. Récolte de la matière végétale.....	28
III.3. Conservation (séchage)et broyage.....	28
III.4. Extraction des métabolites secondaires.....	30
III.5. Tests phytochimiques.....	31
III.5.1. Criblage des composés phynolique.....	32
III.5.1.1. Criblage des quinones.....	32
III.5.1.2. Criblage des Anthraquinones.....	32
III.5.1.3. Criblage des flavonoïdes	32
III.5.1.4. Criblage des Anthocyanes.....	32
III.5.1.6. Criblage des tannin.....	33
III.5.1.7. Criblage de saponoside.....	33
III.5.1.8. Criblage des Stérols et triterpènes.....	33
III.6. Dosage des polyphénols totaux.....	34
III.7. Activités biologiques.....	35
III.7.1. Evaluation de la toxicité.....	35
III.7.2. Evaluation de l'activité anti-inflamatoire.....	36

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV. Les tests phytochimiques.....	38
IV.1. Criblage des quinones et anthraquinones.....	38
IV.2.Criblage des flavonoïdes et anthocyanes.....	40
IV.3 Criblage des tannins.....	42
IV.4. Criblage des saponosides.....	42
IV.5. Criblage des stérols,stéroïdes et triterpènes.....	43
IV.6. Dosage des polyphénols toraux.....	46
IV.7. Evaluation des activité biologiques	47
IV.7.1 Evaluation de la toxicité.....	47
IV.7.2. Evaluation de l'activité anti-infmlamatoire.....	49
Conclusion générale.....	50
Résumé	
Références bibliographiques	

Résumé

Nos travaux ont pour objectif d'identifier les sous classes de métabolites secondaires ainsi que la cytotoxicité et l'activité anti-inflammatoire de l'espèce *santolina rosmarinifolia* L appartenant à la famille des astéracées.

D'après nos investigation effectués nous avons pu constater que la plante étudiée est riche en substances naturelles tels que les anthraquinones, flavonoïdes saponosides, tanins, stérols et triterpènes, qui pourraient être utiles dans plusieurs domaines pharmacologique, cosmétiques...

La quantification des composés phénoliques par la méthode colorimétrique adaptée de Singleton et al a montré que la plante est en abondance en polyphénols.

Concernant la toxicité in vivo réalisés sur des souris élevées à l'animalerie de la faculté (SNV UFMCI) a révélé que l'extrait hydrométhanolique de *S.rosmarinifolia* L. ne possède pas d'effet toxique ce que valorise l'utilisation de cette plante.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo sur des rats wistar albinos a élucidé que notre plante à un effet inhibiteur remarquable sur le développement de volume de l'œdème au niveau de la patte de l'animale.

Mot clés : *Santolina rosmarinifolia* , tanins, flavonoides, ,astéracées, anti-inflammatoire, cytototoxicité.

الملخص :

يهدف عملنا بتحديد مركبات الأيض الثانوي واختبار السمية و التأثير المضاد للالتهاب للنبتة *Santolina rosmarinifolia* والتي تنتمي الى عائلة النجميات *Astéracées*.

حسب الأعمال التي قمنا بها استنتجنا أن النبتة المدروسة غنية بالمركبات الطبيعية منها flavonoide: الفلافونويد antraquinones أنتراكينون, سبونوزيد saponosides, التانينات tanins, الستيروول stérols التريبينات tréerpéne, والتي تمكننا من استعمالها في المجالات الصيدلانية والتجميلية...

لقد بين التقدير الكمي للمركبات الفيلونية باستعمال طريقة التلوين ل Singleton et al أن النبتة غنية بهذه المركبات الكيميائية .

فيما يخص اختبار السمية التي قمنا باجرائها على فئران wistar albinos المحصل عليها من جامعة منتوري قسنطينة 1 توضح لنا ان مستخلص الميثانولي للنبتة ليس لها تأثير سمي مما يسمح باستعمالها في مختلف المجالات.

ان دراسة اختبار الفعالية المضادة للالتهاب على الجرذان أظهر لنا أن النبتة لها عمل مثبط على تطور حجم انتفاخ الورم.

الكلمات المفتاحية :

Santolina rosmarinifolia, الأستراكية, اختبار السمية, المضاد للالتهابات, التانينات, الفلافونويد.

Abstract

Our work's aim is identifying the substance classes of the secondary metabolites and testing the toxicity and the counter effect of the inflammation of the species *Santolina rosmarinifolia* L. which belongs to the family Asteraceae.

According to our investigations we have found that the plant is rich in natural substances such as : flavonoids, anthraquinones, saponosides, sterols , tanins and terpenes ; which enable us to use it in pharmaceutical and cosmetic fields ...

The quantitative estimation of the phenolic compounds by the colorimetric method adapted from Singleton et al showed that the plant is abundant in polyphenols.

Regarding the toxicity test that we have made on wistar albinos obtained from the university Mentouri Constantine 1 revealed that the hydromethanolic extract of *S.rosmarinifolia* L. does not have a toxic effect which is valued by the use of this plant.

The evaluation of testing the effectiveness anti-inflammatory in vivo on albino wistar rats has elucidated that our plant has a remarkable inhibitory effect on the volume development of edema at the level of the paw of the animal.

Key words: *Santolina rosmarinifolia* L. toxicity ,anti-inflammation ,asteraceae .tanins

Introduction générale

Introduction générale :

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'Homme. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques (**Schauenburg et Ferdinand, 2006**).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, plus de 80% des populations africaines ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé. Le continent africain regorge de plantes médicinales très diversifiées. En effet, sur les 300.000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200.000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique et ont des vertus médicinales (**Sofowora, 1993**).

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations rurale et urbaine en Afrique et sont le principal moyen par lequel les individus se soignent (**Badiaga, 2011**). En dehors des plantes cultivées, plusieurs plantes sauvages ou domestiquées, forestières ou rudérales revêtent une grande importance culturelle et présentent un fort potentiel économique pour l'alimentation et les soins.

La flore algérienne, avec ses différentes espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, reste très peu explorée tant sur le plan phytochimique que sur le plan pharmacologique (**Merzoug, 2009**).

De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes ...etc.

L'objectif de notre travail est sur le criblage de métabolites secondaires et activités biologiques *Santolina rosmarinifolia* L. Dans ce contexte nos travaux sont divisés en deux parties :

La première partie comporte une étude bibliographique qui regroupe deux chapitres :

- ❖ Chapitre 1 : renferme une étude botanique et description de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L.

❖ Chapitre 2 : destiné aux métabolites secondaires et leurs rôles biologiques

La deuxième partie : contient deux chapitres :

❖ chapitre1 : est consacré aux matériel et méthodes

❖ chapitre2 : traite les résultats et discussion

Et enfin : conclusion générale.

Chapitre I

Etude bibliographie

I. Etude des plantes médicinales :

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances. Elles utilisent la plupart des espèces végétales, tant ligneuses qu'à herbacées, comme médicaments. Une croyance bien répandue est que toute plante soigne.

I.1. Généralité de la famille des Astéraceae

Les *Astéraceae* un des taxon des plantes a fleurs dicotylédones, sont la deuxième famille en importance de la division Magnoliophyta, avec quelques 1100 genres et plus de 20 000 espèces reconnues, constituent l'une des plus vastes familles des plantes supérieures.

Les *Astéracées* sont des herbes, des arbustes, ou, bien moins souvent, des arbres. Elles présentent nombre de variations dans leur morphologie générale et leur type de croissance, car on les retrouve dans des habitats et des locations des plus divers (labunix.uqam.ca)

Cette famille végétale englobe des espèces annuelles ou pennes, plus rarement des arbustes ou de petits arbres a distribution cosmopolite.

les plantes exceptionnellement multiforme de cette famille se distingue par la biosynthèse d'un spectre large de substances variée (**bohlman 1980**).qui conditionnellement d'une part l'utilisation de nombreuse astéracée sous forme de plantes médicinales comme l'achillée millefeuille, l'arnica, le tournesol mais qui peuvent être responsable d'autre part de la toxicité de certaines espèces (**heywood,herbonne 1977**).

I.2.Description botanique de la famille des Asteraceae :

I.2.1.Types de fleurs des Asteraceae :

On peut diviser les fleurs des Asteraceae, appelées aussi fleurons, en trois groupes suivant l'aspect des capitules :

a.Les liguliflores :(Chicorée, pissenlit, laitue ...etc.) composées uniquement de fleurons ligulés. Elles présentent des languettes, ou ligules, dans lesquelles les équivalents des pétales sont soudés, généralement par cinq, parfois par trois, reconnaissables seulement aux dents de la languette, et où un pétale prédomine,

b. Les tubuliflores :

(Chardon, cirse, centaurée ...etc.) dont le capitule n'est composé que de fleurons tubulés (ou fleurs tubulaires). Elles présentent des tubes terminés par des lèvres imperceptibles ou s'ouvrant plus ou moins largement en cinq lobes.

c. Les radiées :

Aux fleurons périphériques ligulés entourant un disque de fleurons tubulés (marguerite, aster, séneçon ...etc.) (Barreda *et al.*, 2010). en faisant la synthèse des deux types de fleurons on obtient les radiées dont le capitule est composé de ligules imitant les pétales à la périphérie et de tubes imitant les étamines et le pistil au centre (Florin, 2008 ; Spichiger *et al.*, 2004). Cinq étamines soudées en tube par les anthères, autour du style.

I.3.Présentation du genre *santolina* :

Le genre *Santolina* est représenté par plus de 10 espèces largement distribuées dans la région méditerranéenne (Derbesy et al, 1989). Plusieurs espèces ont été investiguées phytochimiquement et un nombre de composés acétyléniques (**Christensen, 1992**), d'huiles essentielles, de coumarines et de flavonoïdes (**Ferrari et al, 2005**) ont été identifiés.

Le genre *Santolina* pousse dans la région méditerranéenne. Il présente plus de 10 espèces largement distribuées (**Ferrari , B.;Casanova , J. (2005)**

Il renferme des sous arbrisseaux de petite taille, ligneux et rustiques ; le feuillage est alterne, très finement penne, à hélices foliaires minces ; les capitules en boule, jaunes, crème ou blancs, longuement pédicellés, sont composés de petites fleurs tubulaires (**Kisiel, et al (2003)**).

Ce genre présente des plantes ornementales. Plusieurs espèces ont été utilisées en médecine traditionnelle ; d'autres sont utilisées aussi, dans la tradition populaire, comme insecticides car leurs feuillages aromatiques éloignent les insectes. (Gardner, J. A. (2005).

I.3.1. Espèce *Santolina rosmarinifolia* L.

Santolina rosmarinifolia L C'est une plante vivace poussant entre 800 et 1300 m d'altitude (Barrero, A. F. ; and Arana, E, 1988). dans la région méditerranéenne : le Portugal, l'Espagne, l'Algérie le Maroc, le sud de la France, la Péninsule Ibérique et en Roumanie (Palá-Paul, J et al 2001). Elle pousse dans les régions caillouteuses, sèches et les pentes rocheuses (Aniško, T. (2008).



Figure 01 : *Santolina rosmarinifolia*.L

I.3.1.1. Caractéristiques botaniques :

L'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. forme des buissons odorants, glabres, de couleur vert foncé et de 40-50 cm de hauteur.

- **Les fleurs** réunies en capitules fleurissent en juillet-août (Aniško, T. (2008).
- **Les capitules** de 8-15mm de diamètre, homogames, discoïdes, à fleurs tubuleuses, hermaphrodites (les périphériques à anthères parfois stériles). Corolle présentant une évagination qui coiffe le sommet de l'ovaire. Bractées de l'involucre imbriquées sur peu de rangs, oblongues et entourées par un appendice scarieux et lacéré (Beloued, A. (1998).
- **Réceptacle** convexe ou subhémisphérique, paléacé. Akènes non ailés, chauves, tétragones (ce dernier caractère est parfois difficile à observer sur le sec) ; entièrement

dépourvus de côtes et de faisceaux libéro-ligneux saillants. Sous-arbrisseau suffrutescent, touffu, à tiges ligneuses. Rameux monosépales. Inflorescence en corymbe dense (Quezel, P. ; Santa, S. (1963).

- Feuilles aromatiques, étroitement linéaires, longues de 3-5 mm (Beloued, A. (1998).

I.3.1.2. Classification systématique :

Notre espèce est classée comme suit (Dupont et Guignard, 2007 ; Spichiger *et al.*, 2004) :

<u>Règne</u>	<u>Plantae</u>
<u>Clade</u>	<u>Angiospermes</u>
<u>Clade</u>	<u>Dicotylédones vraies</u>
<u>Clade</u>	<u>Noyau des Dicotylédones vraies</u>
<u>Clade</u>	<u>Astéridées</u>
<u>Clade</u>	<u>Campanulidées</u>
<u>Famille</u>	<u>Asteraceae</u>
<u>Sous-famille</u>	<u>Asteroideae</u>

I.3.1.3. Origine et répartition géographique du sontolina :

L'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. La sous espèce typique "*rosmarinifolia*" est trouvée dans toutes les régions de distribution de cette espèce, elle a un aspect un peu tomenteux, alors que la sous espèce "*canescens*", réservée aux régions du sud de l'Espagne, possède un aspect densément tomenteux, de couleur blanc à gris (Ferrari *et al.*, 2000). En Algérie cette espèce n'a pas de sous-espèce.

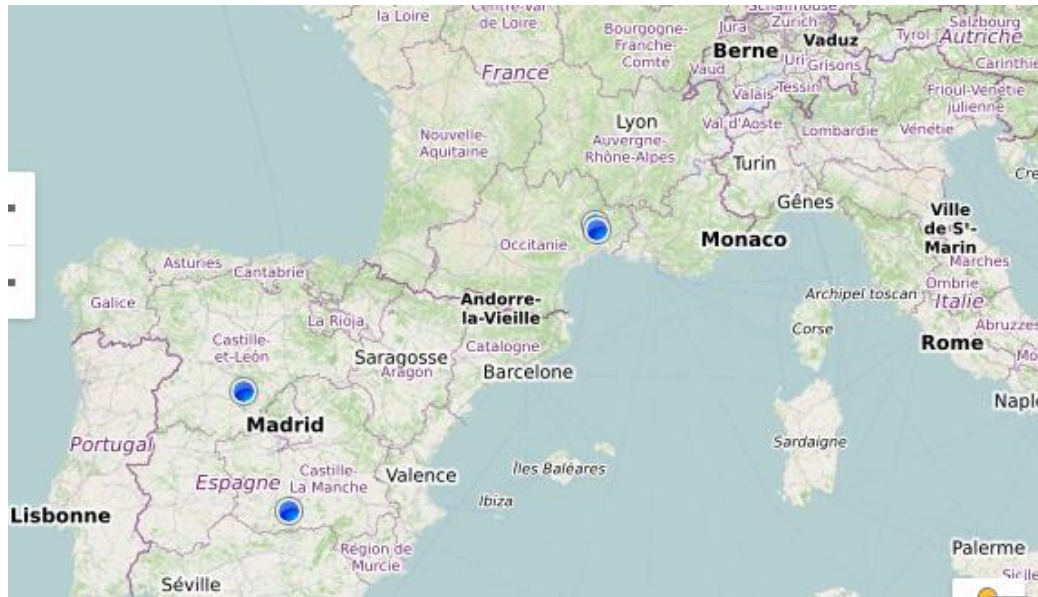


Figure 02 :

Répartition géographique du santolina

I.4. Propriétés biologiques du genre *Santolina*

I.4.1. Utilisation en médecine traditionnelle

Santolina, altération de sanctolina, veut dire plante sainte, à cause de ses vertus médicinales (Beloued, A. (1998)). Ce genre comporte plusieurs espèces, dont la majorité est largement utilisée en médecine populaire (Ferrari, B.; Tomi, F.; Casanova, J. (2005)). Ainsi *S. chamaecyparissus*, la plus populaire et courante en culture (Utrecht, Y. T.; Suzette, E.; Bennekom, S.R.; Haaksbergen, T. S. (1995)) a des propriétés analgésique, antispasmodique, anti-inflammatoire, digestive et antimicrobienne (Kisiel, W.; Dawid-Pač, R.; Grabarczyk, H.; Nowak, G. (2003)). L'infusion des feuilles et des fleurs de *S. ligustica*, poussant en Italie, est utilisée contre les douleurs gastriques (Cornara, L.; La Rocca, A.; Marsili, S.; Mariotti, M.G. (2009)).

L'espèce *S. rosmarinifolia* L. est largement utilisée en médecine traditionnelle (Ushakov, V. A.; Murav'eva, D. A.; Bakina, L. A. (1976)). En Algérie, elle est employée comme stimulant, antispasmodique et vermifuge (Kabissi, I. (1998)). Au Portugal, la macération de la plante (fleurs sèches) dans l'eau sert comme antipyrétique. L'infusion des fleurs fraîches ou sèches est prescrite comme protecteur hépatique, hypotensive, intestinale, anti-inflammatoire et appétissante (Novais, M. H.; Santos, I.; Mendes, S.; Pinto-Gomes, C. (2004)).

I.5. Activités biologiques

Pendant plusieurs années, le genre *Santolina* a fait l'objet de plusieurs investigations chimiques. Il s'avère que les produits isolés de ces espèces ont des activités biologiques différentes. Dans ce contexte, Giner et collaborateurs ont mis en évidence des propriétés analgésiques dans les extraits apolaires de *S. chamaecyparissus* (De Logu, A.; Loy, G.; Pellerano, M.L.; Bonsignore, L.; Schivo, M.L. (2000)). Ils ont montré aussi l'effet inhibiteur de ces extraits contre les contractions des muscles induites par différents agonistes comme l'histamine et la sérotonine, ainsi qu'une activité anti-inflammatoire (Giner, R.M.; Rios, J.L.; Villar, A. (1989)). Une autre étude réalisée sur la même espèce, par Sala et collaborateurs, montre que cette plante est une bonne source des composés à effet inhibiteur de l'activité phospholipase A2 in vitro et in vivo (Sala, A.; Recio, M.C; Giner, R.M.; Manez, S.; Rios, J.L. (2000)). Des investigations chimiques réalisées par Silvan et collaborateurs, sur *S. oblongifolia*, ont conduit à l'isolement de coumarines et de flavonoïdes, ces composés ont montré une activité anti-inflammatoire (Silvan, A.M.; Abad, M.J; Bermejo, P.; Sollhuber, M.; Villar, A. (1996a)). L'étude effectuée sur l'espèce *S. insularis* par De Logu et collaborateurs, a révélé un potentiel antiviral des huiles essentielles contre les virus type HSV-1 et HSV-2 in vitro, ainsi qu'un effet inhibiteur sur leur transmission cell-to-cell (De Logu, A.; Loy, G.; Pellerano, M.L.; Bonsignore, L.; Schivo, M.L. (2000)). Une autre étude réalisée sur les huiles essentielles de l'espèce *S. rosmarinifolia* L., par Loannou et collaborateurs, a révélé une activité antimicrobienne in vitro contre les souches de bactéries gram-positif et gram-négatif et aussi contre les fungus *Candida albicans* (Loannou, E. ; Poiata, A. ; Hancianu, M. ; Tzakou, O. (2007)). L'étude réalisée sur les huiles essentielles de l'espèce *S. corsica*, par Rossi et collaborateurs, a révélé aussi une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* (Rossi, P.G; Panighi, J.; Luciani, A.; de Rocca Serra, D.; Maury, J.; Gonny, M.; Muselli, A.; Bolla, J.M.; Berti, L. (2007)).

I.6. Etudes chimiques antérieures du genre *Santolina*

Une recherche bibliographique réalisée sur les espèces du genre *Santolina*, montre qu'elles ont fait l'objet de nombreuses investigations phytochimiques. Ce qui a permis d'isoler un grand nombre de substances connues pour leurs diverses activités biologiques, dont les plus majoritaires sont: des composés acycliques oxygénés, des eudesmanes (Ferrari, B.; Tomi, F. ; Casanova, J. (2005)). des germacrane type sesquiterpènes (Kisiel, W.; Dawid-Pač, R.; Grabarczyk, H. ; Nowak, G. (2003)). des flavonoïdes, des acétylènes

hétérocycliques, des dammaranes type triterpènes, spiroketalenols éther–type acétylènes et des coumarines (Ferrari , B.; Tomi , F. ; Casanova , J. (2005). Ces études ont montré aussi une présence importante des huiles essentielles (**Liu, K.; Rossi, P. G.; Ferrari, B.; Berti, L.; Casanova, J. ; Tomi, F. (2007)**). composés naturels, volatils et complexes, caractérisés par une forte odeur et formés par les plantes aromatiques comme métabolites secondaires. Elles comprennent deux groupes de différentes origines : le premier est le groupe des terpènes et terpénoïdes, l'autre est le groupe des composés aromatiques et aliphatiques de faibles masses moléculaires (**Lohmueller, F. A. (2006)**). Elles sont utilisées depuis longtemps comme bactéricide, virucide, fongicide, antiparasite, insecticide et aussi dans les applications médicinales et cosmétiques. Aujourd'hui, elles sont employées en industrie pharmaceutique, sanitaire, cosmétique et agricole (**Bakkali , F. ; Averbek, S. ; Averbek, D. ; Idaomar, M. (2008)**). Les espèces suivantes: *S. chamaecyparissus*, *S. oblongifolia*, *S. ligustica*, *S. rosmarinifolia* L. et *S. canescens* sont riches en huiles, par exemple les monoterpènes, les sesquiterpènes et les dérivés acétyléniques (**Liu, K.; Rossi, P. G.; Ferrari, B.; Berti, L.; Casanova, J. ; Tomi, F. (2007)**). Les études réalisées sur *S. rosmarinifolia* ssp. *rosmarinifolia*, objet de la présente étude, ont révélé la présence des composés acétyléniques dans les racines (**De Pascual, T. J.; Vicente, S.; Gonzalez, M. S. and Bellido, I. S. (1983)**) et les huiles essentielles dans les parties aériennes (**Kabissi, I. (1998)**).

Chapitre II

Métabolite secondaire

II. Métabolites secondaires :

On sait que les espèces végétales produisent plusieurs différents types de substances chimiques indispensables à leurs survie et leurs adaptation, ces substances dites métabolites sont classiquement partagées en deux grands groupes qui sont: les métabolites primaires et les métabolites secondaires. Les métabolites primaires sont le plus souvent des produits liés à la photosynthèse de la plante (sucres, acides aminés, protéines,...) et donc elles jouent un rôle dans la nutrition, la croissance, le développement, la structure cellulaire et d'autres activités de base (**hopkins 2003**), la production des métabolites primaires se fait en masse et donc elles sont produites en grandes quantités et on peut noter leurs présences dans toutes les cellules végétales (**raven et al 2000**). De l'autre côté on a les métabolites secondaires ces substances qui sont produites par le biais des métabolites primaires après des réactions chimiques ultérieure, ces métabolites possèdent un rôle encore inconnu dans la physiologie de la plante, mais des travaux et des recherches effectués ont mis au point le rôle que jouent ces substances dans la survie et l'adaptation de l'espèce végétale qui les produisent (**croteau et al 2000**). Contrairement aux métabolites primaires, les métabolites secondaires sont largement différentes sur le point structural et fonctionnel et spécifiques, et elles sont synthétiser dans différentes partie de la plante et cela revient au stade du développement, la localisation, puis elles s'accumulent dans des structures complexes en faibles quantités. (**zobel et brown 1990**). On note que l'utilisation humaine des métabolites secondaires est maintenant très répandue en plusieurs domaines tels que l'alimentation, la médecine, l'industrie pharmaceutique ou cosmétiques, et encore plusieurs autres domaines (**croteau et al 2000**).

II.1. Fonction des métabolites secondaires :

Beaucoup de métabolites se comportent comme des signaux chimiques que la plante utilise pour s'adapter aux changements défavorables de l'environnement (**Chadhary et al., 1985**). D'autres ont pour rôle la défense de la plante contre les herbivores, les pathogènes, les parasites ou l'inhibition de la germination et la croissance des plantes concurrentes (**Baskin et al. 1967 ; Hale et al. 2004**); et dans les relations entre les plantes et leur environnement: plusieurs composés phénoliques participent à la filtration des UV, les pigments floraux sont essentiels aux processus de pollinisation (**Bruneton, J., (1999)**).

II.2. Classification des métabolites secondaires :

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine **(Krief, 2003, Haven et al., 2000)**.

II.2.1. les composés phénoliques :

Dans la littérature il existe deux propositions pour définir les polyphénols. La première les définit comme étant une structure moléculaire qui porte plusieurs groupement phénoliques tandis que la deuxième indique la présence d'un groupement phénol polyhydroxylé). **(Buchanan et al., 2000)**.

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits **(Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006)**.

Ils ont largement distribués et comportant au moins 9000 structures connues différentes **(Bahorun, 1997)**. Ces corps jouent un rôle fondamental car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé. Une alimentation équilibrée fournit à l'Homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E **(Scalbert et al., 2005)**.

Elles sont caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. **(Bruneton, 1999 ; Lugasi et al., 2003)**.

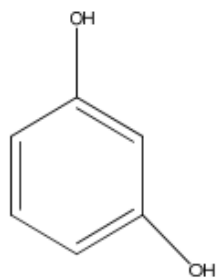


Figure 03 : Structure d'unité de base des polyphénols.

Selon Corona (2011) les polyphénols peuvent être répartis en deux classes majeures : les acides phénoliques et les non flavonoïdes :

- les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique)
- les non flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King et Young., 1999 ; Tapiero et al., 2002).

II.2.1.1. Les flavonoïdes :

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et d'autres parties de la plante (Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006). Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux qui peuvent participer dans les processus photosynthétiques (Mukohata et al., 1978), dans la régulation de gène et dans le métabolisme de croissance (Havsteen, 2002). Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus (Edenharder et Grünhage, 2003) et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phényle chromane (Yao et al., 2004)

-ce sont des souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Ghestem et al., 2001; Bruneton, 1999).

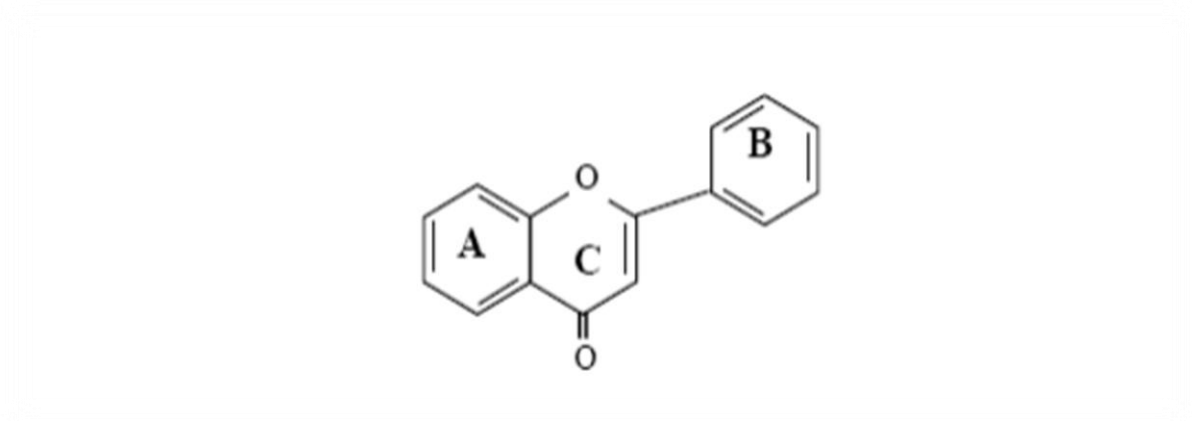


Figure 04 : Structure de base des flavonoïdes.

a. Propriétés des flavonoïdes :

De nos jours les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical ou on leur reconnaît des activités anti-oxydantes, anti-virales, anti-tumorales, anti inflammatoires, anti-allergiques et anti-cancéreuses (*Meddelton, E, Kardasmani1993*).

b. Classification des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et possèdent le même élément structural de base. Plusieurs classes de flavonoïdes ont été proposées selon le chemin biosynthétique (**Bruneton, 1999**).

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (*GUIGNARD, J. L., COSSON, L., HERY, M., 1985*).

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (**Yao et al., 2004 ; Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006**).

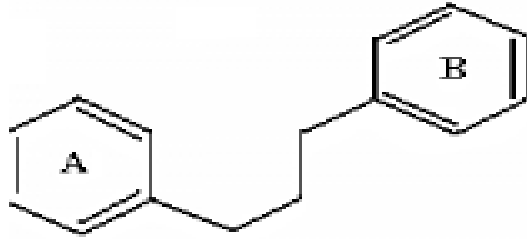
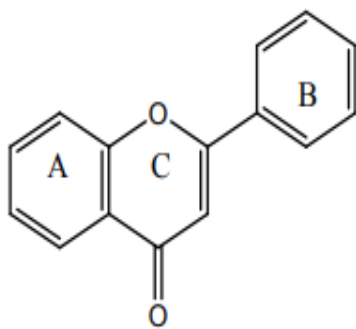
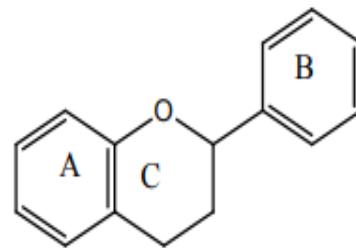


Figure 05 :Squelette de base des flavonoïdes

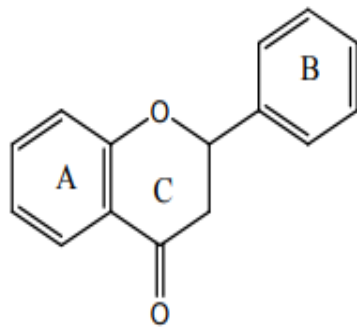
La chaîne en C3 formant un hétérocycle après condensation a noyau A. La structure chimique des flavonoïdes squelette C15 constitué par un noyau chromane et un noyau aromatique placé en position 2, 3 ou 4 (*GUIGNARD, J. L., COSSON, L., HERY, M.,1985*).



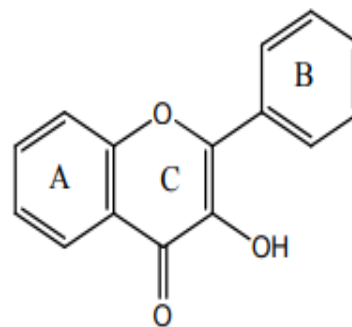
Flavone



Flavane



Flavanone



Flavonol

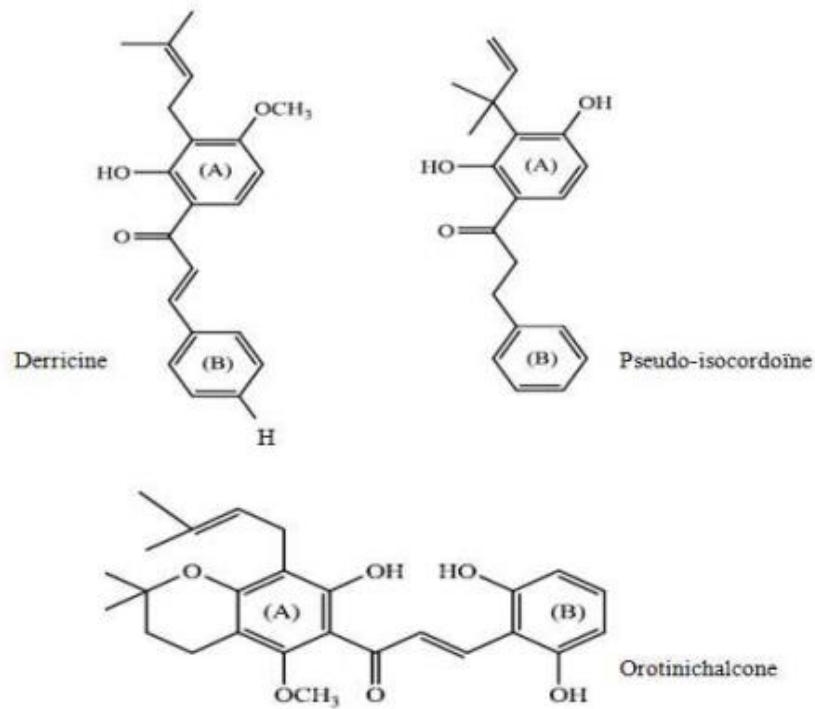


Figure 06 : Structure de quelques flavonoïdes.

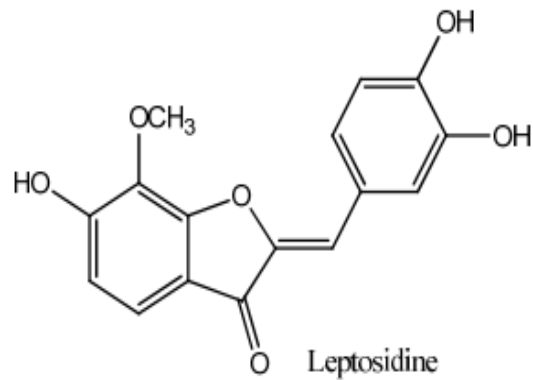


Figure 07 : Structure d'un aurone.

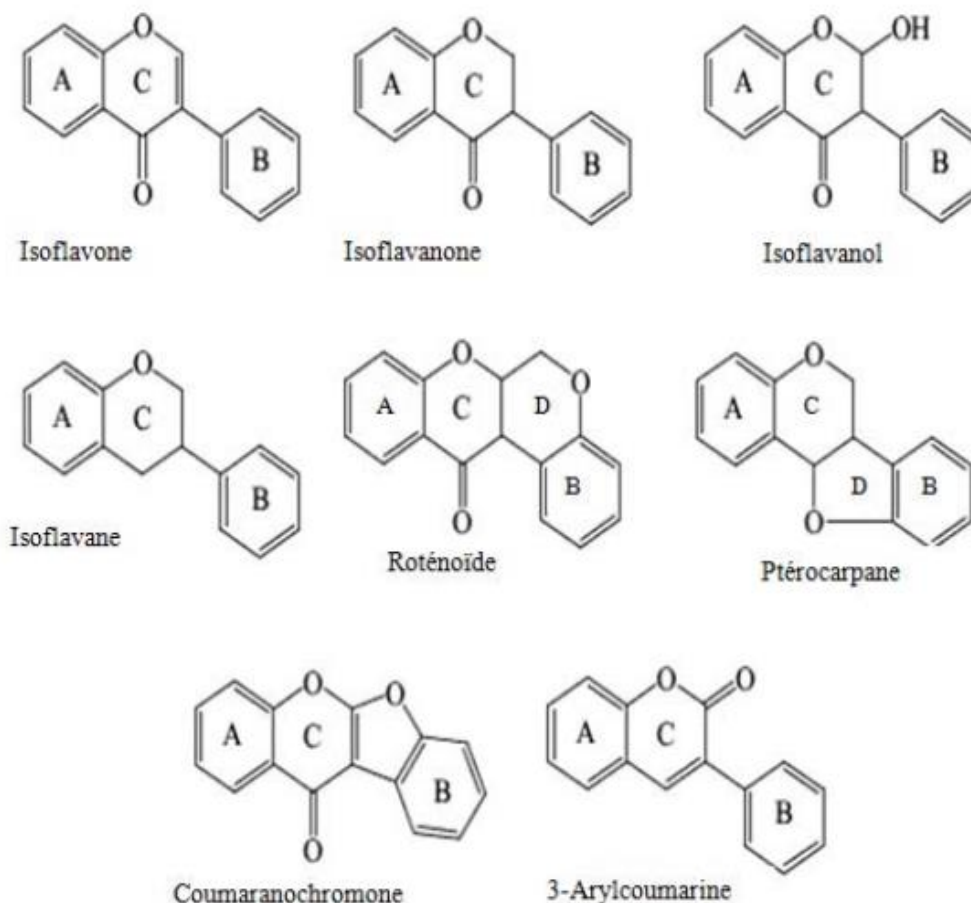


Figure 08 : Structure des isoflavonoïdes.

II.2.1.2. 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 (**Buchanan et al., 2000**).

Ce sont des dérivés glycosylés d'anthocyanidines. Il appartient à la famille des polyphénols (**Malien 2004**).

Il est à noter que les anthocyanes interviennent directement dans les interactions plantesanimaux et surtout dans l'attraction des pollinisateurs par la couleur des fleurs (**Buchanan et al., 2000**).

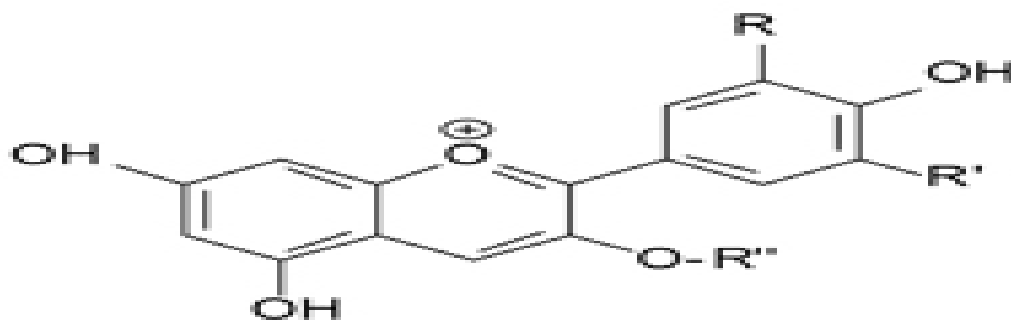


Figure 09 : Structure des anthocyanes

II.2.1.3. Les quinones

D'après bruneton en 2009 On peut décrire les quinones comme des cétones aromatiques qui sont le résultat de l'oxydation de diphenols, se sont des substances biologiquement actives vue qu'elles jouent le rôle d'antibiotique (antimicrobiennes), aussi elles sont des fongicides et des vermifuges. Parmi les quinones on peut citer la vitamine K1 qui est abondante dans le groupe des plantes tinctoriales comme la luzerne. Il y a aussi les anthraquinones qui agissent sur le colon et la résorption de l'eau ceci revient à la présence d'une base NaOH ou KOH, les quinones ont la caractéristique de donner une coloration rouge allant au violet. les quinones classé les quinones en quatre groupes (**Guignard 1995**) :

- Benzoquinones
- Naphtoquinones
- Anthraquinones
- Isoprenoides quinones

II.2.1.4.les anthraquinones :

L'antraquinone est une molécule dérivée de l'antracène, elle appartient aux hydrocarbures aromatiques polycycliques.

L'antraquinone existe dans les plantes, les champignons et les insectes. On peut la trouver dans les racines, tiges vertes et les graines.

L'antraquinone fait partie des quinones naturelles, c'est une substance oxygénée engendrée par l'oxydation des composés aromatiques (**Gérard Gomez., 2015**).

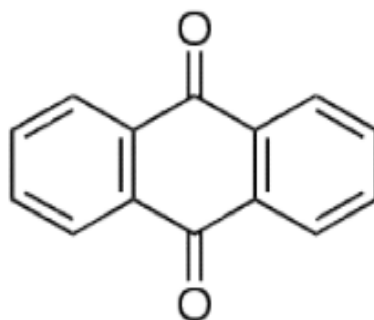


Figure 10 : Structure chimique des anthraquinones

II.2.1.5. Tanins :

Selon (mpiana,op,cit) parmi les composés polyphénoliques on peut distinguer les tanins qui sont des dérivés de l'acide shikimique, ces métabolite secondaires se composent des mélanges complexes d'esters et d'ethers de glucides, elles sont aussi hydrosolubles .

Ce sont des Substances ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible en se fixant sur les protéines.

Les tannins sont présents en une grande quantité chez les arbres, dans les écorces, les racines, les feuilles et les fruits. Ils sont placés dans les vacuoles de cellules.

Les tannins ont plusieurs activités biologiques. Des études ont montré que des nombreux tannins présentent des propriétés antiseptique et bactéricides, ils a la propriétés antioxydant et empêchent le développements de microbes (Biaye Mamadou., 2002).

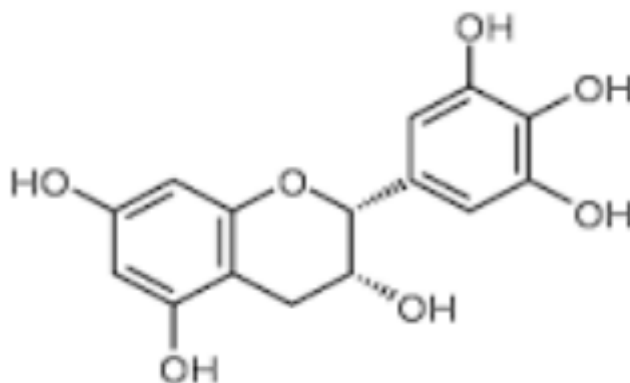


Figure 11: Structure des tanins

On distingue classiquement deux groupes de tanins selon leur structure aussi bien que par leur origine biogénétiques :

a. Tanins hydrolysables qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (**Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999**).

b. Tanins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères (**Bruneton, 1999**).

c. Propriétés pharmacologiques des tanins

- Par voie interne, leur application exerce un effet antidarrhéique et antiseptique.
- Par voie externe, les tanins imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses protégeant ainsi les couches sous-jacentes (Jean Yves Henry)
- Précipitant les protéines, les tanins exercent un effet antimicrobien et antifongique ;
- Étant des hémostatiques et précipitant les alcaloïdes, ils peuvent servir d'antidote en cas d'intoxication (**CRAMD.J., et al, 1968**).

II.3. Les terpènes :

Le terme terpène inventé par Kekulé, vient de leur origine historique de l'arbre de térébinthe : « Pistacia Terebinthus » (**Ayad, 2008**).

-Parmis les métabolites secondaires trouvés dans les feuilles, les tiges, les fleurs et les racines des plantes telles que les familles des conifères, labiées, lauracées, ombellifères... Etc on trouve les terpénoïdes ou isoprénoïdes qui sont le résultat de la condensation de 5 carbones isoprènes. Ces métabolites possèdent des structures, des propriétés et des activités biologiques très diverses, ce sont des substances de consistance huileuse plus ou moins fluides, elles sont volatiles avec une odeur forte, aussi les terpènes sont souvent colorés et plus légers que l'eau. On peut les trouver dans de nombreuses plantes mais seulement les familles indiquées avant

contiennent des quantités notables et en effet les plantes synthétisent plus de vingt deux milles dérivés isopreniques (Malecky Mostafa., 2008).

Le terme terpenoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (Malecky, 2005.Benaissa, 2011).

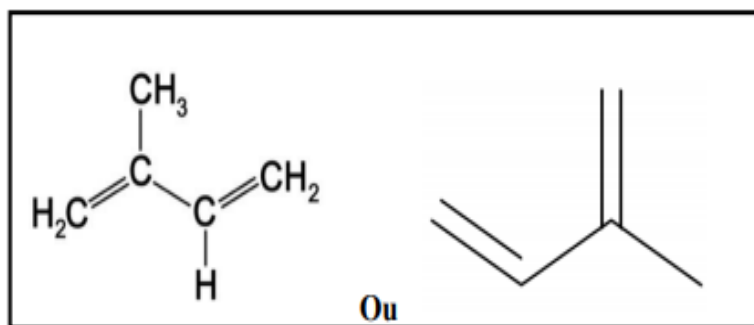


Figure 12: Structure de base de l'isoprène

on a classé les terpenoïdes selon le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène , en donnant des hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes (Mebarki, 2010).

II.3.1. Classification des terpenoïdes

La classification des terpenoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène en donnant des hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes (Mebarki, 2010).

II.4. Stéroïdes :

On trouve parmi les sous classe que regroupe les triterpenes des substances naturelles qui sont particulièrement abondante dans les végétaux et les animaux, ces substances appelés stéroïdes sont un ensemble de molécules dérivés du cholestérol ou de ses homologues possèdent un squelette qui comprend des radicaux méthyles et une chaîne .

II.5. Stérols :

Selon gaignaui 1997, les sterols font partie des des stéroïdes, ils forme un groupe d'alcools solides qui derivent des triterpenes. Les sterols comme les steroïdes se teouvent dans le végétale ainsi que l'animal vu qu'ils jouent un rôle important dans les membranes cellulaires.

La structure des stérols renferme un hydroxyle et une double liaison entre les atomes de carbones ainsi que d'autres liaisons comme des chaînes latérales, en général tout les stérols ont le même type de noyau mais ils diffèrent par les chaînes latérales.(figure 13)

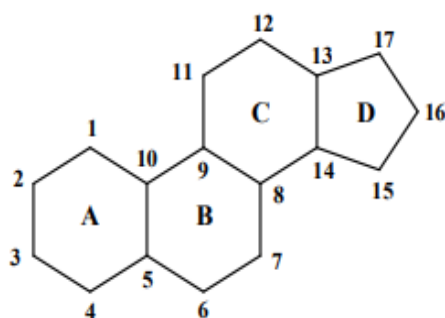


Figure13 : Noyau Stérol

Ils sont très répandus dans les règnes :

- **Végétal**, depuis les champignons inférieurs jusqu'aux plantes supérieures
- **Animal**, de la bactérie aux métazoaires (spongiaires, madrépores, vers, mollusques, insectes, reptiles, mammifères) les plus complexes
- **Minéral**, dans les sédiments d'origine organique bien qu'en fait provenant Initialement de végétaux ou d'animaux (**Adolf et al (1970)**).

II.6.Saponosides :

Parmi les substances très répandues dans la flore on trouve les saponines qui doivent leurs nom à leur solution aqueuse a mousse, sur le plan chimique ces substances sont des glucides avec une structure soit stéroïdienne, soit tri terpenique (**bruyant et al 1962**). Selon eberhard et al 2005, les saponines sont des glycosides trouvées dans de nombreuses plantes médicinales sous deux formes l'une d'elle (structure tri terpenoides) est similaire a celle de quelques hormones humaines œstrogènes. Elles facilitent l'absorption des éléments. Les saponines possèdent plusieurs activités biologiques, elles peuvent être antipyrétiques, antalgiques, immunomodulatrices, anti inflammatoires et anticoagulatoires aussi elles ont des propriétés tensioactives, c'est pourquoi elles sont utilisées dans de divers domaines tel que l'industrie, la pharmacologie et la cosmétologie (**lautrette 2004**)

II.7.Activités biologiques

II.7.1.Activité anti- inflammatoires :

II.7.1.1.L'inflammation :

L'inflammation est un processus physiologique complexe de défense utilisée par l'organisme, après une agression étrangère, vasculaire et tissulaire, vis à éliminé ou isolé l'agresseur et maintenir l'intégrité des tissus infectés (**Sarkhel, 2015**) .Il permet la mise en place d'une réponse immunitaire, pour éliminer les corps étrangers et réparer les tissus lésés, cette réaction est caractérisée par des symptômes pénibles décrits comme rougeur, chaleur, douleur et gonflement. La réaction inflammatoire est déclenchée par la libération des médiateurs chimiques des tissus et des cellules blessées (**Henrotin et al., 2001, Kuby, 2003**).

Deux stades de l'inflammation existent, l'inflammation aiguë et chronique. L'inflammation aiguë est une étape initiale de l'inflammation (de l'immunité innée), qui est médiée par l'activation du système immunitaire. Ce type d'inflammation persiste seulement pendant un court laps de temps et est généralement bénéfique pour l'hôte. Si l'inflammation dure pendant une longue période, la deuxième étape de l'inflammation ou inflammation chronique s'installe dans l'hôte et peut prédisposer à diverses maladies chroniques, y compris le cancer (**Lin and Karin, 2007**).

En algérie,la phytothérapie est utilisé depuis toujours dans la secteur se la médecine traditionnelle.aujourd'hui les plantes jouent encore un rôle très important dans la traditions thérapeutique et la vie des habitats, mais les règles de leur utilisation manquent parfois de rigueur et ne tiennent pas compte des nouvelles exigences de la thérapeutique moderne.ces dernière années, beaucoup de recherche se sont orienté vers la valorisation de la médecine traditionnelle en vue de vérifier la sureté et l'efficacité des plantes utilisées d'établir des règles scientifiques pour l'usage de ces plantes.

L'activité anti-inflammatoire :

La thérapeutique anti-inflammatoire est généralement menée par des molécules de synthèses du type anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien (corticoïdes), ce sont des médicaments largement utilisés mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le système rénal et digestif (irritations digestives pouvant aller jusqu'à l'ulcération gastrique) (**Das, 2011**).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments à propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Ils présentent une grande hétérogénéité chimique mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme cyclooxygénase (COX) (**Ortega et al., 2014**).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes se sont des dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tel que l'arthrite rhumatoïde et les maladies auto-immune (**Kessel et al, 2014**).

Les mastocytes sont des cellules qui participent aux réactions allergiques et à l'inflammation en sécrétant des médiateurs inflammatoires comme l'histamine et les cytokines pro-inflammatoires. L'action pharmacologique des flavonoïdes suggère qu'ils pourraient présenter un intérêt dans le traitement des allergies en régulant ces mastocytes. De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (**Medina et al., 2009 ; Soro et al., 2015**).

Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes. La quercétine a un effet anti-inflammatoire en inhibant quelques enzymes de synthèse tel que la cyclooxygénase (**Gonzalez et al, 2007**). Une étude portant sur l'astragaline, la fisetine, le kaempferol, la myricétine, la quercétine et la rutine, sur les réactions inflammatoires allergiques induites par les mastocytes a permis de constater que toutes ces molécules, hormis l'astragaline, inhibaient la sécrétion de l'histamine (Park et al., 2008). De même, dans la famille des stilbènes, le resvératrol a montré des propriétés anti-inflammatoires in vivo et in vitro (**Renaud, 2011**).

II.7.2.L'activité de la toxicité :

La toxicité se définit comme l'ensemble des effets néfastes qui peuvent être des lésions morphologiques et fonctionnelles dans un organisme vivant, provoquées par une substance introduite à dose unique relativement élevée ou à des petites doses longtemps répétées (**Hodgson, 2004**).

L'étude de la toxicité d'une substance est l'ensemble des essais pharmacologiques, qui déterminent le degré ou le caractère nocif de cette dernière afin de réglementer son utilisation. L'action d'une substance toxique est évaluée en fonction de plusieurs paramètres entre autres son mode d'administration (voie orale, intraveineuse, intra péritonéale), la dose administrée,

le taux de mortalité observée, l'évolution pondérale, l'histologie de certains organes, la modification de certains paramètres biochimiques du sang appelés marqueurs de toxicité tels que les transaminases (ALAT, ASAT), la bilirubine, la créatinine, l'urée (**Serrano, 1990**). Les plantes sont une source précieuse de produits naturels, car moins toxiques et près de 80 % des personnes dans les pays en développement s'en servent, pour se soigner. Ces plantes médicinales peuvent donc constituer des ressources importantes pour de nouvelles substances à potentiel thérapeutique et à coûts onéreux (**Farnsworth, 1989**).

Chapitre III

Matériel et méthodes

III.1. Matériel végétal:

Notre choix a porté sur l'étude phytochimique et biologique de l'espèce *Santolina rosmarinifolia* L. appartenant à la famille des Asteraceae. Les parties utilisées de la plante sont les racines, tiges, feuilles et fleurs.

La récolte a été faite d'une manière aléatoire en fonction de la période de maturation de la plante et précisément durant le mois de juin 2018 sur les monts de Ouled Rahmoun, commune d'El Khroub.

III.2. Conservation et broyage :

Le matériel végétal de *S. rosmarinifolia* L. séché à l'ombre dans un endroit bien aéré à l'air libre et à l'abri de la lumière et à température ambiante. Après séchage, les parties aériennes (feuilles, racines, tiges, fleurs) sont broyées sous forme d'une poudre fine (Figure :14). qui a servi pour la préparation des extraits jusqu'à leurs utilisations phytochimiques et biologiques.

a :Feuilles



b :Tiges





C : Racines



D : Fleurs

Figure 14: Matériel végétal des organes de *S. rosmarinifolia* L.

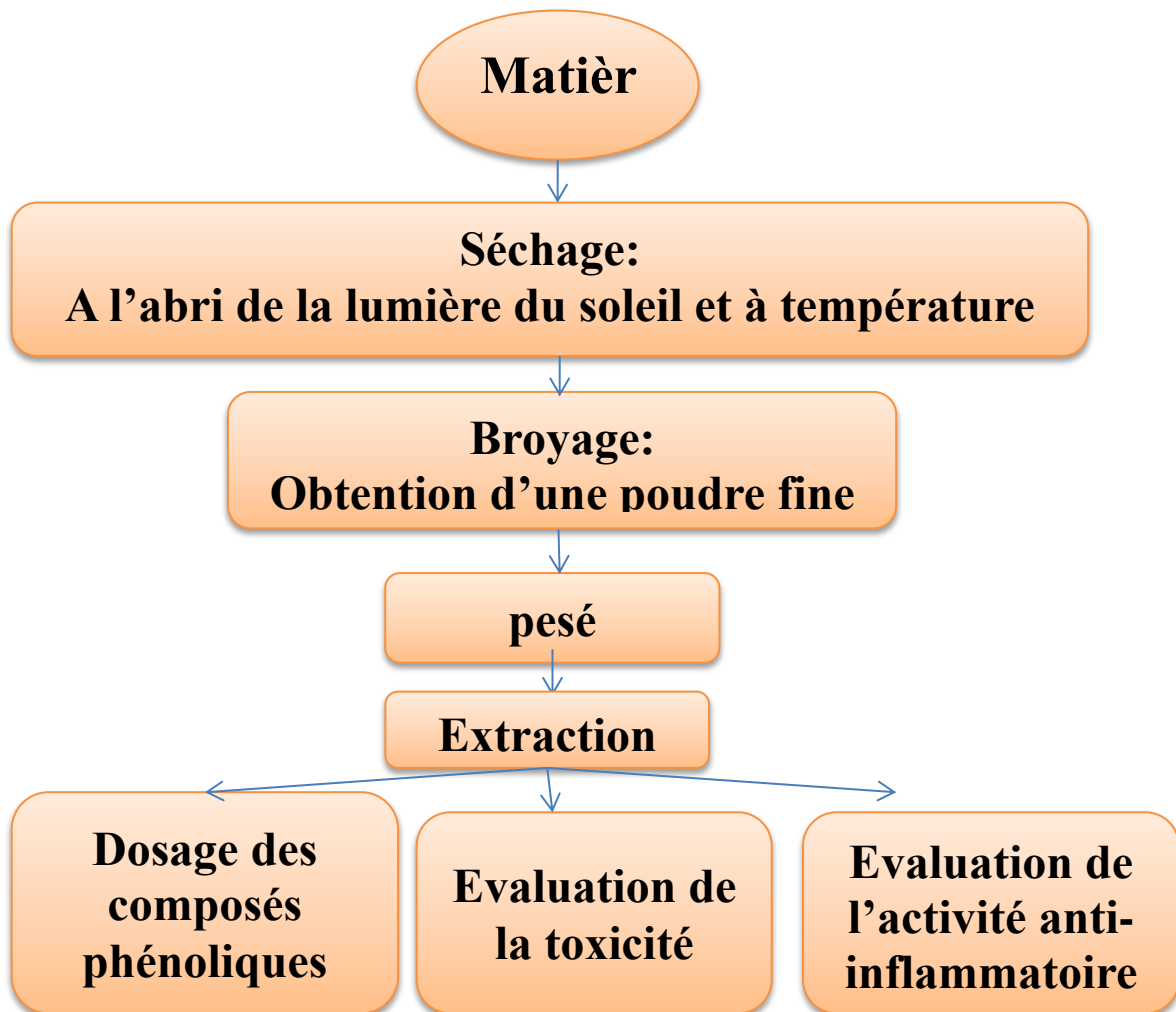


Figure 15: Schéma illustrant les étapes expérimentales réalisées dans cette étude.

III.3. Extraction et macération des métabolites secondaires :

La macération est une opération qui se fait en plongeant directement la poudre du matériel végétal dans un solvant. Ces dernières sont en général laissées en suspension pendant un certain temps qui peut aller de quelques heures à quelques jours pour l'extraction des principaux actifs.

La poudre végétale de chaque organe de l'espèce *S. rosmarinifolia* L. sont macérées avec des solvants à différente polarité (méthanol , chloroforme est éthere de pétrole.....). Les solutions méthanoliques, chloroformiques et étheriques sont filtrées et concentrées à secs sous pression réduite dans un Rota-vapor de marque Buchi (**figure 18**).les extraits secs obtenus sont conservés jusqu'à leur utilisation.



Figure 16 :Les extraits Chloroformique préparés



Figure 17 : Les extraits étherique préparés

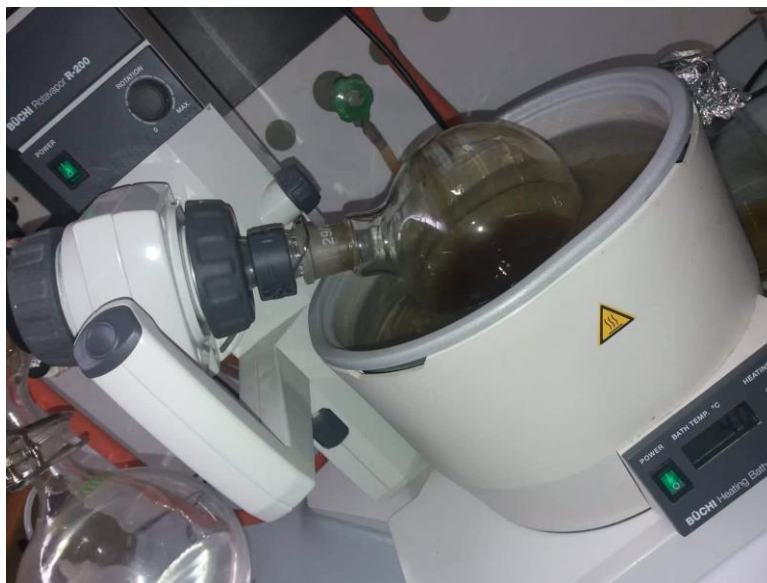


Figure 18 : évaporateur rotatif

III.4. Les tests phytochimiques :

Notre étude est portée sur la recherche des principaux groupes chimiques existants dans la plante tels que les tanins, flavonoïdes, saponines , terpènes, quinones et les anthraquinones par des réactions de précipitations et de colorations déterminées.

III.4.1. Criblages des composés phénoliques :

III.4.1.1. Criblage des quinones

Un gramme de matériel végétal sec et broyé est placé dans un tube avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 heures. La présence de quinones libre est confirmée par l'ajout de quelque goutte de NaOH 10%, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet. (Ribérreau, 1968).

III.4.1.2. Criblage des anthraquinones :

A l'extrait chloroformique de chacun des organes, on ajoute du KOH aqueux 10%. Après agitation, la présence d'anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge. (Ribérreau, 1968).

III.4.1.3. Criblage des flavonoïdes :

Se réalise à partir de 10 ml d'extrait hydrométhanolique repartit dans 3 tubes, le premier tube servant de témoin, les deux autres tubes servant pour les deux tests (test de Wilstater et test de Batesmith) :

Test de Wilstater : HCl concentré + trois ou quatre tournures de Mg. Le changement de coloration est observé. (Karumi, 2004).

Test de Batesmith : additionner dans le troisième tube quelques gouttes d' Hcl concentré porté au bain marie trente minutes. L'apparition d'une coloration rouge dénoté la présence de leucoantocyanes.

III.4.1.4. Criblage des anthocyanes :

Ce test repose sur le changement de la couleur du filtrat à 10% avec le changement du pH. On ajoute au filtrat quelques gouttes de HCl pur. On a changement de la couleur. On ajoute quelques gouttes de NH₄OH, le changement de la couleur une deuxième fois indique la présence des anthocyanes.

III.4.1.6. Criblage des Tanins :

100 mg d'extrait hydrométhanolique sont dissout dans 25 ml d'eau distillée chaude puis additionné de trois à quatre gouttes de NaCl 10%. La solution ainsi obtenue est filtrée. Le filtrat est ensuite repartit dans quatre tubes à ainsi, le 4ème tube servant de témoin :

- **Tube n°1** : addition de quatre à cinq gouttes de gélatine à 1%.
- **Tube n°2** : addition de quatre à cinq gouttes de gélatine salée (gélatine 1% + NaCl 10%)

L'apparition d'une précipitation par la gélatine salée signifie la présence de Tanins.

- **Tube n°3** : addition de quatre à cinq gouttes de FeCl₃ en solution hydrométhanolique.

La couleur vire au bleu noirs en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchique (*Rizk, 1982*).

III.4.1.7. Criblage de Saponisides :

Pour identifier rapidement un orange à saponosides, il suffit de mettre en évidence leur pouvoir aphrogène en observant la mousse très fine qui se forme après une simple agitation énergique (pendant 15 secondes) de cette poudre en présence d'eau distillé et sa persistance aumoins 10 min.

Mode opératoire

On pèse 2 g du matériel végétal de chaque partie de la plante (feuilles, tiges, graines) et L'introduit dans des tubes avec 10 ml d'eau distillée puis en chauffe l'extrait au bain marie à 85°C pendant 30 min. après on agite vigoureusement chaque tube, en position horizontale pendant 15 secondes environ et on abandonne le tube dans son portoir, après 10 min au repos on compare les hauteurs des mousses. (*Vigor claire et al, 2010*).

III.4.1.8. Criblage des Stérols, stéroïdes et triterpènes :

Dépigmenter 100 mg d'extrait hydrométhanolique par addition de 10 ml de cyclohexane et agitation pendant 5 min. dissoudre le résidu dépigmenté dans 10 ml de Chloroforme.

Sécher la solution obtenue sur Na₂SO₄ Anhydre, puis filtrer. Répartir le filtrat dans quatre tubes àessais et le 4ème tube servira de témoin.

Tube n°1 : test de Salkowski : incliner le tube à 45°, ajouter 1 à 2 ml de H₂SO₄. Le changement de la coloration est noté immédiatement. Agiter le mélange légèrement et noter le changement graduel de coloration : une coloration rouge indique la présence des Stérols insaturés.

Tube n°2 : test de Libermann-Burschard : additionner trois gouttes d'Anhydride acétique puis

agiter légèrement. Ajouter une goutte de Na_2SO_4 concentré. Le changement de la coloration est observé pendant un hour : une coloration bleu-vert indique la présence des Stéroïdes tandis que rouge-violet à rose dénote la présence de triterpène.

Tube n°3 : test de Badjet-Kedde : additionner quelques grains d'Acide picrique. L'apparition d'une coloration orange est due aux stéroïdes lactoniques. (*Bruneton, 1993*).

III.5. Dosage des polyphénols totaux :

Principe :

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant le reactif Folin-Ciocalteu de couleur jaune., dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 760 nm. En réagissant avec le réactif du folin-ciocalteu les composés phénoliques reducteurs sont responsable du changement de couleur vers le bleu qui est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

Mode opératoire :

A partir de la solution mère (1 mg/ml) des extraits méthanoliques de la plante *S. rosmarinifolia* L. Nous avons préparé deux répétitions d'une même concentration (125 μl) avec la méthode suivante :

Une prise de 125 μL de l'extrait dilué (SM) est mélangée avec 500 μL d'eau distillée et 125 μL de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 minutes, une prise de 1250 μL de Na_2CO_3 de 2 à 7% est additionnée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml.

Après un repos de 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm.

La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique a des concentrations variables de 50, 100, 200, 300, 400, 500 mg.l-1. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg/EAG.g-1 MS),(*Singleton et al, 1999 ; Heilerová et al, 2003*).



Figure 19 : Spéctrophotomètre UV utilisé pour la lecture de l'absorbance

III.6. Activités biologiques :

III.6.1. Evaluation de la toxicité :

L'objectif de cette étude est de montrer l'effet thérapeutique potentiel de l'extrait de la plante de *S. rosmarinifolia* L. sur la réponse immunitaire des souris.

Pour la détermination de la toxicité aiguë, le protocole expérimental utilisé est celui décrit par Rasekh et al., (2008). Les souris ont été réparties au hasard en trois lots de mâles et femelles. Les souris ont été réparties selon l'homogénéité de leur poids. Un lot est utilisé comme témoin et les autres lots sont traités chacun par une dose unique de l'extrait méthanolique de la plante *S. rosmarinifolia* L. L'essai a été réalisé sur 6 souris et leur comportement a été observé ainsi que le nombre de décès sur une période de 14 jours.

Après 48 h de jeûne, elles ont été réparties de la façon suivante :

- **lot témoin** : constitué des souris recevant de l'eau distillée, à raison de 10ml/kg
- **lot expérimental** : constitué de 3 souris recevant l'extrait, à raison de différents doses 278µl, 294µl, 270µl.

L'introduction des toxines dans le corps des sujets est réalisée sur des souris conscientes par gavage oral à l'aide d'une sonde rigide. La technique repose sur le principe suivant: bien tenir les souris pour qu'il ne bouge pas lors de l'administration, puis lui faire avaler la sonde. Une fois le bout de la sonde arrive à son estomac, la substance est injectée doucement. Les doses administrées sont 278µl ;294µl ;270µl de poids corporel de souris respectivement

aux 2 lots de 3 . L'extrait a été repris avec de l'eau à un volume constant de 10 ml de solution par kilogramme de poids corporel de souris.

Une observation comportementale a été réalisée 3 h après l'introduction de la toxine. Ensuite une hydratation et une alimentation ont été effectuées de façon quotidienne pendant 14 jours. Pendant cette période, les signes de toxicité notamment la modification du pelage, la mortalité, les tremblements, la masse, le toilettage, la respiration, la sensibilité au bruit après un choc métallique, l'aspect des selles, la mobilité ainsi que le décès ont seront notés.

III.6.2.Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

L'objectif du travail était d'étudier l'effet anti-inflammatoire de l'extrait méthanoïque de la plante *S.rosmarinofilia* L. afin de valoriser son utilisation en médecine traditionnelle. La dose de 22.2 µl de l'extrait méthanolique de la plante réduit le volume de l'œdème significativement par rapport au diclofénac de (85% et 95%) respectivement.

Animaux :

L'étude a été menée sur des rats adultes de souche wistar albinos de poids variant entre 140 et 200 mg. Les animaux ont été entretenus dans des cages individuelles en polypropylène (un polymère thermoplastique semi cristallin) et marqués a fin de différencier entre les lots, l'entretien a duré une période de 2 semaines avant d'entamer l'essai, cette période a pour but de donner aux sujet le temps de s'adapter a leurs nouvel environnement qui est d'une température 18- 25 °C, éclairé et aéré, ils ont aussi un accès libre a la nourriture et à l'eau.

Réactifs :

Solution de formol a 1%, Sérum physiologique, extrait méthanolique des parties aériennes de la plante *S. rosmainofolia* L, déclofinac comme anti-inflammatoire de référence.

Méthode :

Pour étudier l'activité de la plante après une inflammation aigue, un œdème local provoqué par le formol dans les pattes des rats (**winter et al, 1962**).

L'œdème est provoqué par l'injection dans l'aponévrose de la plante du pied d'une solution de formol a 1% (**Sen et nag, 1991**). Selon laquelle l'inflammation est induite par l'injection de formol au niveau de la voute plantaire de la patte gauche du rat. L'œdème causé par cet agent phlogogène sera traduit en volume et mesuré manuellement ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire.

Pour chaque essai de l'activité anti inflammatoire, trois lot de 4 rats on été utilisé.ces rats ont été mises a jeûne 24 heures avant l'essai

- **Lot témoin** : avaient reçu respectivement l'eau physiologique (0.9%) par voie intra-péritonéale (ip) ;30 min avant l'injection de formole (25ml/kg ;1%) dans la voute plantaire de la patte a gauche du rat.
- **Lot référence** : les rats de ce lot ont été traités par voie (ip) avec un anti-inflammatoire utilisé en thérapeutique (diclofénac) ; 30mn avant l'injection de la formole. L'administration de l'anti-inflammatoire se fait a raison de 40ul/rats.
- **Lot essai** : l'extrait a tester est administré aux rats par vois (ip) a raison de 222.22ul/rats ; 30 min avant l'injection de formole.

Le suivi de l'évolution de l'œdème se fait par mesure des deux pattes : patte traitée p(t)et une patte non traitée p(nt) et ceci a 0.30.60.120.180 min après l'injection du formole.

L'activité anti-inflammatoire des produits testé et son évolution on été estimées par la détermination des pourcentages moyens d'inhibition de l'oedème, calculés suivant la formule.

$$\%d'inhibition = \frac{(vt-v0)_{\text{témoin}} - (vt-v0)_{\text{traité}}}{(vt-v0)_{\text{témoin}}} \times 100$$

- **V0** : représente le volume de la patte a t=(avant injection du formol).
- **Vt** : représente le volume de la patte a un temps t quelconque.



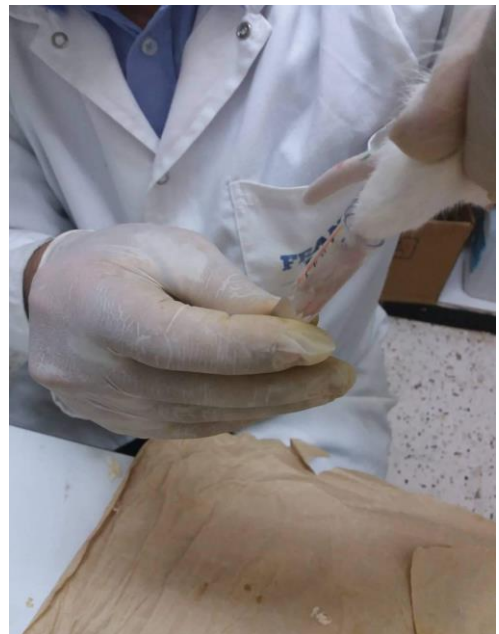
Figure 20 :injection de l'extrait



Figure 21 :injection de formol



Figure 22 : Mesure du volume de l'œdème



Chapitre IV :

Résultats et discussion

IV .Les tests phytochimique :

Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits de la plante *Santolina rosmarinifolia* L. ont permis de détecter différentes familles de composés phénoliques, terpènes ,steroides.

IV .1. Criblage des Quinones et Anthraquinones :

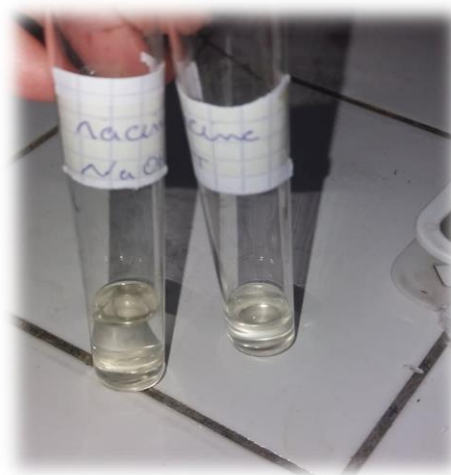
Les tests de détection phytochimiques, des quinones et anthraquinones ont révélé que seul les fleurs et les tiges de la plante *S. rosmarinifolia*. L contiennent des anthraquinones à quantités minimales.

Tableau01 : Résultats de mise en évidence des quinones et des anthraquinones

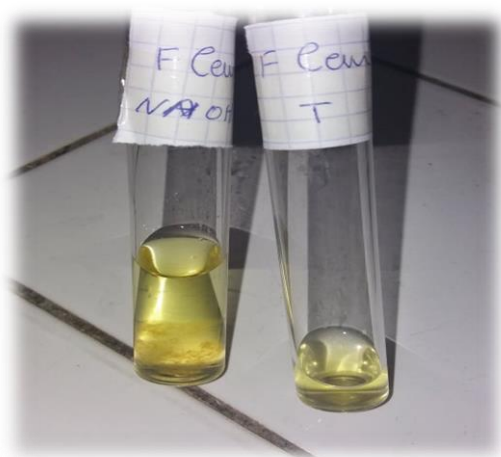
	Feuilles	Tiges	Fleurs	Racines
Quinones	-	-	-	-
Anthraquinones	-	+	++	-



a :feuille



b :racine



c :fleur



d :tige

Figure 23 :Résultats de criblage des quinones



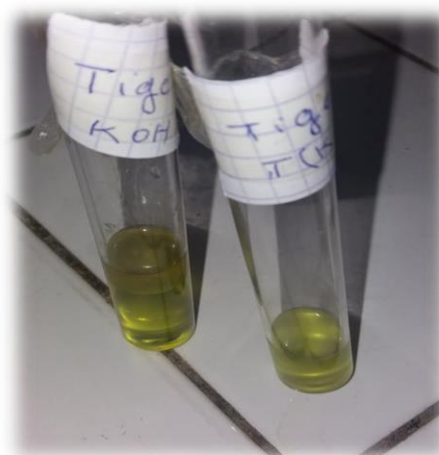
a :Feuille



b :racine



c :fleurs



d :tiges

Figure 24 :Résultats de criblage des antraquinones

IV .2. Criblage des flavonoïdes et des anthocyanes :

Par rapport à nos résultats, on constate que l'apparition d'une couleur rouge intense en contact avec le reactif spécifique (HCl conc.) en présence de magnésium indique une forte abondance des flavonoïdes dans tous les organes étudiés (feuilles,tiges ,fleurs) sauf au niveau des racines. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés dans la littérature, et qui montre que les parties ariennes de *S.rosmarinifolia* L renferme des flavones (Apigénine), flavonols (Quercétines, kaempférol et huteoline) (Chibani *et al.*, 2012).

Concernant les anthocyanes, nos résultats indiquent une absence totale de ces métabolites secondaires, au niveau de chaque organe de la plante.

Tableau02 : résultats de mise en évidence des flavonoïdes et des anthocyanes

Tests	Feuilles	Tiges	racines	Fleurs
Flavonoïdes	+++	+	-	+
Antocyanes	-	-	-	-



a :fleurs



b :racines



c : feuilles



d : tiges

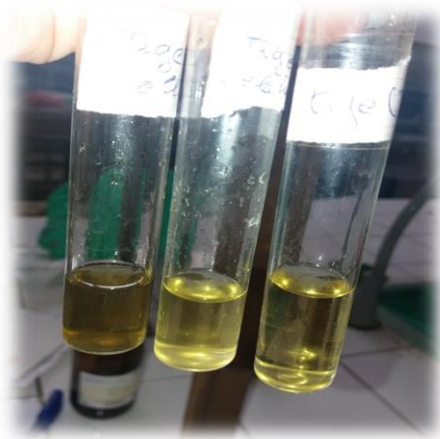
Figure 25 : Résultats de criblage des flavonoides

IV.2.Criblage des tanins :

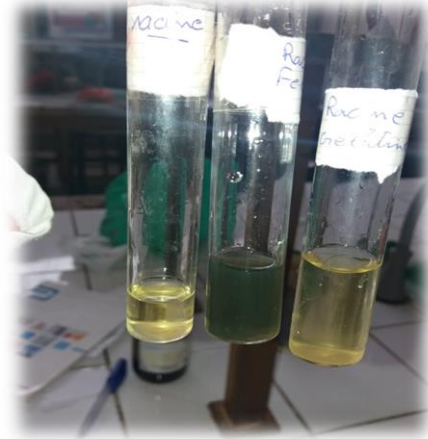
La présence des tanins est confirmée par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration bleu verdâtre au niveau de chaque organe de *S.rosmarinifolia* L. Ce qui suggère qu'il s'agit des tanins catéchiques dans tous les organes de la plante. Benbrinis et coll.ont signalé la présence de tanins dans une plante du meme genre *S.chamaecyparissus*.

Tableau03 : Résultats de mise en évidence tanins

	Feuilles	Tiges	Racines	Fleurs
Tanins	++	+	++	+++



a : tiges



b: racines



C : feuilles



d : fleurs

Figure 26 : Résultats de criblage des tanins

IV.4. Criblage des saponosides :

L'apparition d'une mousse persistante durant 30 minutes témoigne la présence de saponosides dans les fleurs, racines et tiges avec une faible concentration. Mais dans les extraits des feuilles on ne constate aucune réaction.

Tableau04 : Résultats de mise en évidence des saponosides

	Feuilles	Tiges	Fleurs	Racines
Saponoside	-	+	+	+



Figure 27 : Résultats de criblage des saponisides

IV.5. Criblage de Stérols, stéroïdes et triterpènes :

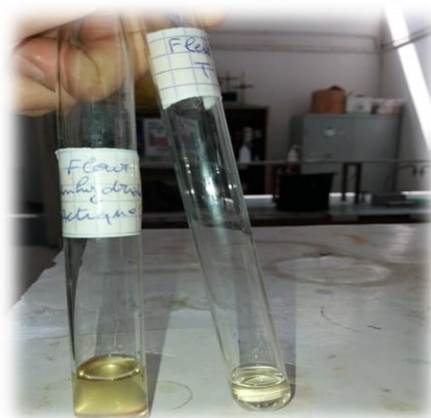
L'investigation phytochimique des stérols, stéroïdes et triterpènes a révélé que la plante *S. rosmarinifolia* L. est faiblement riches en stérols et triterpènes.

Tableau05 : résultats de mise en évidence de Stérols, stéroïdes et triterpènes

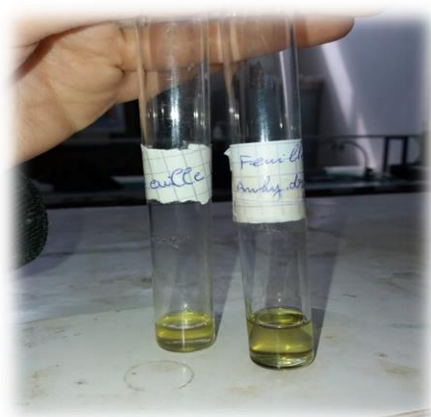
Tests	Feuilles	Tiges	Racines	Fleurs
Stéroïdes	-	-	-	-
Triterpènes	+	+	+	+
Stérols	+	+	+	+



a :tiges



b :fleurs



c :feuilles



d :racines

Figure 28 : Résultat de criblage de triterpène





c :tiges

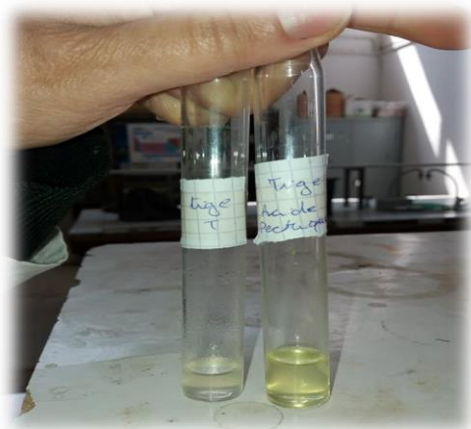


d :racines

Figure 29: résultat de criblage de stérol



a :fleurs



b :tiges



c :racines



d :feuilles

Figure 30 : Résultats de criblage de stéroïde

VI.6 Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué sur l'extrait hydro-méthanolique de *S.rosmirinifolia* L. selon la méthode spectrophotométrique adaptée de **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Le pourcentage des composés polyphénoliques est calculé selon la formule suivante : $Y = 0.002x + 0.022$: Le taux des polyphénols totaux de *S.rosmirinifolia* L. est évalué à $264,25 \pm 6,71$ mg/g EAG g/MS.

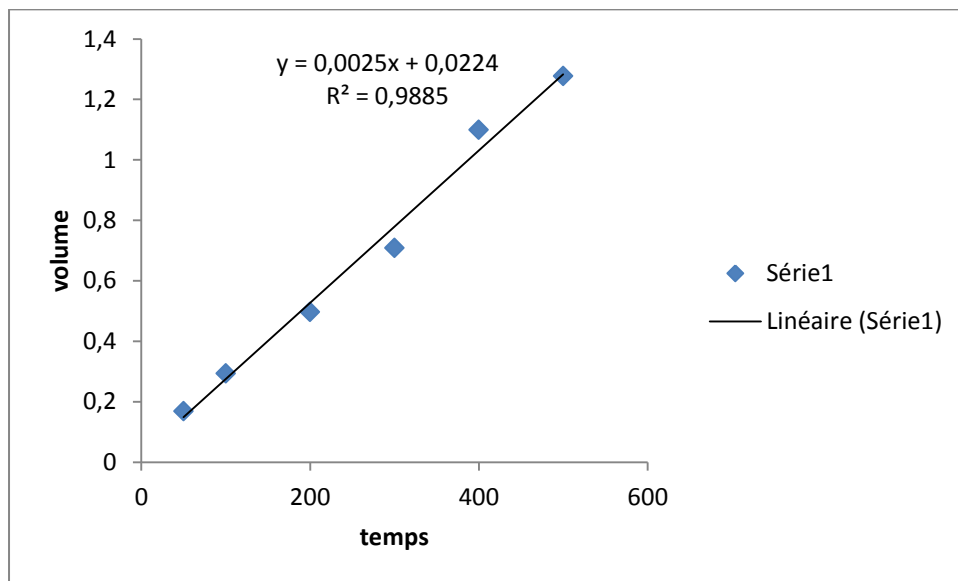


Figure 31: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

IV.7. Évaluation des activités biologiques :

IV.7.1. Evaluation de la toxicité :

Après l'administration de l'extrait aqueux de *S. rosmarinifolia* L. avec différentes doses par voie orale à des souris. Aucun mort n'a été signalé pendant l'expérience, Au niveau du comportement général, les souris sont calmes, présentant une diminution de la vivacité et de l'appétit comparativement aux témoins. les signes sont présentés dans le **tableau 06** :

Tableau 06: Effet de l'extrait de *S. rosmarinifolia* L. sur les souris.

Dose (ul)	Souris	Temps (min,h)	symptômes de la toxicité
278	01	10min,30min	faiblesse, picotement perte d'équilibre
		>1h	respiration normal, appétit ouverte, vivacité
294	02	> 10min,30min	respiration laborieuse, redressement de poils Respiration laborieuse, faiblesse, perte d'équilibre,
		>1h	Tremblement du corps, picotement, vivacité, respiration normal
270	03	>10min,30min	Redressement des poils, faiblesse, respiration laborieuse, picotement, sommolence, trouble de mouvement, perte d'équilibre
		>1h	respiration normal, vivacité

(min) : Minute

(h) : Heure

Résultats et discussions

A partir de la dose 278ul et à 10min d'injection, les signes de toxicités commencent à apparaître chez la première souris. La souris a montrée une perte d'équilibre, faiblesse, picotement etc.... (figure 32).

La dose de 270 ul, les signes ont augmenté chez la deuxième souris durant la même période. Cette souris, a montré des signes de faiblesse associé a l'isolement individuel. Son mouvement est diminué et la respiration devient très rapide.

Dés la dose 294 ul, les signes de toxicité sont les mêmes chez la troisième souris, après 1 heure de temps les 3 souris retournent à leur état normal. Ces symptômes très normal montrent que l'extrait n'a pas d'effet toxique. L'état normal de l'extrait EMSR n'a pas d'effet toxique sur les animaux.



a : somnolence et fatigue



b : isolement

Figure 32: les signes da la toxicité appartenant sur les souris

IV.7.2 Évaluation de l'activité anti-inflammatoire :

L'étude a été conçue pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *S. rosmarinifolia*. L'expérience a été réalisée sur le modèle de l'œdème de la patte du rat induit par le formol à 1%. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux d'un médicament le diclofénac qui est un anti-inflammatoire non stéroïdien et à ceux du contrôle physiologique. Après l'injection de l'eau physiologique, le formol entraîne une augmentation du volume de la patte des rats, à 180 min de l'œdème atteint son volume maximal. L'injection de diclofénac (10 mg/kg voie ip) prévient de façon significative l'augmentation du volume de la patte des rats.

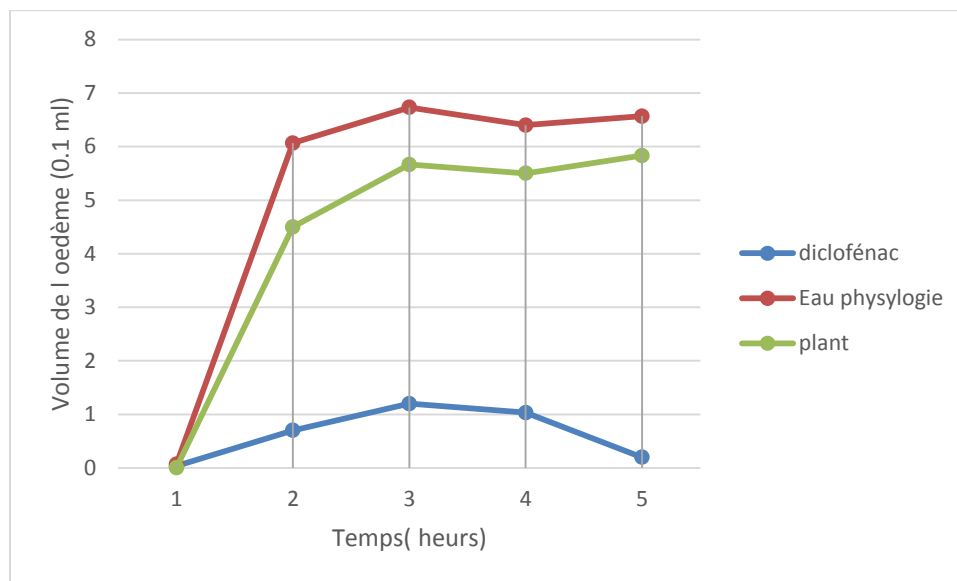


Figure 33 : Evolution de l'œdème en présence d'un prétraitement par voie intra- péritonéale de, après l'injection de le formol (0,04 ml; 5%), Chaque point représente une moyenne de 6 rats

Les résultats obtenus à l'issue le test anti-inflammatoire montre que l'extrait de *S. rosmarinifolia* L réduisent de façon appréciable l'œdème par le formol. L'inhibition de l'œdème de l'extrait aqueux de la plante est comparable, à celle de diclofénac. L'effet anti-inflammatoire de cette extrait est dus à la richesse de la plante en composés phénoliques.

Conclusion

Conclusion :

Le présent travail de phytochimie est destiné à étudier les métabolites secondaires de la plante *Santolina rosmarinifolia* L. De nombreux chercheurs ont été intéressés par les composés biologiquement actifs isolés des extraits de la plante. Cette plante contient un grand nombre de métabolites secondaires, elle est riche en Flavonoïdes, Tanins, Saponosides, Antraquinones, Stérols et Triterpènes dans les organes étudiés (tiges, racines, fleurs, feuilles) de la plante. La présence de ces composants est due à leur rôle écologique important dans l'environnement de la plante, ce sont des produits considérés comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux.

Le dosage de polyphénols totaux a révélé que *S. rosmarinifolia* L est riche en polyphénols ($264,25 \pm 6,71$ mg/g EAG g/MS) tels que les flavonoides, antocyanes, tanins et antraquinones détectés lors des tests phytochimiques.

L'évaluation de la toxicité de l'extrait de *S. rosmarinifolia* L. montre que cette plante possède un pouvoir pharmacologique, ce qui supporte son usage traditionnel

L'effet anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de *Santolina rosmarinifolia*.L a été évalué selon l'injection par voie intra-péritonéale, en effet, lors du test d'inhibition du développement de l'œdème de la patte induit par le formol 1%. les résultats obtenus montrent que la santoline possède un effet inflammatoire modéré c'est-à-dire l'extrait de la plante a diminué l'évolution du volume de l'oedème chez le rat.

Enfin, cette étude a permis de déterminée l'ensemble des métabolite secondaire produit par *Sontolina rosmarinifolia* L. et d'en connaître éventuellement le ou les principes actifs lui conférant des propriétés thérapeutique.

Références bibliographiques

- **Aniško, T. (2008).** When perennials bloom : an almanac for planning and planting. Timber Press, 409-410.
- **Badiaga M. 2011.** Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* (smith). Une plante médicinale Africaine récoltée au Mali. Thèse de Doctorat, Université de Bamako. 137 p.
- **Bahorun, T. (1997).** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d’approvisionnement potentielle.
- **Bakkali , F. ; Averbeck, S. ; Averbeck, D. ; Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology, 46, 446-475.
- **Barrero, A. F. ; Sanchez, J. F. and Arana, E.(1988).** Germacranolides from *Santolina rosmarinifolia* subsp. *Canescens*. Phytochemistry, 27(12), 3969-3970.
- **Baskin J. M., Ludlow C. J., Harris T. M. and Wolf F. T. (1967).** Psoralen, an inhibitor in the seeds of *Psoralea subacaulis* (Leguminosae). Phytochemistry.
- **Beloued, A. (1998).** Etymologie des noms de plantes du bassin méditerranéen.
- **Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R., 2000.** American Society of Plant Physiologists, chapitre 24, pp 1250-1318.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie – Plantes médicinales. Lavoisier Eds, Paris. 3ème édition 1120 pages.
- **Bruneton, J. (1999).** Tannins. In: Pharmacognosie, phytochimie, Plantes Cannas A. www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/pos_effects.html - 6k.
- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- **Bruneton, J., (1993).** Pharmiognosie et phytochimie, plantes médicinales, *Tec et Doc*
- **Buchanan.** *Métabolites secondaires* [en ligne]. Disponible sur [http// : www.biologie.univ-mrs. fr/upload /p222/2Metabolite segondaire. pdf](http://www.biologie.univ-mrs.fr/upload/p222/2Metabolite%20secondaire.pdf)[consulté en mars 2015]
- **Chadhary S.K., Ceska O., Warrington P.J. et Ashwood-Smith M. J. (1985).** Increased furocoumarin content of celery during storage. J. Agr. Food. Chem.
- **Cornara, L.; La Rocca, A.; Marsili, S.; Mariotti, M.G. (2009).** Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy). Ethnopharmacology.
- **Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G. (2000).** Natural Products (Secondary metabolites). Biochemistry & Molecular Biology of Plants, Buchanan B., Gruissem W, Jones R. (eds). Americ. Soc. of Plant Physiologists.

- **Das K., Tiwari R.K.S. and Shrivastava D.K. (2010).** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2); 104-111.
- **De Logu, A.; Loy, G.; Pellerano, M.L.; Bonsignore, L.; Schivo, M.L. (2000).** Inactivation of HSV-1 and HSV-2 and prevention of cell-to-cell virus spread by *Santolina insularis* essential oil. *Antiviral Research*, 48, 177-185.
- **De Pascual, T. J.; Vicente, S.; Gonzalez, M. S. and Bellido, I. S. (1983).** Nerolidol-5,8-oxides from the essential oil of *Santolina oblongifolia*. *Phytochemistry*, 22(10), 2235-2238.
- **Edenharder, R., Grünhage, D. (2003).** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydro peroxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res*, 540
- **Farnsworth NR, 1989.** Screening plants for new medicines. In: Wilson EO, editor. *Biodiversity*. Washington: National Academy press. Pp. 83-97.
- **Ferrari, B.; Tomi, F.; Casanova, J. 2005.** Terpenes and acetylenes derivatives from the roots of *Santolina corsica* (Asreraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*.
- **Fco.(2001).** Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifloia* L. ssp. *rosmarinifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(7), 663-672.
- **Fleuriet, A. (1982).** Thèse Doc. Etat, Montpellier.
- **Gardner, J. A. (2005).** Herbs in bloom: a guide to growing herbs as ornamental plants, 296-298.
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001).** Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **Giner, R.M.; Rios, J.L; Villar, A. (1989).** Inhibitory effects of *Santolina chamaecyparissus* extracts against spasmogen agonists. *Ethnopharmacol*, 27, 1-6.
- **Guignard, J.L., Cosson, L., et Henry, M, (1985).** *Abérgé de phytochimie*, Masson. Paris, Pp 138.)
- **Guignard J.L.; (1995).** *Abréégé de phytochimie* ; Hasson. 224p. HarboneJ.B., *Phytochemical Methods : A guide to moderne techniques of plant analysis* 3e ed. : chapman and hill.1998. 303p. 1998.
- **Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut*.

- **Hodgson E, 2004.** A textbook of modern toxicology. 3th edition. USA : Wiley Interscience. Pp. 525-541.
- **Hopkins W.G. (2003).** Assimilation du carbone et productivité. Dans: Physiologie végétale. Traduction de la 2ème édition américaine par Serge Rambour. Editions De Boeck université, 515p.
- **Kabissi, I. (1998).** Dictionnaire des herbes et plantes médicinales. 3ème édition, 279.
- **King, A. et Young G. (1999).** Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. J Am Diet Assoc 99(2) : 213-8.
- **Kisiel W, Dawid-Pač R, Grabarczyk H and Nowak G (2003).** Germacrane Derivatives from *Santolina pinnata* subs. *neapolitana*. Zeitschrift für Naturforschun.
- **Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.
- **Loannou, E. ; Poiata, A. ; Hancianu, M. ; Tzakou, O. (2007).** Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oils of flowers heads and leaves of *Santolina rosmarinifolia* L. from Romania. Natural Product Research, 21(1), 18-23.
- **Lohmueller, F. A. (2006).** The Botanical System of the Plants (Das Botanisches System der Pflanzen).
- **Liu, K.; Rossi, P. G.; Ferrari, B.; Berti, L.; Casanova, J. ; Tomi, F. (2007).** Composition, irregular terpenoids, chemical variability and antibacterial activity of the essential oil from *Santolina Corsica* Jordan et Fourr. Phytochemistry, 68(12), 1698-1705.
- **Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K.V., Biro, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Acta Biologica Szegediensis.
- **Meddelton, E., Kardasmani, J.C, (1993).** The flavonoids Advances, in: research since 1986, JB Harbone, Chapman and Hall, London, p617-652.
- **Merzoug B., 2009-** Contribution à l'étude phytochimique de deux plantes de la famille des Apiaceae : *Carum montanum* Coss. & Dur. et *Bupleurum montanum* Coss. Thèse de doctorat. "Phytochimie". Université Mentouri-Constantine. P1.
- **Messai L. (2011).** Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artemisia herba alba*). Thèse Doctorat : Phytochimie : Constantine : Université de Mentouri Constantine, 12-26.
- **Mukohata, Y., Nakabayashi, S., & Higashida, M. (1978).** Quercetin, an energy transfer inhibitor in photophosphorylation. FEBS Lett.

- **Novais , M. H.; Santos, I.; Mendes , S.; Pinto-Gomes, C.(2004).** studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). Journal of Ethnopharmacology.
- **Quezel, P. ; Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol.1-2.Ed.CNRS,paris.
- **Rasekh, H.R., Nazari, P., Kamli-Nejad, M., Hosseinzadeh, L., 2008.** Acute and subchronic oral toxicity of *Galega officinalis* in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 116, 21-26.
- **Raven H., Evert R. F., Eichhorn S. E. (2000).** Biologie végétale. 6e édition. Traduit par Jules Bouharmont avec la collaboration scientifique de Charles-Marie Evrard. De Boeck Université - Paris, 944p.
- **Renaud J. and Martinoli M.G. 2011.** Propriétés neuroprotectrices, antioxydantes et antiinflammatoires du resvératrol dans les neurones dopaminergiques. *Médecine Sciences Amérique*, 1(1): 1–14.
- **Rossi, P.G; Panighi, J.; Luciani, A.; de Rocca Serra, D.; Maury, J.; Gonny, M.; Muselli, A.; Bolla, J.M.; Berti, L. (2007).** Antibacterial action of essential oils from Corsica. *Essential Oil Research*, 19, 176-182.
- **Sala, A.; Recio, M.C; Giner, R.M.; Manez, S.; Rios, J.L. (2000).** Anti-phospholipase A2 and anti-inflammatory activity of *Santolina chamaecyparissus*. *Life Science*, 66, 35-40.
- **Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C. (2005).** Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. p45, 287–306.
- **Serrano JJ, 1990.** Toxicopharmacologie expérimentale des plantes médicinales. Actes du 1er colloque européen d'ethnopharmacologie. Office de la recherche scientifique d'outre-mer (ORSTOM). Pp. 210-218.
- **Silvan, A.M.; Abad, M.J; Bermejo, P.; Sollhuber, M.; Villar, A. (1996a).** Anti-inflammatory activity of coumarins from *Santolina oblongifolia*. *J. Nat. Prod*, 59, 1183-1185.
- **Silvan, A.M.; Abad, M.J; Bermejo, P.; Villar, A.; Sollhuber, M. (1996b).** Anti-inflammatory activity of three flavonoids from *Santolina oblongifolia*. *Phytotherapy Research*, 10, 65-65.
- **Singleton, V.L ; Rossi, J.A., (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology*

Viticulture, 16: 144-158.

- **Schauenberg P ., Ferdinand P .,** 2006. Guide des plantes médicinales. Ed: Detachaux ET Niestlé. P-8.
- **Sofowra A. 1993.** Medicinal Plants And traditional Medicine In Africa. 2e Edition. Spectrum Books Ltd, Ibadan, Nigeria.
- **Tapiero H., Tew K.D., Nguyen B.G., and Mathé G. (2002).** Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies. Biomed.pharmacother.
- **Tsimogiannins, D.I., Oreopoulou, V. (2006).** The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. Innovat Food Sci Emerg Tech.
- **Utrecht, Y. T., Suzette, E., Bennekom, S.R., Haaksbergen 1995.** T. S. Série Le Jardin (Arbustes),
- **Ushakov, V. A., Murav'eva, D. A., Bakina, L. A.** Monoterpene compounds of the essential oils of plants of the genus *Santolina*. *Chem. Nat. Comp.*, 1975,
- **Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr.*
- **Zobel A. M. and Brown S. A. (1990).** Dermatitis-inducing furanocoumarins on leaf surfaces of eight species of Rutaceous and Umelliferous plants. *Journal of Chemical Ecology* .

Intitulé : *Etude phytochimique et évaluation de la toxicité et l'activité anti-inflammatoire de L'espèce Santolina rosmarinifolia L.*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master

Résumé :

Nos travaux ont pour objectif d'identifier les sous classes de métabolites secondaires ainsi que la cytotoxicité et l'activité anti-inflammatoire de l'espèce *santolina rosmarinifolia* L appartenant à la famille des astéracées.

D'après nos investigation effectués nous avons pu constater que la plante étudiée est riche en substances naturelles tels que les anthraquinones, flavonoïdes saponosides, tanins, stérols et triterpènes, qui pourraient être utiles dans plusieurs domaines pharmacologique, cosmétiques...

La quantification des composés phénoliques par la méthode colorimétrique adaptée de Singleton et *al* a montré que la plante est en abondance en polyphénols.

Concernant la toxicité *in vivo* réalisés sur des souris élevées à l'animalerie de la faculté (SNV UFMCI) a révélé que l'extrait hydrométhanolique de *S.rosmarinifolia* L. ne possède pas d'effet toxique ce que valorise l'utilisation de cette plante.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* sur des rats wistar albinos a élucidé que notre plante à un effet inhibiteur remarquable sur le développement de volume de l'œdème au niveau de la patte de l'animale.

Mots clés : *Santolina rosmarinifolia* , tanins, flavonoides, ,anti-inflammatoire, toxicité, astéracées.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biochimie appliquée

Jury d'évaluation :

Président du jury :	HAMMOUDA	Dounia	. MCA	Univ. Constantine1
Rapporteur :	CHIBANI	Salih	MCA	Univ. Constantine1
Examineurs :	BOUCHOUKH	Imane	MAA	Univ. Constanitne1

Date de soutenance: 14/07/2019