



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



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

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Et Ecologie Végétale

قسم : بيولوجيا وايكولوجيا النبات .

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 la reproduction

Intitulé :

Evaluation des propriétés biopharmacologiques de deux plantes sauvages de l'est Algérien

Présenté et soutenu par : *MAADI KENZA*

Le : 15/07/2019

Jury d'évaluation :

Présidente : BOUDOUR .L. Pr Université des Frères Mentouri-Constantine1

Rapporteur : ZEGHAD .N. MCB Université des Frères Mentouri-Constantine1

Examineur : DJEROUNI. A. MCB Université des Frères Mentouri-Constantine1

*Année universitaire
2018 - 2019*

Remerciements

Avant toute chose je ne manquerai pas de remercier ici quelques personnes sans lesquelles ce Mémoire n'aurais jamais vu le jour

Je tiens avant tout à remercier Dieu tout puissant de m'avoir donné la force et la volonté pour achever ce modeste travail.

Ce sujet a été proposé par Madame ZEGHAD NADIA, Maitre de Conférences B à Université des Frères Mentouri-Constantine 1. Je lui exprime mes plus vifs remerciements ainsi que mes profondes gratitude pour m'avoir orienté, dirigé ce travail et également pour tous ses conseils dans l'élaboration et la conception de ce mémoire.

Je tiens à remercier Madame BOUDOIR LAILA, Professeur à Université des Frères Mentouri-Constantine 1 de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance. Je remercie vivement Mr DJEROUNI AISSA, Maitre de Conférence B à l'université des frères Mentouri-Constantine 1 d'avoir accepté de juger mon travail.

Ce travail a été effectué au sein des laboratoires de Centre de Recherche en Biotechnologies à Constantine (Labo2 et labo5) et au laboratoire de pharmacologie et toxicologie à l'institut National des Sciences Vétérinaire, Université des Frères Mentouri-Constantine1.

Je remercie Dr. BENSUICI, maitre de recherche au CRBt de Constantine, et Dr. ABDESSEMED ainsi que tous les ingénieurs et les employés du Centre pour leurs aides et leurs conseils précieux pour la réalisation de ce travail.

J'exprime mes sincères remerciements à Madame MAAMERI ZINEB, Maitre de Conférences A à l'université des frères Mentouri-Constantine 1 pour son aide, sa patience, et ses précieux conseils.

Merci a monsieur BELMIHOUBI ZOHIR

Je ne peux pas m'empêcher d'avoir une pensée pour ceux et celles qui m'ont répondu présents et m'ont offert leur soutien moral dans les moments difficiles et qu'ils ont été à mes côtés.

Dédicaces

Aux êtres les plus chers : Mes parents,

Je dédie ce mémoire A MON PERE,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour continuer à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et j'espère que ce travail sera à la hauteur de tes attentes.

A MA MERE,

Pour son affection, sa patience, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans moments les plus difficiles de ma vie. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHERS PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.

A mon cher frère : Borhan Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite

A mes très chères sœurs, Doria et Nada

A la pensée de ma grand- mère "Rekia" et mon grand-père "Ali" J'aurais aimé de vous voir à mes cotés pour toute la vie, vous aviez impacté positivement ma vie. Je ne vous oublierai jamais. Vous resteriez à jamais gravés dans nos cœurs.

Paix à vos âmes.

A Mes amies et mes camarades de promotions.

A tous les enseignants qui ont contribué à ma formation Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des parents, frères, sœurs et des amis sur qui je peux compter.

Liste des abréviations

DPPH : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl

ABTS : 2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique].

CUPRAC : Cupric reducing antioxidant capacity .

GOR assay : Galvinoxyl scavenging assay .

AchE : Acetylcholinesterase .

EAG : Equivalent en Acide Gallique.

EQ: Equivalent en Quercétine.

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice de 50% du radical DPPH

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

C : Degré celsius

g : gramme

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique sur les plantes étudiées

<i>1/ Teucrium polium L</i>	3
1.1/ Description botanique	3
1.2/ Systématique botanique	4
1.3/ Origine et répartition géographique.....	4
1.4/ Composition chimique.....	5
1.5/ Utilisation médicales et pharmacologiques de <i>Teucrium polium L</i>	5
<i>2/ Rubus fruticosus L</i>	6
2.1/Description botanique	6
2.2/Systématique botanique	7
2.3/ Distribution géographique	7
2.4/Composition chimique.....	7
2.5/ Propriétés médicinales et pharmacologiques de <i>Rubus fruticosus L</i>	8

Chapitre II : Synthèse bibliographique sur les composés phénoliques

1/ Introduction	9
2/Classification.....	9
2.1/ Les acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3).....	10
2.2/ Les flavonoïdes (C6-C3-C6).....	11
2.3/ Les Tannins	14
2.3.1/ Tanins hydrolysables	14
2.3.2/ Tanins condensés (C6-C3-C6) _n	15
2.4/ Les lignines (C6-C3) _n	16
3/ Biosynthèse des composés phénoliques	17
3.1/Voie de Shikimate.....	17
3.2/Voie d'acétate malonate.....	21
3.3/ Voie mixte de biosynthèse des flavonoïdes	22
4/ Activités biologiques des composés phénoliques.....	24
4.1/ Activité antioxydante	24
4.1.2/ Stress oxydatif.....	24
4.1.3/Les antioxydants.....	24
4.2/ Activité cicatrisante	25

Chapitre III : Matériel et Méthode

1/ Matériel végétal	27
2/ Méthode d'extraction.....	27
3/ Caractérisation chimique des extraits	27
3.1 Analyse qualitatives par screening	27
3.2/ Analyse quantitatives par spectrophotomètre (Dosage)	29
3.2.1/ Dosage des polyphénols totaux.....	29
3.2.2/ Dosage des flavonoides totaux.....	30

3.2.3/ Dosage des flavonols totaux.....	31
4 / Evaluation des activités biologiques	31
4.1 / Activité antioxydante au DPPH.....	31
4.2 Activité antioxydante ABTS.....	32
4.3/Capacité de réduction l'ion cuprique CUPRAC.....	33
4.4/ Capacité de réduction du radical GOR.....	34
4.5/Mesure de l'activité de l'acétylcholinestérase AchE.....	34
4.6 /Activité inhibitrice d' α amylase	36
4.7/ Evaluation de l'effet cicatrisant des extraits	36

Partie III : Résultats et discussion

1/Caractérisation chimique des extraits hydrométhanoliques	39
1.1/ Criblage phytochimique	39
1.2/ Estimation des contenus en composés phénoliques dans les extraits	40
3/ Evaluation des activités biologique	41
3.1/ Activité antioxydante au DPPH	41
3.2/ Activité antioxydante à l'ABTS.....	43
3.3/ Capacité de réduction l'ion cuprique (CUPRAC).....	45
3.4/ Activité antioxydante au radical galvinoxyl (GOR).....	47
3.5/ Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) et d' α amylase	49
3.6/ Evaluation de l'effet cicatrisant des extraits.....	51
<i>Conclusion générale</i>	55

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des tableaux

Tableau I: Classification systématique de <i>Teucrium polium L</i>	4
Tableau II: Classification systématique de <i>Rubus fruticosus L</i>	7
Tableau III: Principaux dérivés d'acide benzoïque	10
Tableau IV: Principaux dérivés d'acide cinnamique.....	11
Tableau V : Principaux dérivés de coumarines.	11
Tableau VI Principales classes des flavonoïdes.....	12
Tableau VII : Résultats du criblage phytochimique des extraits.	39
Tableau VIII : Estimation des contenus en composés phénoliques dans les extraits...	40
Tableau IX : Pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase en présence des extraits.....	50
Tableau X : Pourcentage d'inhibition d' α amylase en présence des extraits.....	50
Tableau XI: Chronologie de la cicatrisation des plaies d'excision traitées et non traitées (contrôle) chez le lapin.....	52
Tableau XII: Evolution de la contraction des plaies d'excision chez le lapin traité et non traité.....	54

Liste des figures

Figure 1: Présentation de <i>Teucrium polium</i>	3
Figure 2: Présentation de <i>Rubus fruticosus L</i>	6
Figure 3: Structure chimique des composés phénoliques	9
Figure 4: Classification des polyphénols	10
Figure 5: Structure de base des flavonoïdes	12
Figure 6: Structure des tannins hydrolysable (cas d'acide gallique)	15
Figure 7: Structure des tanins condensés (cas de tanins condensés à base de flavan-3-ols)	16
Figure 8: • Structure chimique d'une unité de phénylpropanoïde (C6-C3) (A) et d'un lignane(B).....	16
Figure 9: Voie de biosynthèse de Shikimate	18
Figure 10: Voie de biosynthèse de phénylpropanoïde.....	19
Figure 11: Représentation simplifiée du métabolisme des phénylpropanoïdes.....	21
Figure 12: Condensation de la voie d'acide shikimique et de malonate.....	21
Figure 13: Voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	23
Figure 14: Mécanisme réactionnel entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant..	31
Figure 15: Teneurs en polyphénols, flavonoides et flavonols dans les extraits	41
Figure 16: Evolution du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations des extraits et des standards.....	43
Figure 17: Valeurs des IC ₅₀ (DPPH) des extraits et des standards.....	43
Figure 18: Evolution du pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations des extraits et des standards	45

Figure 19: Valeurs des IC ₅₀ (ABTS) des extraits et des standards.....	45
Figure 20: Cinétique de réduction du Cu ⁺² en Cu ⁺¹ par les extraits et les standards antioxydants.....	47
Figure 21: Valeurs des EC ₅₀ (CUPRAC) des extraits et des standards.....	47
Figure 22: Evolution du pourcentage d'inhibition du radical glavoxyyl (GOR) en fonction des concentrations des extraits et des standards.....	49
Figure 23: Valeurs des IC ₅₀ (GOR) des extraits et des standards.....	49
Figure 24: Chronologie de la cicatrisation des plaies d'excision traitées et non traitées (contrôle) chez le lapin.....	52

Introduction

Introduction

Dans l'antiquité, certaines plantes étaient vénérées pour des vertus qu'on leur avait reconnues. L'homme s'est toujours soigné par ces plantes de manière empirique, guidé par la tradition ou les coutumes que personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissaient, 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 maladif ou des troubles organiques (Zenasni, 2014).

L'Algérie est l'un des pays disposant d'un important réservoir de plantes médicinales et phytothérapeutiques qui doivent être valorisées pour leur exploitation dans différents usages, notamment la fabrication de médicaments. Plus de 3164 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 7,9% endémiques restent très peu explorées sur le plan phytochimique, comme sur le plan pharmacologique (Krishnaiah *et al.*, 2011). Parmi la diversité de plantes méditerranéennes, se trouvent de nombreuses espèces médicinales, dont la plupart constitue un groupe numériquement vaste de plantes économiquement importantes. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 4000 sont des plantes médicinales, ce qui constitue 60 % de la médecine traditionnelle en Afrique (OMS, 2003).

Dans ce contexte, le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une étude phytochimique permettant de déterminer qualitativement et quantitativement certains groupes chimiques bioactifs contenus dans des extraits hydroalcooliques de deux plantes médicinales d'intérêt biopharmacologique; *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L* cultivées dans l'Est Algérien et une évaluation de leurs activités biologiques et se fixe comme objectif sur :

- Extraction et caractérisation du profil en composés phénoliques des extraits des plantes étudiées ;
- Evaluation *in vitro* du potentiel antioxydant (DPPH, ABTS, CUPRAC, GOR) et anti-enzymatiques sur un plusieurs modèles expérimentaux des extraits des plantes étudiées ;
- Evaluation *in vivo* d'effet cicatrisant, des extraits hydroalcooliques de *Teucrium polium L*, et de *Rubus fruticosus L* ;

Le présent travail est organisé comme suite :

La première partie du manuscrit traite des données bibliographiques regroupant dans un premier chapitre les aspects botaniques, taxonomiques et pharmacologiques sur les espèces étudiées. Un deuxième chapitre s'intéresse aux composés phénoliques, leurs classifications, leurs biosynthèses, et propriétés pharmacologiques.

La deuxième partie est organisée en deux sous parties ; la première sous partie présente le matériel et les méthodes, alors que la seconde sous partie englobe les principaux résultats obtenus et leur discussion.

Le manuscrit se termine par une conclusion générale qui permettra de dégager quelques perspectives de prolongement à ce travail, les références bibliographiques et une partie annexe.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique sur les plantes étudiées

I/ Germandrée tomenteuse *Teucrium polium* L.

1.1/ Description botanique

Teucrium polium L. est une espèce de la famille Lamiacée très variable; de nombreuses sous espèces ont été décrites dont certaines sont parfois érigées au rang d'espèce. C'est une plante herbacée vivace à odeur poivrée par frottement. Les tiges sont de 10-30 cm de hauteur, blanches-tomenteuses portant des feuilles opposées sessiles, linéaires-lancéolées ou oblongues, en coin et entières à la base et à dents arrondies en haut. Ces feuilles, blanches tomenteuses sur les deux faces ont les bords enroulés. Les fleurs forment des inflorescences compactes globuleuses ou ovoïdes serrées. Le calice brièvement tomenteux, à des dents courtes, la supérieure obtuse ; Corolle à lèvre supérieure tronquée et à lobes supérieurs pubescents (Boulard, 2003 ; Naghibi *et al.*, 2005).

Nom commun : mountain germander (Anglais), pouliot de montagne, germandrée tomenteuse, germandrée blanc-grisâtre (Français) ; poliot, camendrio di montagna, timo bianco, polio primo (Italien), j'ada, khayata, Katabet ledjrah (Arabe).



Figure 1 : Présentation de *Teucrium polium* L (Wikipedia, 2019)

1.2/ Systématique botanique

Le genre *Teucrium* est représenté par plus de 340 espèces dont 20 se trouvent en Algérie, et 12 sous espèces qui ont été signalées par (Quezel et Santa, 1962). Selon Quezel et Santa (1963), *Teucrium polium* est classé comme suit (tableau I) :

Tableau I : Classification botanique de *Teucrium polium L.*

Règne	Plantae
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Teucrium</i>
Espèce	<i>Teucrium polium L.</i>

1.3/ Origine et répartition géographique

La germandrée tomenteuse *Teucrium polium L.* est originaire du sud-ouest d'Asie, d'Europe et d'Afrique du nord (trouvée principalement dans le secteur méditerranéen et occidental). Elle pousse dans les pelouses arides, les rocailles de basse altitude, collines et les déserts arides (Abdollahi *et al.*, 2003).

Cette plante est présentée dans la majorité des pays du Moyen-Orient et de la Méditerranée (Moghtader., 2009; Kandouz *et al.*, 2010). En Algérie, elle est assez commune dans l'espace méditerranéenne, plus rare au Sahara septentrional et au Tassili, elle pousse dans les lieux rocailloux et secs, les lits arides, roches et sables (Quezel et Santa, 1962; Ozenda, 2004; Lemoine, 2005).

1.4/ Composition chimique

Plusieurs chercheurs ont évalué la composition chimique de *Teucrium polium* développée dans différents secteurs géographiques. La plupart de ces études, basées sur l'analyse des extraits par les méthodes chromatographiques en phase gazeuse, ont indiqué la présence de plusieurs composés incluant principalement les flavonoïdes, polyphénols, tannins, huiles essentielles et

alcaloïdes. De plus, Rasekh et ses collaborateurs (2001) ont rapporté la présence des glycosides tels que verbascoside et poliumoside (connus sous le nom de phénylethanoïde) au niveau des parties aériennes de la plante (Shakhanbeh et Atrouce, 2001; Proestos *et al.*, 2004; Parsaee et Shafiee-Nick, 2006).

Les flavonoïdes qui ont été isolés sont ; luteoline, apigenine, diosmetine, cirsimaritrine, cirsilole, cirsilineol, 5-hydroxy-6,7,3',4' tétraméthoxyflavone, salvigenine, apigenine 5-galloylglucoside, apigenine-7-glucoside, vicenine, luteoline-7-glucoside. *Teucrium polium* constitue aussi une source riche en diterpénoïdes, particulièrement les furanonéoclérodanes, l'un de ces composants majeurs est la teucrine (Hasani *et al.*, 2007).

1.5/ Utilisation médicales et pharmacologiques de *Teucrium polium L.*

Des espèces de *Teucrium polium L.* ont été employées en tant qu'herbes médicinales pendant plus de 2000 années comme diurétique, inotropique et chronotropique, tonique, antipyrétique, cholagogue et anorexiques (Khleifat *et al.*, 2001 ; Niazmand *et al.*, 2008). Le feuillage de *Teucrium polium L.* légèrement poivré, était couramment utilisé pour relever les salades ou parfumer les fromages de chèvres. Une infusion des feuilles et des fleurs était ainsi consommée comme boisson régénératrice. En médecine traditionnelle, la Germandrée tomenteuse est employée comme analgésique, antispasmodique et hypolipidémique. Cette plante peut avoir quelques intérêts d'ordre cliniques: cas de désordres stomacaux et gastrointestinaux tels que la colite (Abdollahi *et al.*, 2003 ; Boulard, 2003 ; Dehghani *et al.*, 2005 ; Kaileh *et al.*, 2007). Cette plante est largement distribuée comme agent hypoglycémiant. Sa décoction dispose un effet hypoglycémiant chez les rats normoglycémiques par rapport aux modèles hyperglycémiques induits par le streptozotocine. Cependant, des épreuves de sûreté sont exigées pour confirmer son action hypoglycémiant (Esmaeili et Yazdanparast, 2004). L'utilisation de l'extrait éthanolique de *Teucrium polium L.* sur des milieux de culture de *Saccharomyces*, *in vitro*, a mené à diminuer le taux des acides gras et bloquent la peroxydation au niveau des érythrocytes, ainsi il a montré des effets antibactériens et antifongiques (Shahraki *et al.*, 2007). Plusieurs recherches ont démontré certains effets pharmacologiques attachés à l'utilisation de *Teucrium polium L.*, parmi lesquelles on invoque l'action antibactérienne, anti-inflammatoire, antivirale, anti-ulcerogène, anti-nociceptive, antispasmodique, antidiabétique, diurétique, hypolipidémique, antifongique, antagoniste du calcium et cytotoxique (Esmaeili et Yazdanparast, 2004). Par conséquent, d'autres

investigations sont nécessaires maintenant pour élucider le mécanisme de l'action pharmacologique et identifier les composants bioactifs responsables de telles actions afin d'expliquer leur efficacité thérapeutique (Ljubuncic *et al.*, 2006).

2/ Ronse commune *Rubus fruticosus L.*

2.1/Description botanique

La ronce commune mesure en moyenne 4 m de hauteur. Il s'agit d'une plante vivace, semi caduque et épineuse. Les feuilles sont vertes portant trois lobes, garnies de poils épars sur les deux faces. Elles comportent cinq folioles souvent plissées et finement dentées. La fleur se trouve construite selon le schéma propre à cette famille: Cinq pétales roses ou presque blanches, cinq sépales verts sur le dos, étalées et concaves et de nombreuses étamines plus courtes que les styles ou les égalant à peine. Les fruits sont des grappes de baies noires (Bruzzese *et al.*, 2000).

Nom vernaculaire français: Ronce commune, Ronce des haies, Ronce, Mures sauvages

Nom vernaculaire anglais : Blackberry

Nom vernaculaire kabyle : Inigel

Nom vernaculaire arabe : Tût el Ullayq



Figure 2 : Présentation de *Rubus fruticosus L.* (Bruzzese *et al.*, 2000).

2.2/systematique botanique

D'après Bock (2013), la classification de la Ronce est présentée dans le tableau II.

Tableau II : Classification systématique de *Rubus fruticosus L* (Bock, 2013)

Règne	Plantae
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae
Genre	<i>Rubus</i>
Espèce	<i>Rubus fruticosus L</i>

2.3/ Distribution géographique

L'espèce *Rubus fruticosus L* est présente sur tout l'hémisphère nord, des régions tempérées aux régions froides, du bord de mer balayé par les embruns au bord des glaciers à 2300 mètres d'altitude. Le Mûrier sauvage s'est acclimaté en Amérique et en Australie. Il pousse surtout dans les haies et les forêts. En Algérie, cette plante pousse essentiellement dans le Tell et l'Aurès (Quezel et Santa, 1962).

2.4/Composition chimique

Les feuilles de *Rubus sp* sont intéressantes en phytothérapie pour leur contenu en tanins et par l'absence de composés à la toxicité notable comme des alcaloïdes par exemple. Les tanins correspondent en moyenne à 10% du poids sec des feuilles et sont principalement sous forme de tanins hydrolysables dérivés des acides galliques et ellagiques.

Les feuilles contiennent aussi des flavonoïdes non-spécifiques et des acides organiques. La feuille de *Rubus sp* renferme aussi des diterpénoïdes (Hurtel,2016)

2.5/ Propriétés médicinales et pharmacologiques de *Rubus fruticosus L*

Les feuilles du murier sont couramment utilisées en phytothérapie car elles possèdent de nombreuses vertus, en effet celles-ci sont un excellent antidiabétique, dépuratif, astringentes, et donc souvent utilisées dans le traitement des inflammations de la gencive, des ulcères de la cavité buccale et de la toux. Elles sont dotées aussi de propriétés anti diarrhéiques, diurétiques et anti hémorroïdaires (Zia-Ul-Haq *et al.*, 2014). La mûre dispose également d'un pouvoir anxiolytique par dépression du système nerveux central. Ce dernier est plus élevé dans les fruits et il minimise dans les tiges. En plus de ces activités, l'étude menée par (Zia-Ul-Haq *et al.*, 2014). met en évidence un effet protecteur des difficultés cognitives.

Chapitre II : Synthèse bibliographique sur les composés phénoliques

1/ Introduction

Les polyphénols ou les composés phénoliques, sont des métabolites secondaires spécifiques du règne végétal représentant la pigmentation (teinte des feuilles, couleur des fruits et des fleurs) (Serrano *et al.*, 2010), et jouant également un rôle dans la protection des plantes contre les agressions pathogènes (Drewnoski *et al.*, 2000 ; Zem et Fernandez, 2005).

Au sens strictement chimique du terme, les « polyphénols » devraient se restreindre aux structures qui comportent au moins deux groupements phénoliques, quel que soit le nombre de groupes hydroxyles qu'ils portent chacun (Quideau *et al.*, 2011).

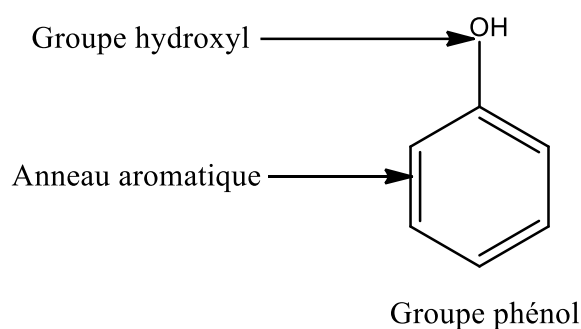


Figure 3 : Structure chimique des composés phénoliques (Quideau *et al.*, 2011).

2/ Classification

Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relient. On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes (Boros, 2010). En plus de cette diversité, les phénols sont présents naturellement sous forme conjuguée : avec des sucres, des acides organiques, entre eux. Selon (Manachet *et al.*, 2004), les polyphénols sont répartis en plusieurs classes comme l'indique la figure 4.

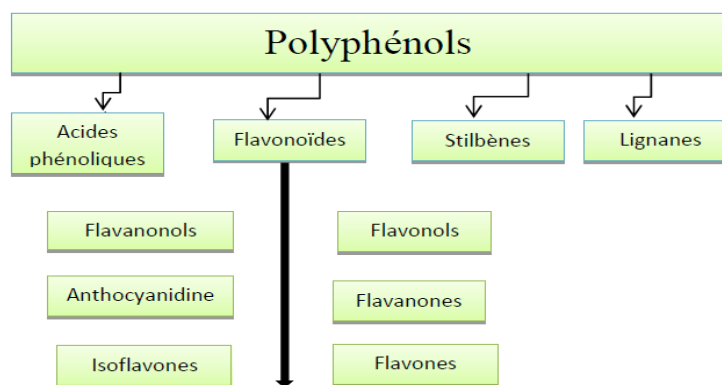


Figure 4 : Classification des polyphénols (Manach *et al.*, 2004)

2.1/ Les acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3)

Le terme d'acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Bruneton, 2009). Les acides phénoliques se scindent en deux grands groupes distincts : les acides hydroxybenzoïques (C6-C1), et les acides hydroxycinnamiques (C6-C3). Les coumarines sont aussi considérées comme des composés phénoliques ayant une structure de base de type benzo-2-pyrone (C6-C3) suite à une cyclisation interne de la chaîne latérale (Zeghad, 2018).

Tableau III : Principaux dérivés d'acide benzoïque (Sarni-Manchado et Cheyner, 2006).

Structure	R1	R2	R3	R4	Composé
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide <i>p</i> hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

Tableau IV : Principaux dérivés d'acide cinnamique (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

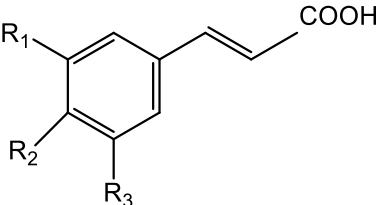
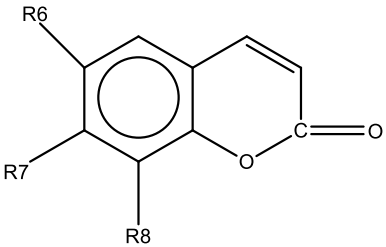
Structure	R1	R2	R3	Composé
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide <i>p</i> coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH ₃	OH	H	Acide férulique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique

Tableau V : Principaux dérivés de coumarines (Macheix *et al.*, 2005).

Structure	R6	R7	R8	Composé
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH ₃	OH	H	Scopolétole
	OCH ₃	OH	OH	Fraxétole
	H	OH	OH	Daphnétole

2.2/ Les flavonoïdes (C6-C3-C6)

Actuellement, environ 4000 composés flavoniques sont connus (Edenharder et Grünhage, 2003) et ils 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-phényl chromane, composés de deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C (figure 5) (Yao *et al.*, 2004). Ces molécules ont un rôle important dans la santé humaine, grâce à leurs diverses propriétés biologiques importantes : pouvoir antioxydant, inhibition de la peroxydase lipidique, activité anti-inflammatoire...etc. (Alcaraz *et al.*, 2000 ; Rodriguez-Vaquero *et al.*, 2007).

Les principales classes des flavonoïdes sont : les flavonols, les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes, ils varient dans leurs caractéristiques structurales par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle (Sadasivam *et al.*, 2003).

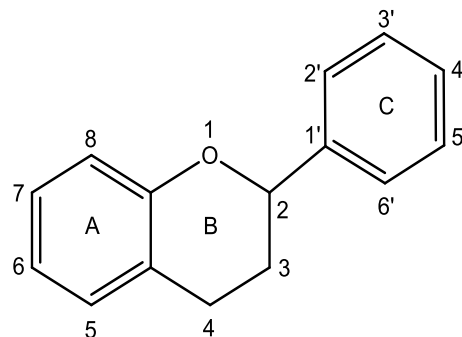
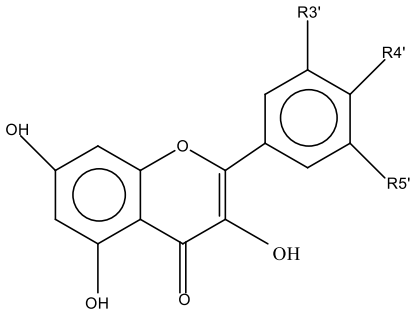
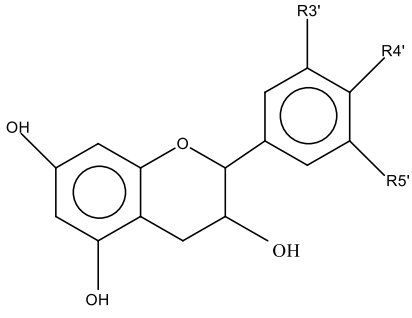
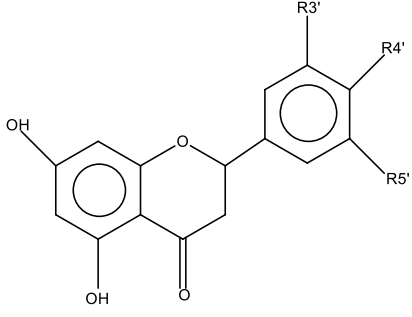
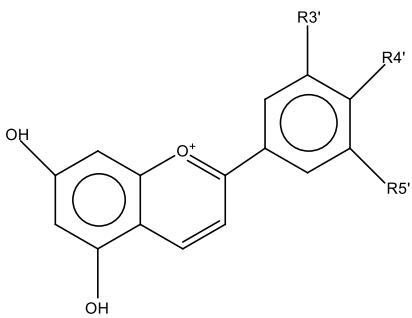


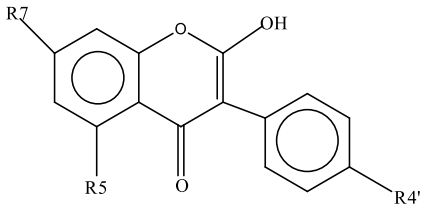
Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes (Sadasivam *et al.*, 2003).

Les flavonoïdes peuvent être divisés en plusieurs classes notamment les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes (Sadasivam *et al.*, 2003). Cette classification a été basée sur la nature des substitutions R5 et R7 du cycle A, la nature des groupements R3', R4' et R5' du cycle C ou bien le degré d'oxydation et la diversité fonctionnelle au niveau des positions 2, 3 et 4 du cycle C (Tableau VI).

Tableau VI : Principales classes des flavonoïdes (Sadasivam *et al.*, 2003).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine

Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine

Isoflavones		R ₅	R ₇	R _{4'}	
		OH	OH	OH	Genistéine
		H	O-Glu	OH	Diadézine

2.3/ Les Tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées, localisés dans les vacuoles, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires (Aguilera Carbo *et al.*, 2008). Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant, très répandu dans le règne végétal. Les tanins peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. On distingue: les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Roux et Catier, 2007).

2.3.1/ Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables (figure 6) sont des esters de glucose, c'est à dire un noyau central de glucose sur lequel se fixent, au moyen d'une liaison ester, des acides : l'acide gallique pour le groupe des gallotanins et l'acide ellagique pour le groupe des ellagitannins, leur hydrolyse par des acides, des bases ou certaines enzymes, libère le glucose ainsi que les acides gallique ou phénolique liés (Bruneton, 2009).

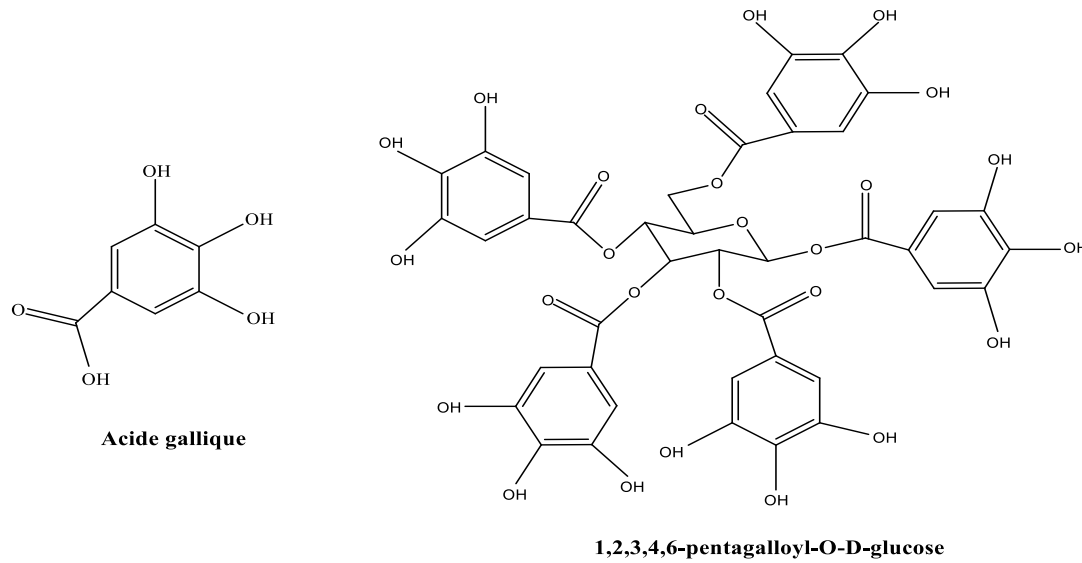


Figure 6 : Structure des tannins hydrolysable (cas d'acide gallique) (Bruneton, 2009).

2.3.2/ Tanins condensés (C6-C3-C6)_n

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines. Les tanins condensés (figure 7) sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation auto-oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A) (Bruneton, 2009).

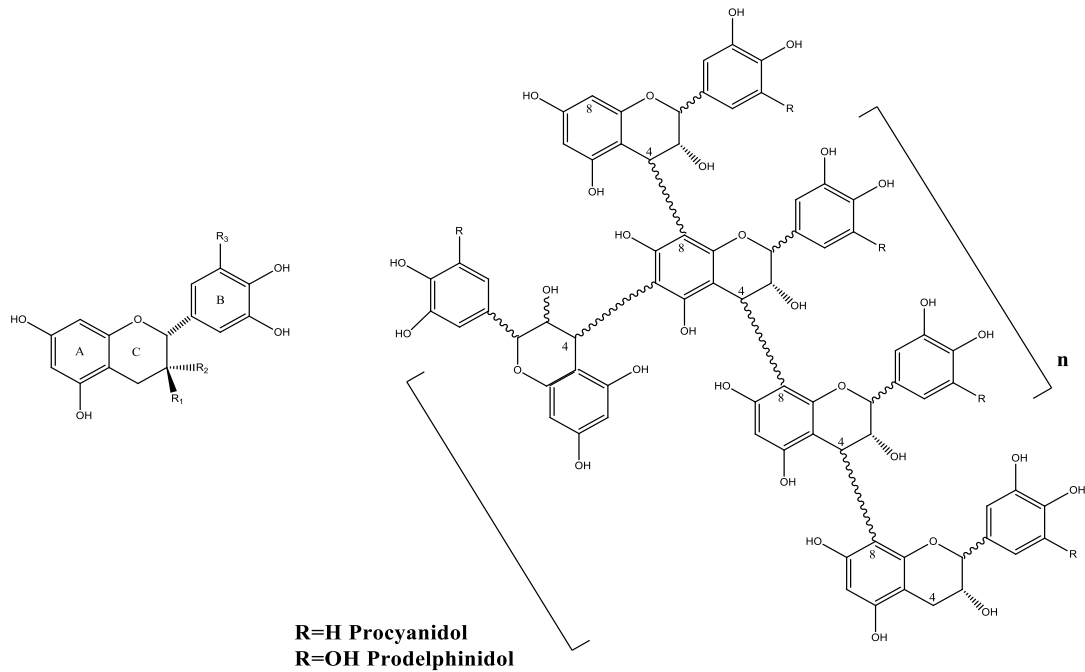


Figure 7 : Structure des tanins condensés (cas de tanins condensés à base de flavan-3-ols) (Bruneton., 2009)

2.4/ Les lignines (C6-C3)_n

D'un point de vue chimique on peut définir la lignine comme un polymère tridimensionnel formés à partir de trois unités monomères phénoliques qui sont : l'alcool coniférylique, l'alcool sinapylique et l'alcool p-coumarylique (Sainvitu *et al.*, 2012).

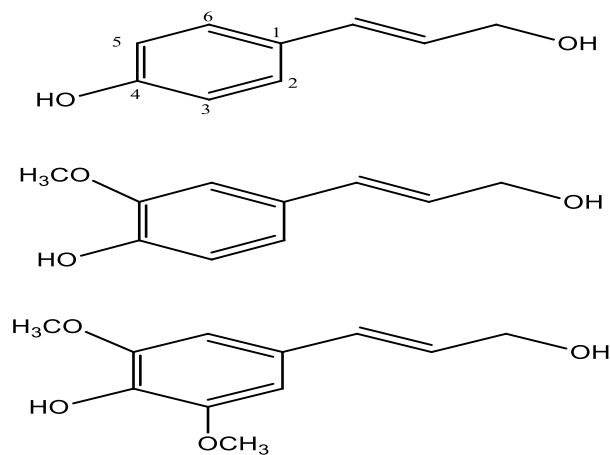


Figure 8 : Structure de lignine (Sainvitu *et al.*, 2012).

3/ Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont principalement issus de deux grandes voies métaboliques de biosynthèse notamment la voie de l'acide shikimique, la voie d'acétate malonate ainsi qu'une voie mixte de biosynthèse des flavonoïdes.

3.1/Voie de Shikimate

La voie de shikimate (fig9) appartient au métabolisme primaire ; C'est la voie de biosynthèse des composés aromatiques notamment les acides aminés aromatiques, parmi lesquels le précurseur du métabolisme des phénylpropanoïdes ; la phénylalanine. La voie de shikimate, appelée également la voie de phénylpropanoïde (fig10) (Sainvitu *et al.*, 2012).joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme et conduit à la formation de nombreux composés phénoliques. La phénylalanine issue de la voie de shikimate marque l'entrée à la voie de phénylalanine suite à sa conversion en acide cinnamique par la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) ce qui constitue ainsi le point de départ de la synthèse des principaux métabolites notamment : les acides phénoliques simples, les flavonoïdes, les isoflavonoïdes, des coumarines, des tanins condensés et des polymères de lignines. (Sainvitu *et al.*, 2012).

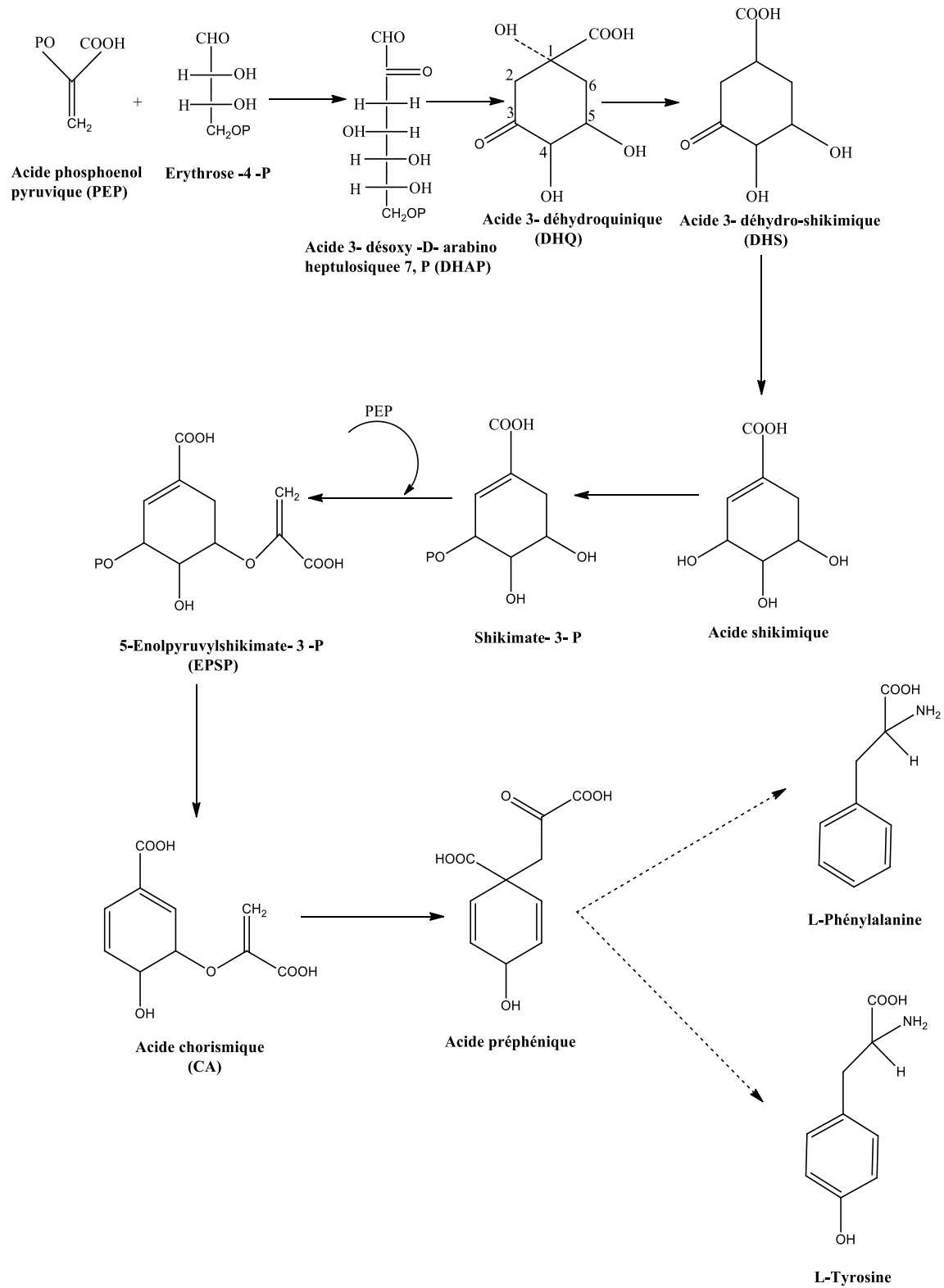


Figure 09 : Voie de biosynthèse de Shikimate (Floss, 1997).

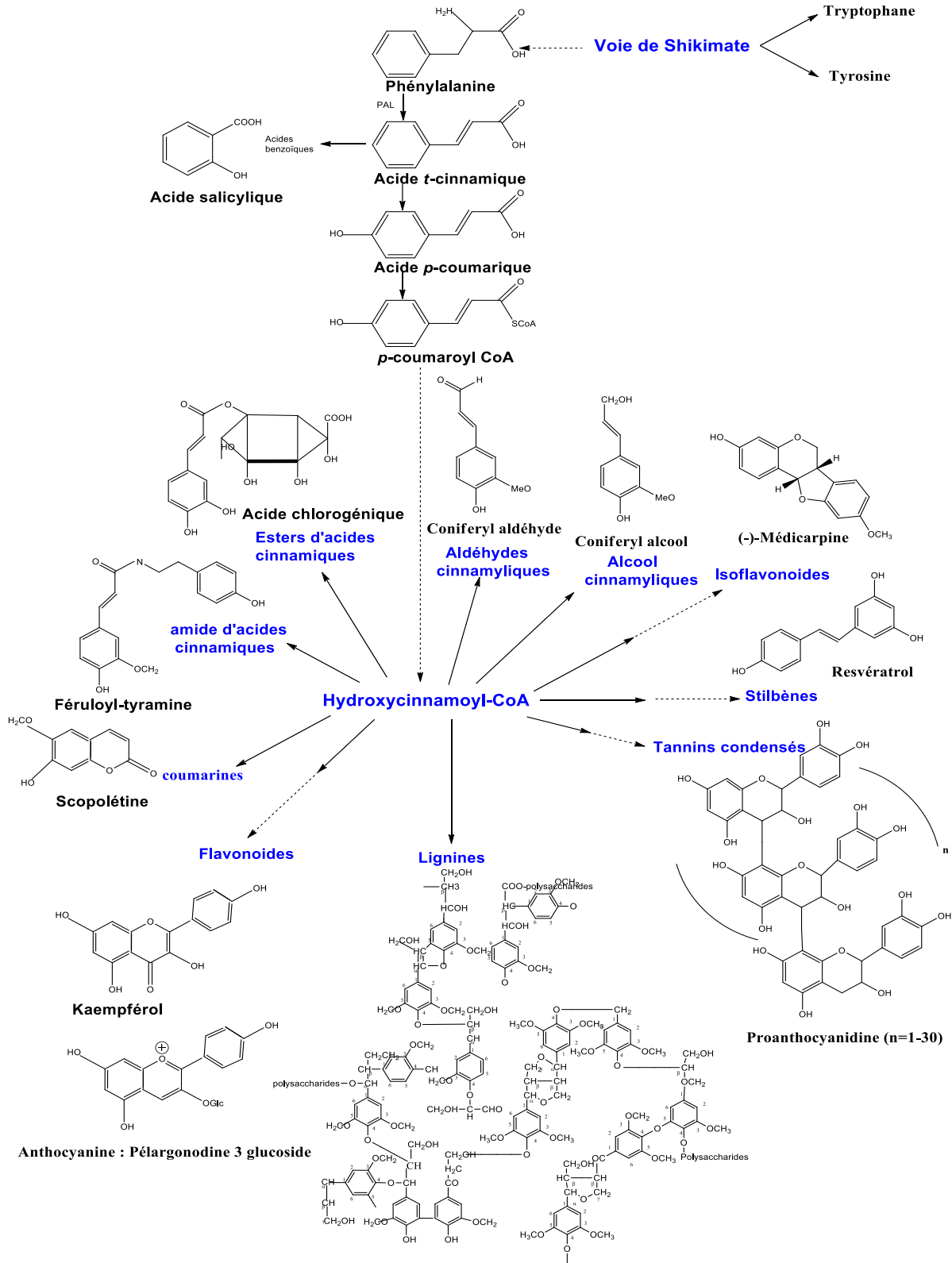


Figure 10: Voie de biosynthèse de phénylpropanoïde (Hoffman *et al.*, 2004).

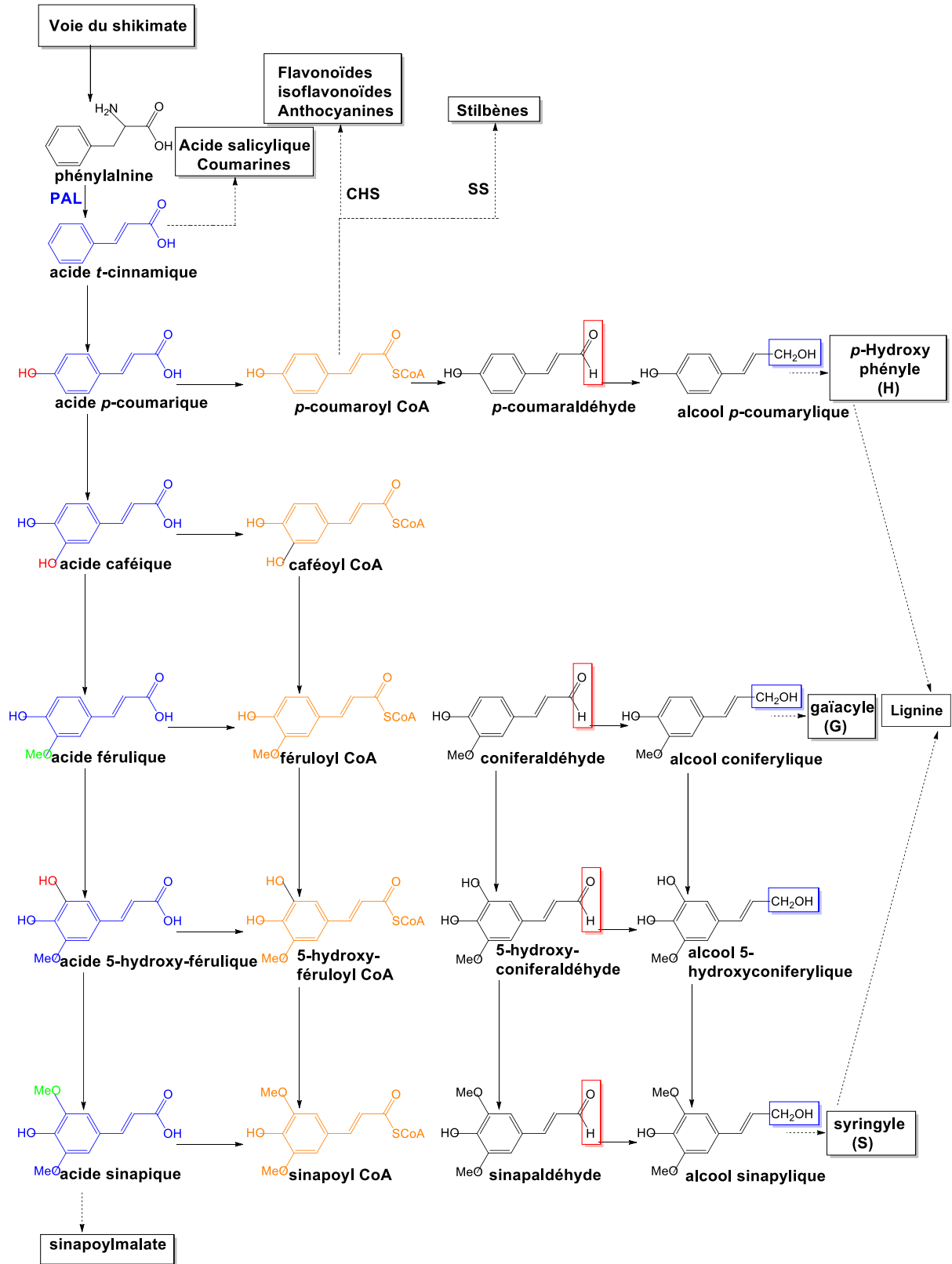


Figure 11 : Représentation simplifiée du métabolisme des phénylpropanoïdes (Hoffman, 2003).

3.2/Voie d'acétate malonate

Les composés phénoliques sont également formés par la voie d'acétate malonate suite à une condensation de 2 malonyl CoA et une molécule d'acétyl CoA qui donne une chaîne latérale, cette dernière se cyclise pour donner naissance au noyau A (fig12). La voie d'acide shikimique et celle d'acétate malonate se condensent pour donner naissance à une voie mixte responsable de la biosynthèse de différentes classes de flavonoïdes (Hoffman *et al.*,2004).

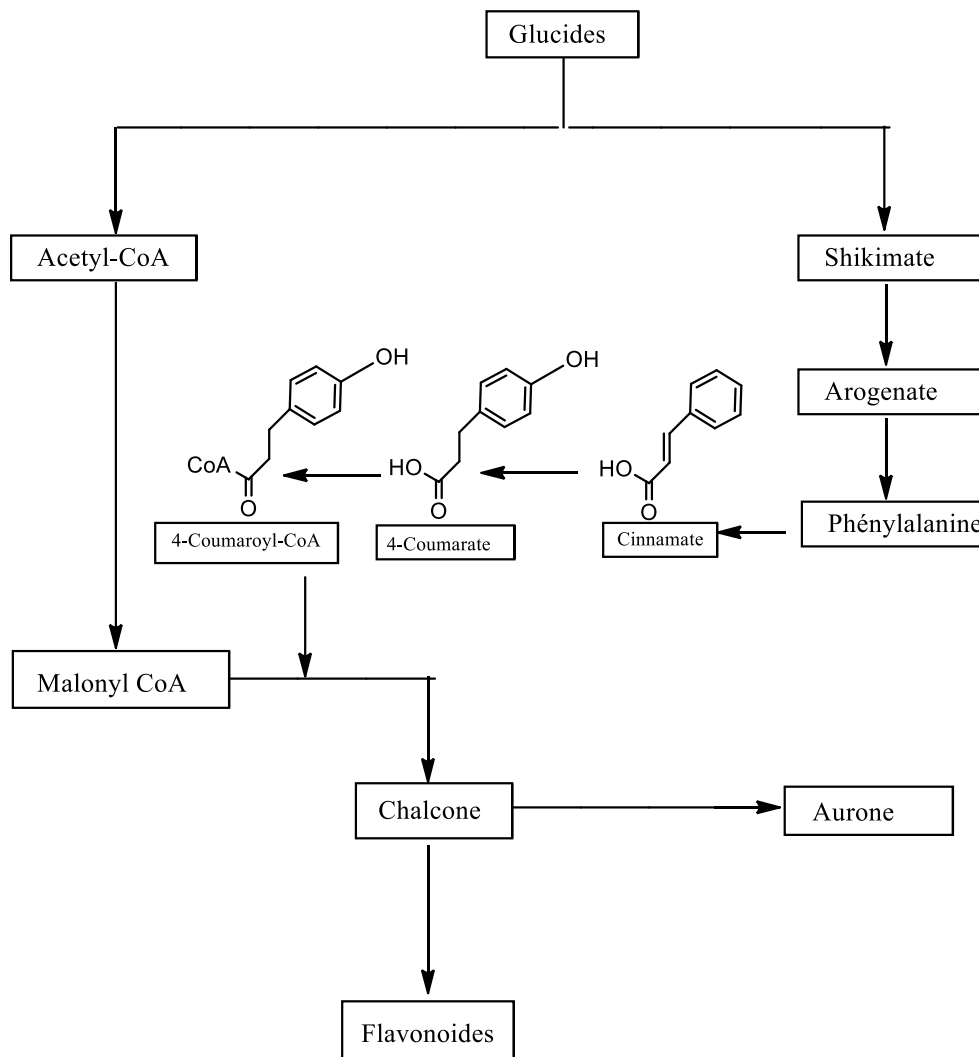


Figure 12 : Condensation de la voie d'acide shikimique et de malonate (Hoffman *et al.*,2004).

3.3/ Voie mixte de biosynthèse des flavonoïdes

La phénylalanine ammonialyase (PAL) permet d'obtenir l'acide cinnamique qui deviendra acide *p*-coumarique après action de la cinnamate 4-hydroxylase. La réaction de condensation d'une unité de propanoïde avec trois unités de malonyl-CoA sous l'action de la chalcone synthase conduit à l'obtention de chalcone, cette dernière est par la suite considérée comme une intermédiaire caractéristique de la synthèse de différents flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones (cycle A en C6 et cycle B en C6 reliés par une chaîne en C3) parce qu'ils ont la même origine de biosynthèse, cette dernière se fait à partir d'un précurseur commun ; 4, 2', 4', 6' tétrahydroxychalcone, qui est métabolisé en présence de chalcone isomérase en flavanone, ensuite sous l'action de flavone synthase le flavanone se transforme en flavone. En présence de flavonol synthase ou dihydroflavonol-4-réductase le dihydroflavonol se métabolise en flavonol ; kaempférol ou bien flavan 3, 4 diol, ce dernier qui semble être le précurseur des flavan-3-ols et anthocyanidol (fig13) (Hoffman *et al.*,2004). .

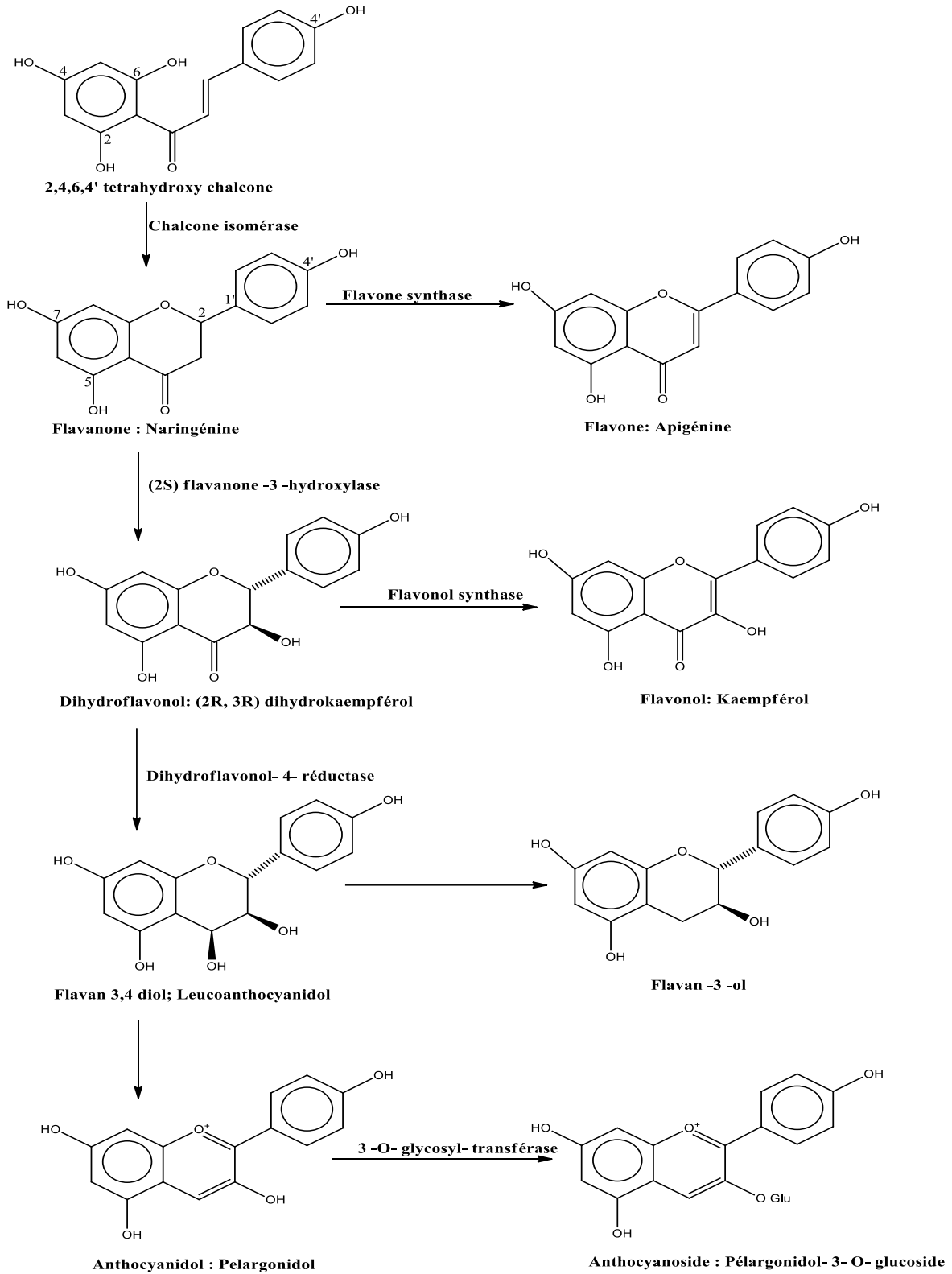


Figure 13 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Hoffman *et al.*,2004).

4/ Activités biologiques des composés phénoliques

4.1/ Activité antioxydante

4.1.1/ Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique qui possède un électron célibataire qui lui confère une réactivité vis-à-vis d'autres molécules. La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou de radicaux libres est normale et ne constitue pas une situation pathologique en soi. En effet, elle joue un rôle dans certaines voies de signalisation. De plus, il existe divers systèmes permettant d'éliminer les ROS et de rétablir la balance oxydative. Ces systèmes peuvent être des enzymes d'origine endogène (catalase par exemple) ou de simples molécules d'origine exogène (vitamine E par exemple ou composés phénoliques) (Florence, 2016).

4.1.2/ Stress oxydatif

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre production de radicaux libres et espèces anti-oxydantes en faveur de la production de radicaux libres ou espèces réactives oxygénées. Ceci est induit par un déséquilibre entre pro-oxydant et système antioxydant (Florence, 2016). Le stress oxydant est l'un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

4.1.3/ Les antioxydants

Un antioxydant est toute substance capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation des substrats biologiques (Al-Mamary *et al.*, 2002 ; Boyd *et al.*, 2003 ; Karou *et al.*, 2005). Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs, capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielles et nutritionnelles du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit. D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus

rapidement que le substrat. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol (Karou *et al.*, 2005)..

La grande capacité des composés phénoliques à contrecarrer les radicaux libres et à chélater les ions des métaux de transition est directement reliée à leurs caractéristiques structurales. Il est prouvé que cette activité est due aux nombres et aux positions des groupements hydroxyles présents sur les cycles benzoïques (Boyd *et al.*, 2003). En ce qui concerne le pouvoir antioxydant des flavonoïdes vis-à-vis des radicaux libres, il Est dû à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques . Les flavonoïdes exercent aussi des effets antioxydants par la chélation des ions métalliques (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires Des données scientifiques suggèrent que les antioxydants réduisent le risque de maladies chroniques tels que le cancer et les maladies cardiaques (Yasameen *et al.*, 2017).

4.2/ Activité cicatrisante

Les avancées significatives en biologie cellulaire et moléculaire au cours des dernières années ont amélioré notre compréhension du processus de la cicatrisation et la régénération des tissus. La cicatrisation est un phénomène biologique naturel qui permet d'aboutir au comblement des pertes de substance et à la réunion des berges de la plaie. C'est un processus dynamique complexe qui intègre les fonctions d'éléments figurés du sang, la matrice extracellulaire (MEC), les cellules du parenchyme et des médiateurs solubles. Les modalités de la cicatrisation dépendent des tissus et de l'espèce concernée. Il existe deux processus de cicatrisation : la régénération et la réparation (Pavletic, 2010).

La régénération permet de remplacer des cellules ou tissus perdus par des cellules et des tissus fonctionnels quasi identiques. Seuls les tissus conservant une population cellulaire capable de se multiplier par mitose sont aptes à se régénérer. L'os peut par exemple se cicatrifier par régénération. Les tissus épithéliaux et endothéliaux sont aussi capables de se régénérer. La régénération est le principal mode de cicatrisation chez les amphibiens. Les plaies cutanées chez le fœtus ont aussi la particularité de se régénérer sans formation de cicatrice. Les cellules fœtales ne sont pas encore différenciées et gardent donc la capacité de se multiplier par mitose.

Malgré le potentiel de régénération de certains tissus comme l'épiderme, la plupart des plaies chez les mammifères domestiques cicatrisent suivant un mode de réparation avec la formation d'une cicatrice plus ou moins vasculaire et fibreuse qui réunit les bords de la plaie. Le résultat final est une cicatrice qui assure la restauration de la continuité de la peau ainsi que la majeure partie des fonctions qu'elle assurait avant le traumatisme. Avant que la cicatrisation ne soit complète, de nombreux phénomènes complexes se succèdent sur le plan clinique, cellulaire et moléculaire. L'étude des rôles spécifiques des différentes cellules lors de la cicatrisation a commencé en 1950 et continue encore aujourd'hui. Les avancées technologiques, notamment en matière de biologie moléculaire, ont permis une importante progression des connaissances au niveau moléculaire et cellulaire dans les 20 dernières années (Pavletic, 2010).

*Matériel et
méthodes*

1/ Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L*. Tout le matériel végétal sélectionné a été obtenu d'une source commerciale de la région de Constantine. Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, le matériel végétal de chacune des deux espèces est broyé grossièrement dans un moulin électrique.

2/ Méthode d'extraction

Le procédé d'extraction a été réalisé selon la méthode décrite par (Babero *et al.*, 2008 ; Ma *et al.*, 2009). Les poudres des plantes sélectionnées (100 g) ont été extraites par macération par (3x500 ml) de méthanol / eau (70/30) sous agitation magnétique. L'extraction est assistée par ultrasons (Fisher scientific fb 15046, Leicestershire, Angleterre) pendant 30 minutes à une température ambiante, avec renouvellement du solvant chaque 24h (pendant 3 jours). Les extraits combinés et filtrés sur papier filtre ont été concentrés dans un évaporateur rotatif sous vide à une température <40°C. Le résidu sec est repris par 100 ml d'eau distillée bouillante. Après une décantation de toute une nuit on récupère la phase limpide qui va subir un affrontement par l'éther de pétrole dans des ampoules à décanter. La phase aqueuse récupérée est évaporée à sec puis repris par 10 ml du méthanol, les extraits obtenus sont ensuite stockés à une basse température (-25°C) jusqu'à analyse.

3/ Caractérisation chimique des extraits

3.1/ Analyses qualitatives par screening phytochimique

Le criblage phytochimique est une analyse qualitative basé sur des réactions de précipitations ou de colorations. Ces dernières permettent de définir la présence ou l'absence de métabolite secondaire comme par exemple: alcaloïdes, quinones, flavonoïdes, saponines, tanins, stérols et sucres réducteurs dans les parties aériennes des plantes sélectionnées.

3.1.1/ Quinones libre

Un gramme de matériel végétal sec broyé est placé dans un tube sec avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. On applique une agitation et un repos de 24h, les extraits sont filtrés et concentrés au rota-vapeur. La présence de quinones libres, est confirmée par un virement de la phase aqueuse en jaune, rouge ou violet juste après l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/ 10 (Dohou *et al.*,2003).

3.1.2/ Alcaloïdes

Le test de screening des alcaloïdes fondé sur la capacité de combinaison des alcaloïdes avec les métaux lourds (Test de Mayer). L'extrait méthanolique est repris dans quelques ml d'HCl 50%, la formation d'un précipité jaune, après l'ajout de quelques gouttes de réactifs de Mayer, témoigne la présence d'alcaloïdes (Dohou *et al.*,2003).

3.1.3/ Tanins

La détection des tanins dans les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* a été faite selon la méthode au FeCl₃. A 1,5 g de matériel végétal sec sont additionnés 10 ml de MEOH 80 %. Après 15 min d'agitation, les extraits sont filtrés et met dans des tubes secs. L'ajoute de FeCl₃ à 1% permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins gallique et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiue (Dohou *et al.*,2003).

3.1.4/ Tanins vrais

L'addition de quelques gouttes d'HCl concentré à chaque extrait des plantes étudiées, repris dans l'eau distillée, suivi d'un chauffage au bain marie bouillant permet de détecter la présence ou non des tanins suite à la formation d'un précipité rouge (Dohou *et al.*,2003)..

3.1.5/ Saponines

La présence des saponines est déterminées par le test de la mousse, l'extrait repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduit dans un tube à essai et agité vigoureusement, la formation d'une mousse

(hauteur supérieure de 1 cm) stable persistant pendant 15 min , indique la présence de saponines (Dohou *et al.*,2003)..

3.1.6 Stérols et polyterpènes

La mise en évidence de ces noyaux terpéniques met à profil la réaction de Libermann. Le test consiste à faire dissoudre l'extrait dans 1ml d'anhydride acétique; 0,5ml d'acide sulfurique au triturât sont par la suite additionnés. L'apparition à l'interphase d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert confirme la présence des stérols (Dohou *et al.*,2003).

3.1.7/ Flavonoïdes

Le test de détermination des flavonoïdes consiste à faire dissoudre les extraits hydroalcooliques de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* dans 1ml d'HCl et de rajouter par la suite quelques copeaux de magnésium, l'apparition d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre confirme l'existence des flavonoïdes (Dohou *et al.*,2003)..

3.1.8/ Sucres Réducteurs

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence dans les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* par le réactif de Fehling. 5ml de l'extrait brut ont été rajoutés à 5ml de liqueurs de Fehling. après 2 à 3 min de chauffage au bain- marie à 70°C la formation d'une précipitation rouge brique indique une réaction positive (Dohou *et al.*,2003).

3.2/ Analyses quantitatives par spectrophotométrie (UV-Visible)

3.2.1/ Dosage des phénols totaux (PT)

La teneur en phénols totaux est déterminée par spectrophotométrie UV-Vis, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) lors de l'oxydation des phénols dans une solution alcaline en mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) qui se traduit par une coloration bleu foncé (Vuorela, 2005).

Pratiquement, 1 ml d'extrait aqueux est ajouté à 5 ml du réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois par de l'eau distillée. Une solution (4 ml) de carbonate de sodium Na_2CO_3 (0,7 M) est ensuite ajoutée. Après agitation les tubes ont été stockés à l'obscurité pendant 2 heures, après cette période l'absorbance est lue à 765 nm sur un appareil (Spectroscan 60DV UV/Vis spectrophotometer, Agilent Technologies). La teneur des phénols totaux est déterminée à partir d'une équation de régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage (voir annexe) établie avec l'acide gallique (0-0,1 mg/ml) et exprimée en milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g extrait) (Adesegun *et al.*, 2007).

La teneur des phénols totaux est calculée par la formule suivante :

$$T=C.V/M$$

T : représente le total des composés polyphénoliques (g Equivalent Acide Gallique/g d'extrait sec ; g GAE/g d'extrait)

C : concentration des phénols totaux, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml)

V : le volume de l'extrait (ml)

M : poids de l'extrait sec (g).

3.2.2/ Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes contenus dans les extraits des plantes étudiées sont estimés par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Ayoola *et al.*, 2008). Pratiquement, 1 ml d'une solution éthanolique d' AlCl_3 (2%) a été ajouté à 1 ml de chaque extrait aqueux des plantes étudiés. L'intensité de la couleur est mesurée à la longueur d'onde de 420 nm après 30 minutes d'incubation à une température ambiante (Spectroscan 60DV UV/Vis spectrophotometer, Agilent Technologies). Une gamme étalon (voir annexe) à base de quercétine (0-0,1 mg/ml) est également préparée dans les mêmes conditions. La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est exprimée en mg équivalents quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g extrait sec).

3.2.3/ Dosage des flavonols totaux

La quantification des flavonols a été réalisée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) additionné d'une solution d'acétate de sodium (Oyedemi *et al.*, 2010). Pratiquement, 2 ml d'une solution d' AlCl_3 (2%), et 3 ml d'une solution d'acétate de sodium (50g/l) sont ajoutées à 2 ml d'ELF. Les tubes à essais sont ensuite incubés à 20°C à l'obscurité pendant 2h et demi. l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 440 nm par spectrophotomètre UV-Vis (Spectroscan 60DV UV/Vis spectrophotometer, Agilent Technologies). Une gamme étalon de quercétine (0-0,1 mg/ml) a été préparée dans les mêmes conditions afin de quantifier la teneur des flavonols (voir annexe).

4/ Evaluation des activités biologiques

4.1/ Activité antioxydante au DPPH

Le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante des différents extraits en raison de sa capacité à produire des radicaux libres stables et la simplicité de l'analyse (Benhammou *et al.*, 2007). La présence des radicaux libres DPPH• dans la solution donne lieu à une coloration violette foncée à la longueur d'onde de 515 à 520 nm (Benhammou *et al.*, 2007). Les antioxydants réduisent le DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), par conséquent la couleur vire du violet vers le jaune (fig 14) (Thomas, 2011). Ainsi, l'intensité de la couleur violette est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu.

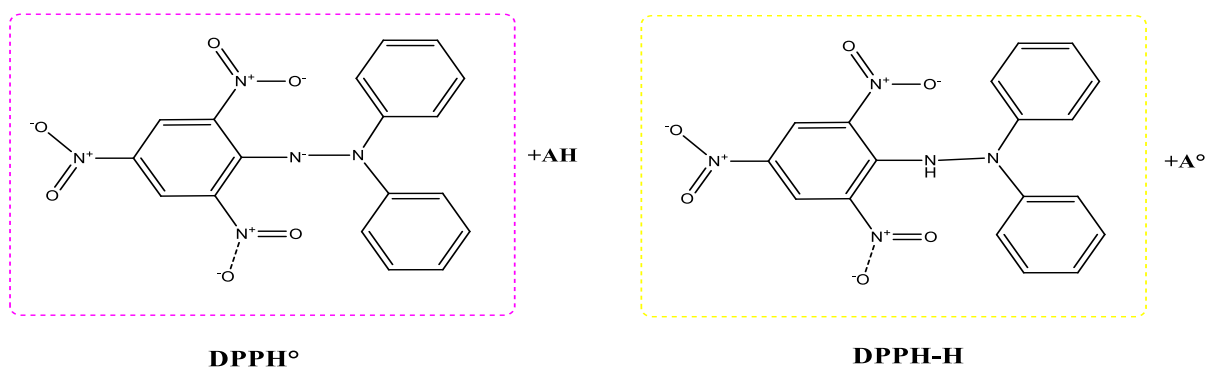


Figure 14: Mécanisme réactionnel entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) (Thomas, 2011)

L'effet de chaque extrait est mesuré par la procédure décrite par Blois. Pratiquement, 40 µl de différentes concentrations (100 à 1,5625 µg/mL) des extraits chaque dilution ont été ajoutés à 160 µl d'une solution méthanolique de DPPH• (10⁻³M) puis le mélange est laissé à l'obscurité à une température ambiante pendant 30 minutes. La lecture de l'absorbance de différentes solutions est effectuée à 517 nm dans un lecteur de microplaque à 96 puits (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France). Les résultats sont comparés au contrôle négatif (solution de DPPH• en absence de l'extrait). Le pourcentage d'inhibition de l'extrait est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition DPPH (I \%)} = [(A_0 - A_T) / A_0] * 100$$

A₀ : Absorbance du contrôle négatif (solution de DPPH• en absence de l'extrait)

A_T : Absorbance du test (solution du DPPH en présence de l'extrait)

Tous les tests sont répétés trois fois ($n=3$). Les valeurs des IC₅₀ (µg/ml) (signifiant les concentrations nécessaires des extraits pour piéger 50% des radicaux DPPH•) sont exprimées en moyennes ± écarts types. L'activité antioxydante des extraits est comparée au BHT et BHA (antioxydant de référence).

4.2/ Activité antioxydante à l'ABTS

La présente méthode est basée sur la capacité d'un antioxydant à réduire le radical cation ABTS^{•+} ou l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) en ABTS. Ce dernier est quantifié par spectrophotométrie entre 600 et 750 nm. L'oxydant ABTS^{•+} est un produit d'oxydation en présence de persulfate de potassium.

Pratiquement, un stock d'une solution mère d'ABTS (7 mM, pH= 7,4) est traité avec 2,5 mM de persulfate de potassium. Le mélange est laissé à une température ambiante, à l'obscurité pendant 16 h pour donner une coloration bleu verdâtre. La solution est ensuite diluée dans l'éthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0,7±0,02 à 734 nm.

Un volume (40 µl) de différentes concentrations de l'extrait (100 à 1,5625 µg/mL) est mélangé avec 160 µl de la solution d'ABTS fraîchement préparée. Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 734 nm (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France) Re et al. (1999). Le pourcentage d'inhibition des extraits est déduit de l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition}_{\text{ABTS}} (\text{I} \%) = [(A_0 - A_T) / A_0] * 100$$

A_0 : Absorbance du contrôle négatif (solution d'ABTS en absence de l'extrait)

A_T : Absorbance du test (solution d'ABTS en présence de l'extrait)

Tous les tests sont répétés trois fois ($n=3$). Les valeurs des IC_{50} (mg/ml) (signifiant les concentrations nécessaires des extraits pour piéger 50% des radicaux $ABTS^{+}$.) sont exprimées en moyennes \pm écarts types. L'activité antioxydante des extraits est comparée au BHT et BHA (antioxydants de référence).

4.3/ Capacité de réduction l'ion cuprique (CUPRAC)

Cette méthode de mesure de la capacité antioxydante, est basé sur l'évolution des caractéristiques d'absorption du complexe néocuproïne (NC) /cuivre (II) lorsqu'il est réduit par un antioxydant. Le potentiel de réduction de l'échantillon ou du standard convertit efficacement Cu^{+2} en Cu^{+1} . Pratiquement, le dosage est effectué dans plaques de 96 puits (Apak *et al.*, 2004), des solutions ont été ajoutées : 50 µl de Cu(II) (10 mM), 50 µl de néocuproïne (7.5 mM), 60 µl de tampon NH_4Ac (1 M, pH = 7), et 40 µl de l'extrait à différentes concentrations. Après une heure du temps et à l'aide d'un lecteur de microplaques, l'absorbance a été enregistrée à 450 nm (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France). Les résultats ont été calculés à titre de $A_{0.5}$ (µg/ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

Le pouvoir réducteur des extraits est comparé à celui de BHT et BHA. Le test est répété trois fois pour chaque concentration ($n=3$). Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes $A_{50} \pm$ écarts types.

4.4/ Capacité de réduction du radical galvinoxyl (GOR)

Le test GOR est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante des différents extraits en raison de sa capacité à produire des radicaux libres stables et la simplicité de l'analyse. Pour la quantification de l'effet antiradicalaire des extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L*, le radical libre galvinoxyle [2,6-di-tert-butyl-a-(3,5-ditert-butyl-4-oxo-2,5-cyclohexadiene-1-ylidene)-p-tolyloxy] a été utilisé.

L'effet de chaque extrait est mesuré par la procédure décrite par (Shi *et al.*, 2001). Pratiquement, 40 µl de différentes concentrations d'extrait (100 à 1,5625 µg/mL) sont ajoutés à 160 µl d'une solution méthanolique de galvinoxyl (0,1mM), le mélange est ensuite laissé à l'obscurité à une température ambiante pendant 120 minutes. La lecture de différentes solutions est effectuée à 428 nm (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France). Le pourcentage d'inhibition de l'extrait est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition GOR (I \%)} = [(A_0 - A_T) / A_0] * 100$$

A₀ : Absorbance du contrôle négatif (solution de galvinoxyl en absence de l'extrait)

A_T : Absorbance du test (solution du galvinoxyl en présence de l'extrait)

Tous les tests sont répétés trois fois ($n=3$). Les valeurs des IC₅₀ (µg/ml) (signifiant les concentrations nécessaires des extraits pour piéger 50% des radicaux de galvinoxyl) sont exprimées en moyennes ± écarts types. L'activité antioxydante des extraits est comparée au BHT et BHA (antioxydants de référence).

4.5/ Mesure de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase (AChE) est une protéine exprimée dans le système nerveux et sanguin appartenant à une famille d'enzyme qui catalyse l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine (ACh) en choline et en acide acétique. Le principal rôle biologique de l'acétylcholinestérase est la régulation de la transmission de l'influx nerveux en assurant l'hydrolyse rapide de l'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques centrales et périphériques, a fin de permettre aux neurones

cholinergiques de revenir à l'état de repos après leur activation par des influx nerveux. Chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, la concentration d'acétylcholine est diminuée, ce qui explique les troubles cognitifs observés. La solution pour augmenter le taux d'acétylcholine au niveau synaptique consiste alors à diminuer sa dégradation, ceci en inhibant l'action de l'acétylcholinestérase (Nourhashémi, 2006).

Expérimentalement, on utilise l'iodure d'acétylcholine (IATC) comme substrat de cet enzyme dont le produit de la réaction est la Thiocholine. L'activité de l'AChE est basée sur la réaction de la Thiocholine avec le 5,5'dithio-bis 2-nitrobenzoate (DTNB) qui donne le Thio- 2- N nitro-Benzoate (TNB) un composé jaune qui absorbe à 470 nm. L'absorbance du TNB mesurée à l'aide du spectrophotomètre est proportionnelle à l'activité enzymatique de l'Acétylcholinestérase. (Zengin *et al.*, 2014)

Le mélange réactionnel contient 150 µl de tampon phosphate 0,1M a pH=8.0, 10 µl d'extrait dissout dans l'éthanol aux différentes concentrations (6.25-400 µg/ml) et 20 µl d'AChE ($5.32 \cdot 10^{-3}$ U) ou BChE ($6.85 \cdot 10^{-3}$ U). Après incubation pendant 15 minutes à une température de 25°C, 10 µL de DTNB (0.5 mM) ont été additionnés à 10 µL d'acetylthiocholineiodide (0.71 mM) ou 10 µL de butyrylthiocholinechloride (0.2 mM). Le mélange est ensuite incubé à l'abri de la lumière à une température ambiante. L'absorbance est mesurée contre un blanc (éthanol avec tompan phosphate) à 412 nm (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France) pour 0 minutes (1 lecture), 5 minutes (2 lectures), 10 minutes (3 lectures) et 15 minutes (4 lectures). Le pourcentage d'inhibition d'AChE ou BChE est évaluée selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = (E - S) / E * 100$$

E : Activité de l'enzyme sans extrait

S : Activité de l'enzyme avec l'extrait

Tous les tests sont répétés trois fois ($n=3$). Les valeurs des IC_{50} (µg/ml) (signifiant les concentrations nécessaires des extraits pour piéger 50% d'AChE) sont exprimées en moyennes \pm écarts types. L'activité antioxydante des extraits est comparée au BHT et BHA (antioxydants de référence).

4.6/ Activité inhibitrice d'α amylase

Le principe de la méthode de détermination de l'activité de l'α amylase repose sur le dosage des sucres réducteurs libérés lors de l'hydrolyse de l'amidon par l'α amylase. Dans le but d'étudier l'activité inhibitrice de l'α amylase des extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L*, 25 µl d'extrait ont été additionnés à 50 µl d'une solution d'α amylase (1U), après une incubation de 10 min à 37 °C, 50 µl d'amidon 0.1% ont été rajoutés. La lecture a été effectuée à 630 nm (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France) (G. Zengin et al. 2014) après 10 minutes d'incubation à 37 °C et suite à l'addition de 25µl d'HCl (1M) et 100µl d'IKI. La capacité d'inhibition d'α amylase, exprimée en pourcentage (%), et calculée selon la formule suivante :

$$\%INH=1-[(A_c-A_e)-(A_s-A_b)/(A_c-A_e)]$$

A_c=Absorbance contrôle [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme]

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

A_s=Absorbance standard [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl]

A_b=Absorbance blanc [Extrait+IKI+125µl de tampon]

Tous les tests sont répétés trois fois ($n=3$). Les valeurs des IC₅₀ (µg/ml) sont exprimées en moyennes ± écarts types. L'activité antioxydante des extraits est comparée au BHT et BHA (antioxydants de référence).

4.7/ Evaluation de l'effet cicatrisant des extraits (test d'excision)

L'activité cicatrisante des extraits hydroalcooliques de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* a été évaluée sur des plaies pratiquées chez les lapins *albinos*, mâles de poids homogène selon des procédures décrites précédemment (Bensegueni *et al*, 2007 ; Farnood *et al*, 2012). Les animaux sont anesthésiés par une injection intramusculaire de chlorhydrate de kétamine à raison de 15 mg/kg, l'anesthésie est complétée par 5 mg/kg de diazépam localement sur le lieu d'excision. Un lambeau de peau de 20 mm environ est excisé (Bensegueni *et al*, 2007).

Un nombre de six plaies ont été pratiqués sur le même animal, chaque lapin reçoit un des traitements suivants :

- Extrait de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* à la dose de 500 mg.
- Une crème cicatrisante Cicatryl Bio® à la dose de 500 mg.

Un lapin avec plaies ou brûlures, sans traitement est utilisé comme contrôle.

Le pansement des plaies a été fait tous les jours en raison d'une application par jour avec une quantité précise des extraits testés et de pommade jusqu'à guérison complète.

Le pourcentage de cicatrisation des plaies d'excision des différents lots est calculé tous les trois jours, selon l'équation suivante :

$$\text{Contraction de la plaie (\%)} = [(T_i - T_j) / T_i] \times 100$$

T_i : taille de la plaie initiale

T_j : taille de la plaie du jour spécifique

Les moyennes de pourcentage de contraction des plaies sont données en valeurs moyennes ± écart types ($n=6$). La comparaison entre les groupes a été traitée par le test de *Tukey HSD*. La valeur $p < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative.

Résultats et discussion

1/Caractérisation chimique des extraits hydrométhanoliques

1.1/ Criblage phytochimique

Les résultats de l'analyse phytochimique des extraits méthanoliques des parties aériennes de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* sont décrits dans le tableau VII.

D'après les résultats présentés dans le tableauVII, les extraits des parties aériennes des deux plantes analysées contiennent les flavonoïdes, les stéroïdes, les quinones ; les sucres réducteurs ainsi que les saponines, ces derniers qui constituent les marqueurs les plus important chez *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L*. Ces résultats vont dans le même sens que les analyses réalisées par (Guignard *et al.*, 1995 ; Kassim *et al.*,2013), sur les extraits hydroalcooliques des extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L*, respectivement.

La présente étude nous a aussi révélé que l'extrait de *Rubus fruticosus L* est riche en alcaloïdes contrairement à l'extrait de *Teucrium polium L* dont sa non détection a été confirmée par la réaction de Mayer.

Tableau VII: Résultats du criblage phytochimique des extraits.

Groupe de métabolites	Extraits des plantes étudiées	
	<i>Teucrium polium L</i>	<i>Rubus fruticosus L</i>
Flavonoïdes	++	+++
Tanins condensés	+++	+++
Tanins hydrolysables	-	+++
Stéroïdes	+++	+++
Quinones	+++	++
Alcaloïdes	-	+++
Sucres réducteurs	+++	+++
Saponines	+++	+++

Présence notable (+++), présence modérée (++), traces (+), absence (-)

1.2/ Estimation des contenus en composés phénoliques dans les extraits

Les résultats de l'analyse quantitative des phénols totaux (PT), des flavonoïdes totaux (FT), des flavonols (FLT) sont exprimés dans le tableau VIII et la figure 15.

De la lecture des résultats illustrés dans le tableau VIII et la figure 15, on peut déduire que les taux des flavonoïdes totaux ($129.81 \pm 18.12 \text{ mg QE g}^{-1}$), et des flavonols totaux ($68.44 \pm 9.23 \text{ mg QE g}^{-1}$) de l'extrait de *Teucrium polium L* sont significativement plus importants que ceux de *Rubus fruticosus L*. Cependant, aucune différence significative n'a été observée pour la teneur en polyphénols totaux ($102.28 \pm 0.58 \text{ mg GAE g}^{-1}$).

Les travaux réalisés par (Djeridane *et al.*, 2006) rapportent des teneurs plus faibles en polyphénols, flavonoïdes et flavonols par rapport à celles obtenues dans notre étude, pour l'extrait de *Teucrium polium L*. Les différences observées dans les teneurs en métabolites secondaires, de la même espèce végétale, peuvent être attribuées à plusieurs raisons, notamment à des facteurs endogènes (génétiques) et exogènes (climatiques) (Rice-Evans *et al.*, 1994 ; Van Acker *et al* 1996 ; Bahorun *et al.*, 2004).

Tableau VIII : Estimation des contenus en composés phénoliques dans les extraits.

	Extraits des plantes sélectionnées	
	<i>Teucrium polium L</i>	<i>Rubus fruticosus L</i>
Phénols totaux (mg GAE/g)	102.28±0.58	78.59±0.85
Flavonoïdes totaux (mg QE/g)	129.81±18.12	54.74±9.54**
Flavonols (mg QE/g)	68.44±9.23	26.35±4.96*

mg GAE/g : mg d'acide gallique équivalent/ g d'extrait sec, **mg QE/g**: mg de quercétine équivalent/ g d'extrait sec, **mg*** : $p < 0.0001$, **mg**** : $p < 0.01$; valeurs comparées à *Teucrium polium L*

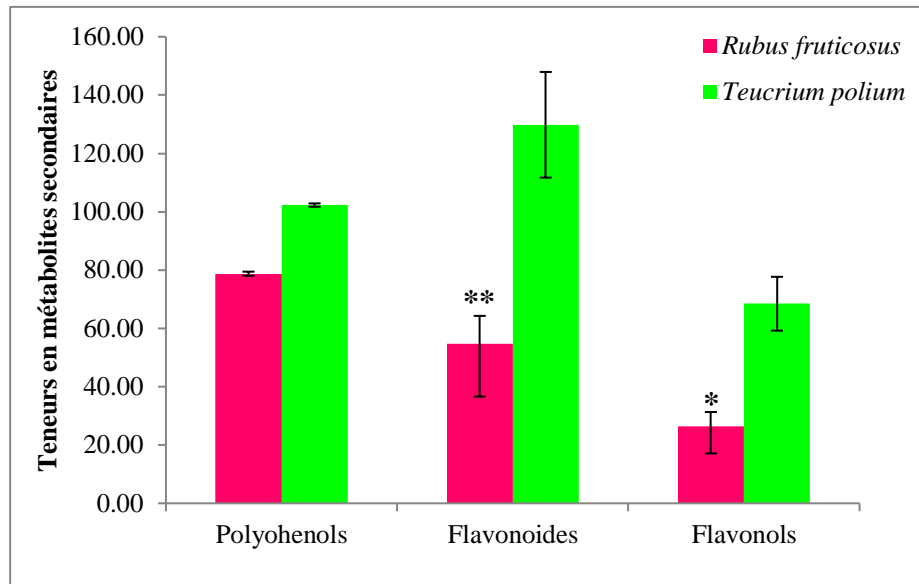


Figure 15 : Teneurs en polyphénols, flavonoides et flavonols dans les extraits.

3/ Evaluation des activités biologiques

3.1/ Activité antioxydante au DPPH

La cinétique de la réduction du radical libre DPPH par les extraits hydroalcooliques de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* ainsi que les concentrations inhibitrices IC₅₀ sont exprimés dans les figures 16 et 17, respectivement.

- Les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L*, le BHA et le BHT (standards antioxydants témoins) possèdent un pouvoir inhibiteur envers le radical DPPH;
- L'effet inhibiteur des extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L*, et les standards antioxydants témoins (BHA et BHT) est proportionnel aux doses utilisées ;
- L'extrait hydroalcoolique de *Teucrium polium L* a montré un pouvoir inhibiteur significativement supérieur ($p < 0,0001$) à celui observé pour l'extrait de *Rubus fruticosus L* ;
- L'extrait de *Teucrium polium L* se distingue par son effet inhibiteur vis-à-vis du DPPH significativement le plus élevé ($p < 0,0001$) par rapport à l'extrait de *Rubus fruticosus L* et par rapport au standard BHT ($p < 0,0001$) ;
- Un potentiel antioxydant de l'extrait de *Teucrium polium L* est jugé semblable par rapport à celui du témoin commercial BHA.

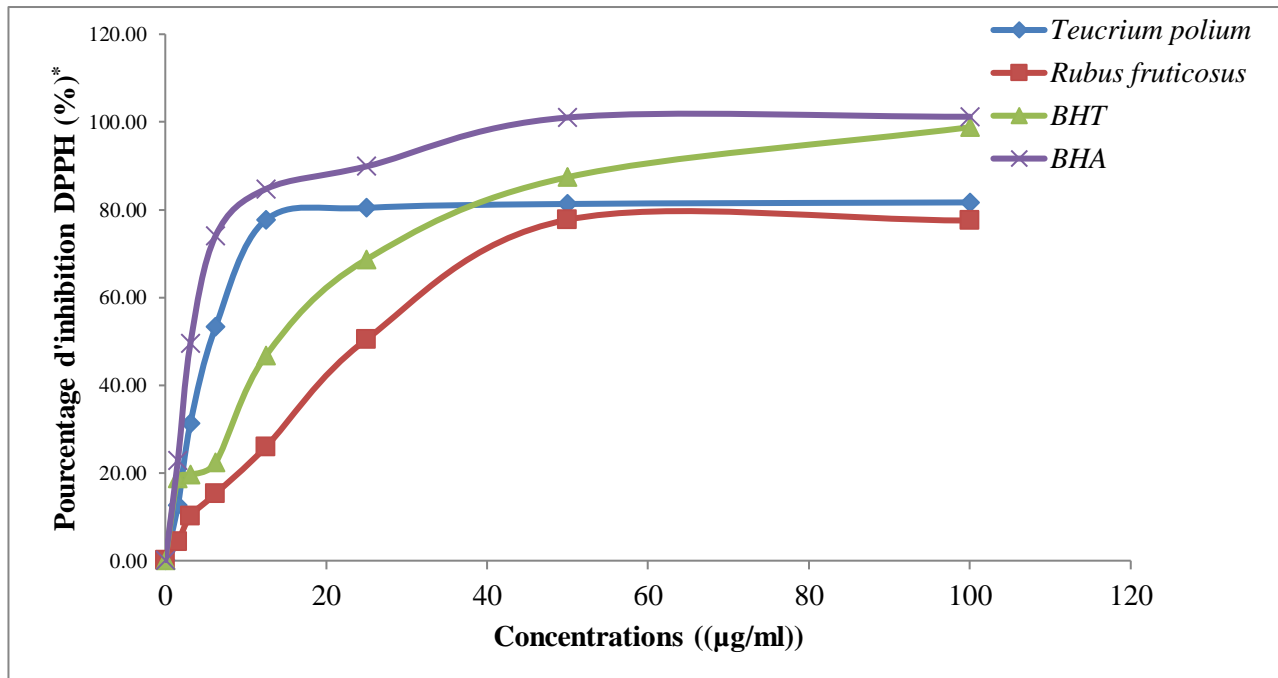
La figure 17 montre que :

- Le BHA possède un IC_{50} de $4,38 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$, jugé significativement inférieur ($p < 0,0001$) par rapport au BHT et ceux des autres extraits des plantes étudiées;
- Les valeurs des IC_{50} de *Rubus fruticosus L* ($28.92 \pm 0.78 \mu\text{g/ml}$) est largement supérieure ($p < 0,0001$) à celui de BHT ($19.15 \pm 3.59 \mu\text{g/ml}$), et l'extrait de *Teucrium polium L* ($4.84 \pm 0.09 \mu\text{g/ml}$) ;
- L'extrait de *Teucrium polium L* possède un IC_{50} équivalent à $4,84 \pm 0,09 \mu\text{g/ml}$, jugé identique et sans aucune différence significative par rapport à l' IC_{50} de BHA $4.38 \pm 0.21 \mu\text{g/ml}$;
- La valeur d' IC_{50} d'extrait de *Teucrium polium L* ($4.84 \pm 0.09 \mu\text{g/ml}$) est significativement faible ($p < 0,0001$) par rapport à celui de *Rubus fruticosus L* ($28.92 \pm 0.78 \mu\text{g/ml}$) et BHT ($19.15 \pm 3.59 \mu\text{g/ml}$).

D'après les résultats exprimés en dessus, l'extrait de *Teucrium polium L* a présenté un pouvoir antiradicalaire vis-à-vis du DPPH relativement important par rapport à celui de *Rubus fruticosus L* et de BHT (standard antioxydant), et faiblement moins important que celui de BHA (standard antioxydant).

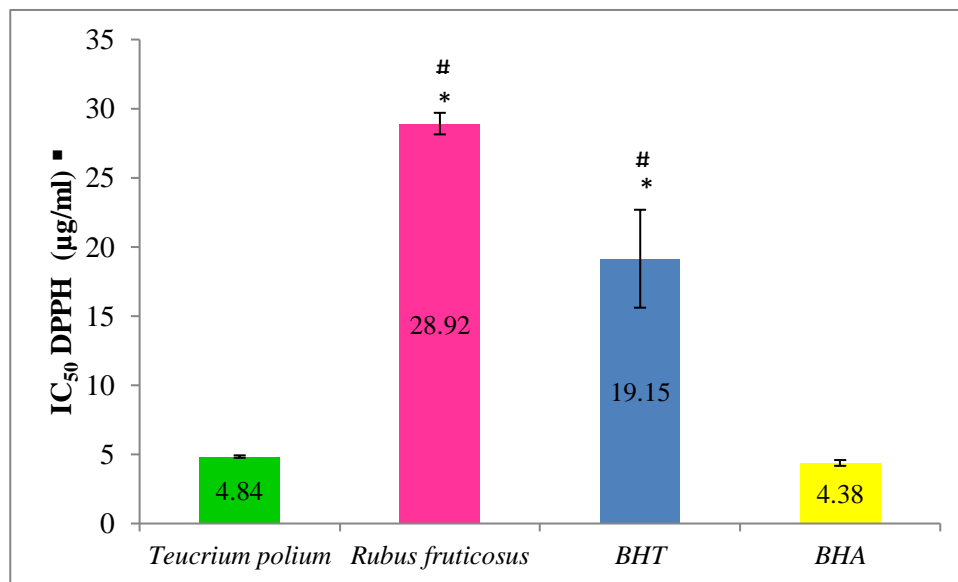
En général, il ressort des résultats de la méthode de DPPH que l'activité antioxydante (exprimés à travers les IC_{50}) est proportionnelle à la teneur en phénols totaux notamment en flavonoïdes, et en flavonols. Ce qui indique que probablement ces groupes de produits naturels pourraient être associés à cette activité, comme suggéré par d'autres auteurs (Shaeififar *et al.*, 2009).

Les travaux de (Asnaashari *et al.*, 2015) rapportent des IC_{50} avec des valeurs qui décrivent un pouvoir antiradicalaire important vis-à-vis du DPPH par rapport à celles obtenues dans notre étude. Les différences observées dans les valeurs des IC_{50} peuvent être attribuées à plusieurs raisons, notamment à la variation dans la composition chimique d'une plante qui est tributaire des facteurs génétiques et environnementaux (Abou Elella *et al.*, 2014).



*valeurs moyennes d'inhibition de DPPH \pm SD ($n=3$).

Figure 16: Evolution du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations des extraits et des standards.



▪ Valeurs moyennes d'IC₅₀ \pm SD ($n=3$). * : $p < 0,0001$; valeurs comparées au *Teucrium polium* L.

: $p < 0,0001$; valeurs comparées au BHA.

Figure 17 : Valeurs des IC₅₀ (DPPH) des extraits et des standards.

3.2/ Activité antioxydante à l'ABTS

La cinétique de la réduction du radical ABTS•+ par les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* ainsi que les concentrations inhibitrices IC₅₀ sont exprimés dans les figures 18 et 19, respectivement.

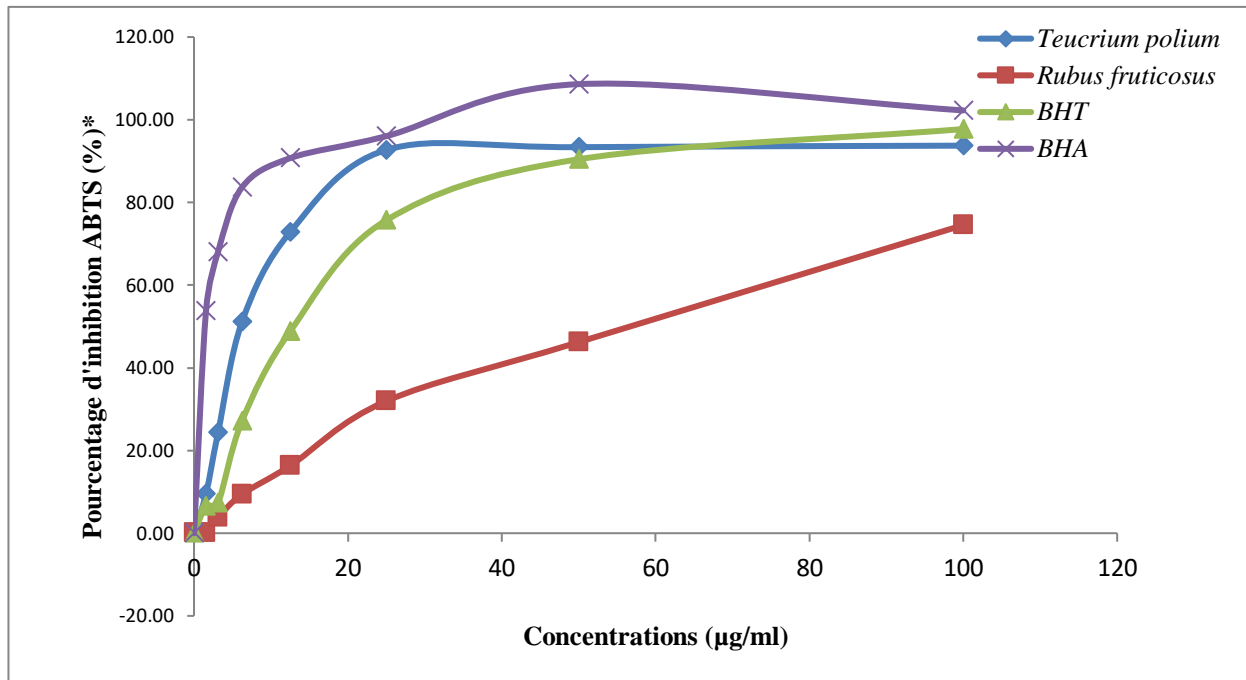
La lecture des courbes des cinétiques de l'inhibition du radical ABTS•+ (figure 18, 19) montre que :

- Les extraits de *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L*, le BHT et le BHA (standards antioxydants témoins) possèdent un pouvoir inhibiteur envers le radical ABTS•+;
- L'effet inhibiteur des extraits et des standards témoins (BHT et BHA) est proportionnel aux doses utilisées ;
- L'extrait de *Teucrium polium L* se distingue de l'autre extrait de *Rubus fruticosus L* par son effet significativement inhibiteur ($p < 0,0001$) vis-à-vis du radical ABTS.

La figure 19 montre que :

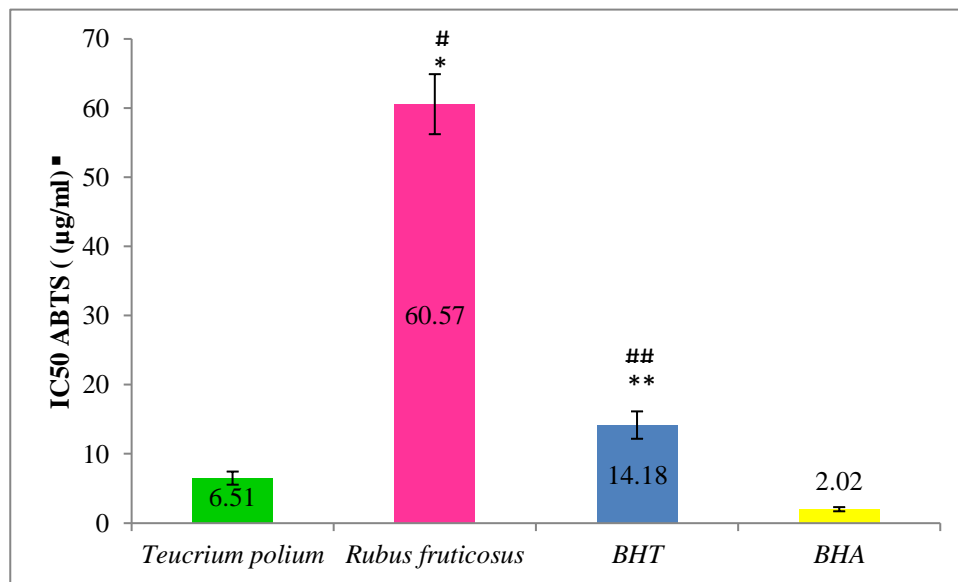
- Le BHA possède un IC₅₀ de 2.02 ± 0.3 µg/ml, jugé significativement inférieur ($p < 0,01$) par rapport à ceux de BHT et des extraits testés ;
- La valeur d'IC₅₀ d'extrait de *Teucrium polium L* ($6,51 \pm 0.95$ µg/ml) est largement inférieure ($p < 0,0001$) à celles de *Rubus fruticosus L* ($60,57 \pm 4.34$ µg/ml).

Ces résultats sont en accord avec les travaux de (Wojdyła *et al.*, 2007) qui ont prouvé que l'effet piègeur de l'extrait de *Rubus fruticosus L* s'avère moins actif vis-à-vis du radical cationique ABTS•+. L'extrait de *Teucrium polium L* a révélé des valeurs d'IC₅₀ importantes, avec toutefois un pouvoir antioxydant largement supérieur par rapport à celui de *Rubus fruticosus L* ($p < 0,0001$).



*valeurs moyennes d'inhibition d'ABTS \pm SD ($n=3$).

Figure 18: Evolution du pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations des extraits et des standards.



▪ Valeurs moyennes d'IC₅₀ \pm SD ($n=3$). * : $p<0,0001$, ** : $p<0,05$; valeurs comparées au *Teucrium polium*
L. # : $p<0,0001$, ## : $p<0,01$; valeurs comparées au BHA.

Figure19 : Valeurs des IC₅₀ (ABTS) des extraits et des standards.

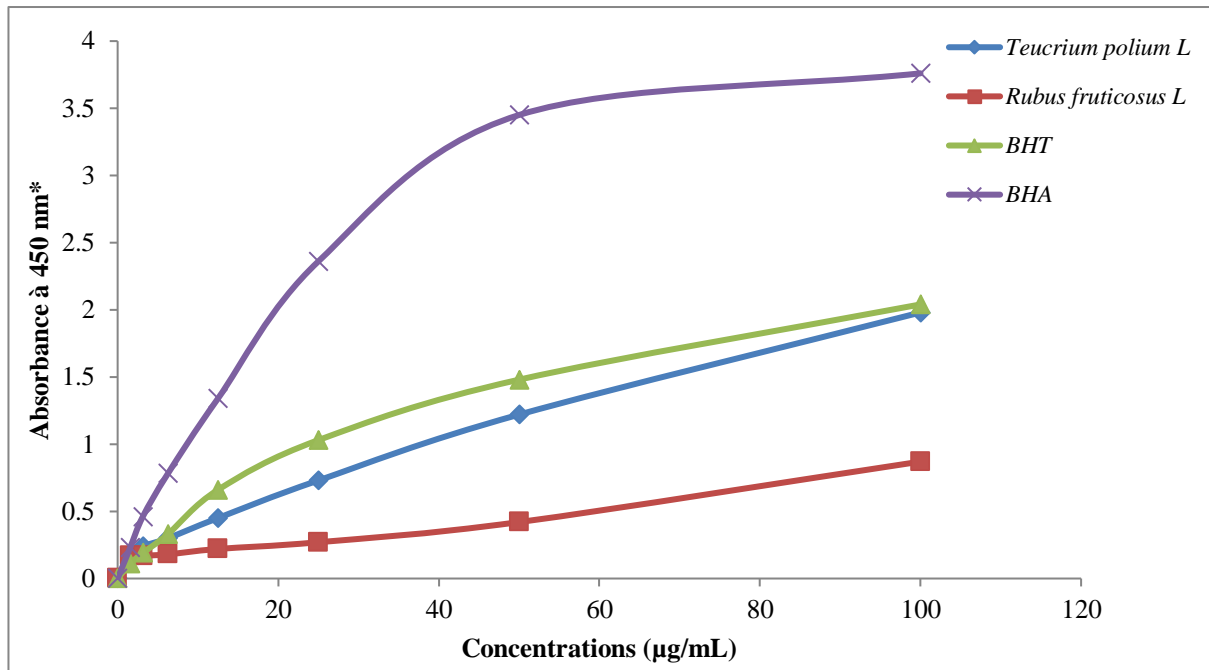
3.3/ Capacité de réduction l'ion cuprique (CUPRAC)

La cinétique de la réduction de Cu^{+2} en Cu^{+1} par les extraits de *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L*, le BHT (standard antioxydant témoins) et le BHA (standard antioxydant témoins) ainsi que les concentrations inhibitrices IC_{50} sont exprimés dans les figures 20 et 21, respectivement.

La lecture des courbes des cinétiques de réduction de Cu^{+2} en Cu^{+1} (figure 20) montre que :

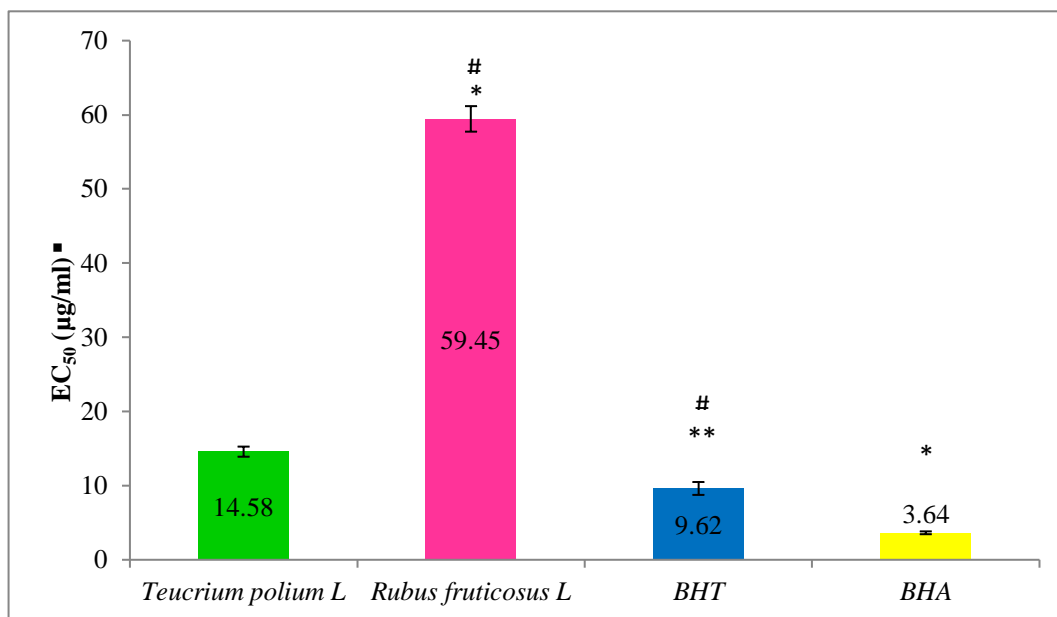
- Les extraits de *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L*, le BHT (standard antioxydant témoins) et le BHA (standard antioxydant témoins) possèdent un pouvoir réducteur de Cu^{+2} en Cu^{+1} ;
- L'effet réducteur des extraits et des standards antioxydants témoins est proportionnel aux doses utilisées ;
- L'extrait de *Teucrium polium L* ($\text{EC}_{50}= 14.58\pm 0.68 \mu\text{g/ml}$) se distingue de l'autre extrait de *Rubus fruticosus L* par son effet réducteur significativement ($p<0,0001$) supérieur ;
- Un pouvoir réducteur faible ($\text{EC}_{50}= 59.45\pm 1.72 \mu\text{g/ml}$) est observé pour l'extrait de *Rubus fruticosus*.

L'extrait de *Teucrium polium L* a enregistré le pouvoir réducteur le plus important, dont l'extrait de *Rubus fruticosus L* a donné l'effet réducteur le plus faible ($\text{EC}_{50}=59.45\pm 1.72 \mu\text{g/ml}$). Les standards antioxydants témoins (BHT et BHA) se sont montrés plus réducteurs que les extraits des plantes étudiées ($\text{EC}_{50}=9.62\pm 0.87$ et $3.64\pm 0.19 \mu\text{g/ml}$, respectivement).



*valeurs moyennes d'absorbance \pm SD (n=3).

Figure 20: Cinétique de réduction du Cu^{+2} en Cu^{+1} par les extraits et les standards antioxydants.



■ Valeurs moyennes d'EC₅₀ \pm SD (n=3). * : $p < 0,0001$, ** : $p < 0,01$; valeurs comparées au *Teucrium polium L*.

: $p < 0,0001$ valeurs comparées au BHA.

Figure21 : Valeurs des EC₅₀ (CUPRAC) des extraits et des standards.

3.4/ Activité antioxydante aua radical galvinoxyl (GOR)

La cinétique d'évolution du pourcentage d'inhibition du radical galvinoxyl (GOR) en présence des extraits de *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L*, le BHT (standard antioxydant témoins) et le BHA (standard antioxydant témoins) est décrite dans la figure 22. Les Concentrations inhibitrices à 50% (IC₅₀) (µg/ mL) des extraits testés et des standards sont exposées dans la figure 23.

La lecture des courbes des cinétiques d'inhibition du radical glavoxyl (GOR) ainsi que les IC₅₀ des extraits et des standards (figures 22 et 23) montrent que :

-Les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* et les standards antioxydants témoins (BHT et BHA) possèdent un pouvoir inhibiteur envers le radical glavoxyl (GOR) ;

-L'effet inhibiteur des extraits testés et des standards est proportionnel aux doses utilisées ;

-Le potentiel antioxydant de BHA n'a montré aucune différence par rapport l'extrait de *Teucrium polium L*, mais il est significativement supérieur ($p < 0,0001$) par rapport à celui de l'extrait de *Rubus fruticosus L* ($p < 0,0001$) et de BHT ;

-L'extrait de *Teucrium polium L* a montré un pouvoir inhibiteur (IC₅₀=5.67±0.58 µg/ml) significativement supérieur ($p < 0,0001$) par rapport à celui observé pour l'extrait de *Rubus fruticosus L* (IC₅₀=34.79±0.65 µg/ml) ;

-Un pouvoir inhibiteur faible est observé pour l'extrait de *Rubus fruticosus L* (IC₅₀=34.79±0.65 µg/ml).

On déduit de ces résultats que l'extrait de *Teucrium polium L* exprime un caractère antioxydant appréciable vis-à-vis du radical glavoxyl (GOR). Le test GOR est une méthode très récente d'estimation du pouvoir inhibiteur du radical galvinoxyl (GOR) des extraits, dont notre travail sur les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* est considéré parmi les premières études réalisées pour la détermination de leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis du radical galvinoxyl (GOR). De ce qui précède, il peut être conclu qu'il n'y a pas d'études préalables d'estimation du pouvoir inhibiteur GOR sur les espèces étudiées de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L*.

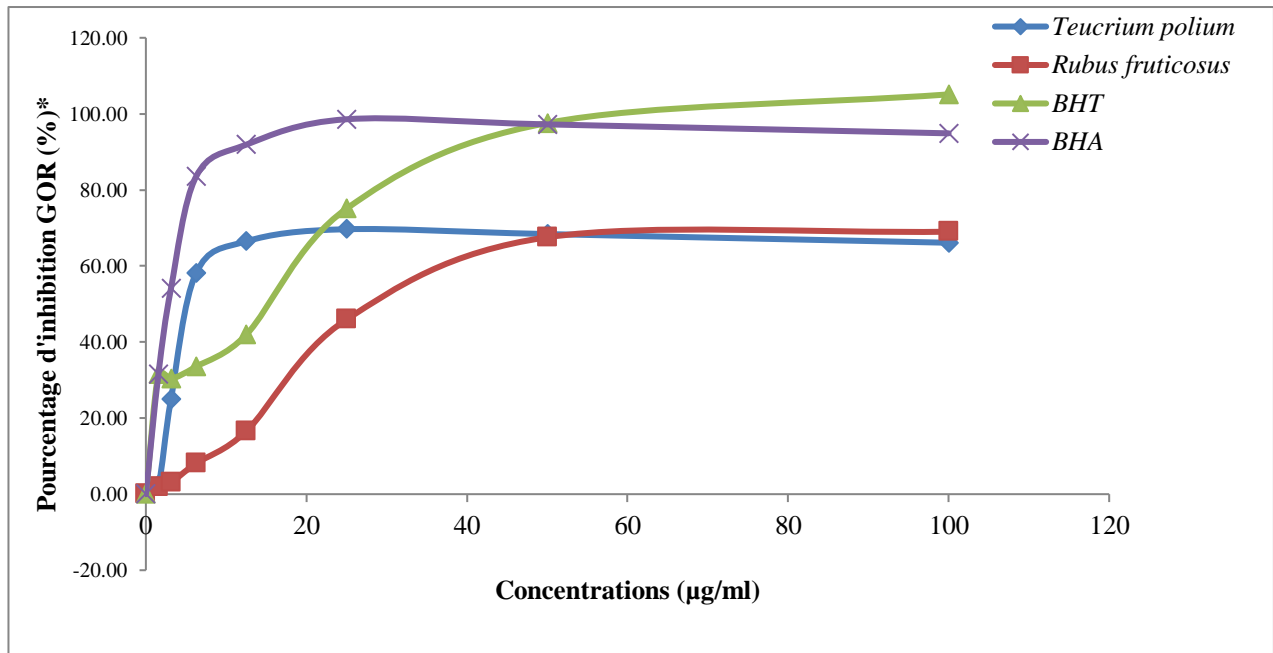
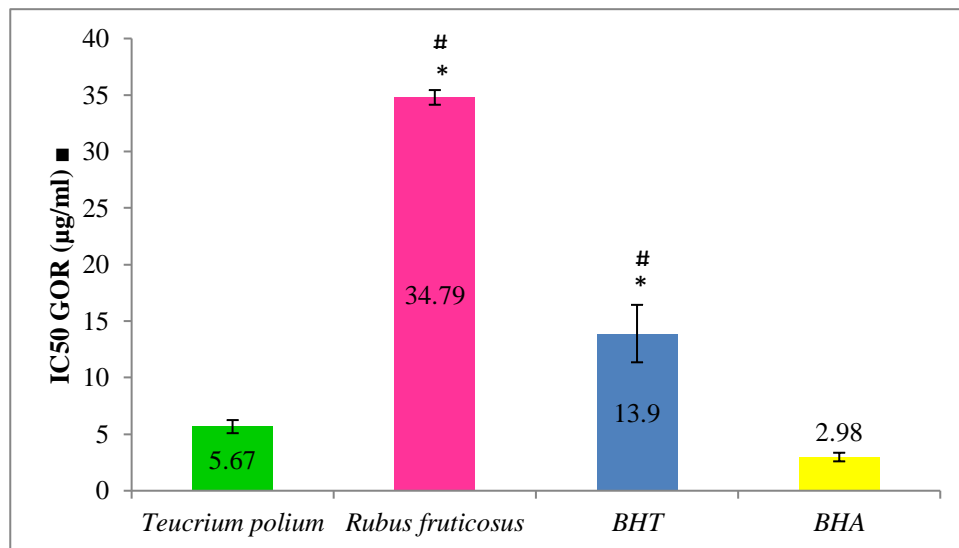


Figure 22: Evolution du pourcentage d'inhibition du radical glavoxyyl (GOR) en fonction des concentrations des extraits et des standards.



■ Valeurs moyennes d'IC₅₀±SD (n=3). * : p<0,0001; valeurs comparées au *Teucrium polium* L.

: p<0,0001 ; valeurs comparées au BHA.

Figure 23 : Valeurs des IC₅₀ (GOR) des extraits et des standards.

3.5/ Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) et d' α amylase

Le pouvoir inhibiteur de l'acétylcholinestérase et α amylase en présence des extraits *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L* est présenté dans les tableaux IX, respectivement.

En se référant aux valeurs établies dans les tableaux IX ET X représentatifs des pourcentages d'inhibition de l'acétylcholinestérase et d' α amylase en présence des extraits de *Teucrium polium L*, et *Rubus fruticosus L*, on peut déduire que les extraits des plantes étudiées n'ont pas d'effet inhibiteur vis-à-vis de l'acétylcholinestérase et d' α amylase. En l'absence des études précédentes, on peut souligner que les extraits de *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L* n'ont pas d'effet sur les maladies d'Alzheimer et de diabète.

Tableau IX : Pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase en présence des extraits

Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)	Pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) (%)	
	<i>Teucrium polium L</i>	<i>Rubus fruticosus L</i>
400	-405,18 \pm 17,34	-587,80 \pm 58,49
200	-604,81 \pm 26,02	-726,43 \pm 52,16
100	-578,93 \pm 57,83	-863,22 \pm 145,85
50	-699,08 \pm 18,96	-717,19 \pm 49,50
25	-622,18 \pm 71,63	-793,35 \pm 31,88
12.5	-781,89 \pm 132,92	-825,51 \pm 140,03
6.25	-731,24 \pm 64,71	-777,82 \pm 73,38

Tableau X : Pourcentage d'inhibition d' α amylase en présence des extraits

Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)	Pourcentage d'inhibition d' α amylase (%)	
	<i>Teucrium polium L</i>	<i>Rubus fruticosus L</i>
400	-405,18 \pm 17,34	-587,80 \pm 58.49
200	-604,81 \pm 26.02	-726,43 \pm 52.16
100	-578,93 \pm 57.83	-863,22 \pm 145.85
50	-699,08 \pm 18.96	-717,19 \pm 49.50
25	-622,18 \pm 71.63	-793,35 \pm 31.88
12.5	-781,89 \pm 132.92	-825,51 \pm 140.03
6.25	-731,24 \pm 64.71	-777,82 \pm 3.38

3.6/ Evaluation de l'effet cicatrisant des extraits

Les extraits de *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L* ont fait l'objet d'une évaluation de leur activité cicatrisante sur des plaies d'excision pratiqués sur des lapins Néo-zélandais. L'effet des extraits est comparé par rapport à une pommade cicatrisante commerciale (Cicatryl®).

Les résultats obtenus de l'évolution de la cicatrisation des plaies d'excision, après application journalière des extraits, sont exprimés dans la tableau XI et XII.


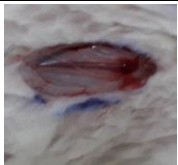


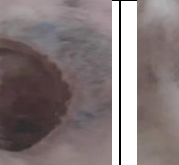


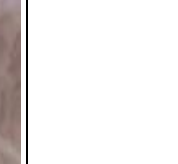
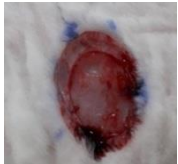


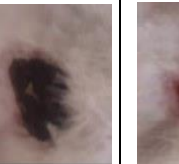



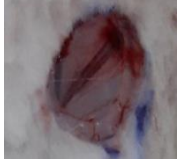
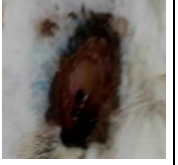

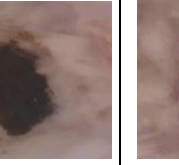
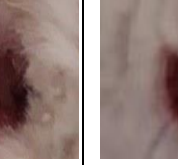


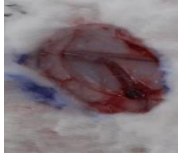



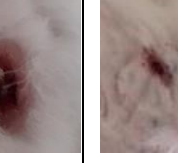


Progression de la contraction des plaies d'excision en fonction des jours							
							
	Jour 0	Jour 3	Jour 6	Jour 9	Jour 12	Jour 15	Jour 18
Contrôle Physiologique							
Extrait de <i>Teucrium polium L</i>							
Extrait de <i>Rubus fruticosus L</i>							
Cicatryl®							

Figure 24: Chronologie de la cicatrisation des plaies d'excision traitées et non traitées (contrôle) chez le lapin.

Il ressort de la lecture du tableau XI et XII que :

-Les groupes traités par les deux extraits de *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L* montrent une contraction des plaies significativement plus rapide (à J3, J6 et J9) que celle observée dans le groupe contrôle ;

-A l'exception des jours 12, 15 et 18, les groupes traités par les extraits de *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L* montrent une progression de la cicatrisation significativement plus rapide que celle observée pour le groupe témoin traité par Cicatryl[®] ;

-Sur toute la période (J12→J18) les groupes traités par les extraits de *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L* ne montrent aucune différence de cicatrisation par rapport au contrôle et au lot traité par Cicatryl pendant la période allant de J3 au J9, ceci est interprété par une diminution de la phase inflammatoire, une favorisation de la contraction des plaies et une réduction de la période d'épithélialisation. Le mécanisme d'action peut être affecté par certaines substances bioactives ayant un effet cicatrisant et doués d'un potentiel antioxydant. Selon (Palmeri *et al.*, 1995) les antioxydants qui réduisent les radicaux libres sont capables d'empêcher la dépréciation au niveau cellulaire par inhibition de l'inflammation qui conduit à l'appauvrissement de collagène, en offrant ainsi une protection contre les dommages de la peau. Aucune des plantes étudiées n'a fait l'objet d'une évaluation de leur potentiel cicatrisant. A la lecture des résultats de l'évolution de la cicatrisation des plaies d'excision, il peut être observé que les extraits de *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L* présentent un effet cicatrisant significativement supérieur.

Tableau XII: Evolution de la contraction des plaies d'excision chez le lapin traité et non traité.

		Contraction des plaies d'excision exprimée en % ^Δ					
Groupe	Affectation	Jour 3	Jour 6	Jour 9	Jour 12	Jour 15	Jour 18
I	Contrôle	0.00±	3.67±	24.83±	41.55±	51.98±	92.84±
		0.00	3.26	5.70	9.47	14.52	7.17
II	Extrait de <i>Teucrium polium</i>	28.41±	46.91±	61.09±	78.02±	80.69±	96.77±
		4.13 ^{#§}	8.04 ^{#■}	2.55 ^{##■■}	5.26	5.73	1.08
III	Extrait de <i>Rubus fruticosus L</i>	14.76±	40.24±	43.97±	66.19±	82.86±	92.70±
		1.72 ^{#■}	4.01 ^{##■■}	13.44	14.66	7.13	3.34
IV	Cicatryl [®]	0.00±	16.71±	28.49±	49.92±	62.53±	91.67±
		0.00	4.48	6.35	16.68	26.98	11.27

^Δ Valeur moyenne ± écart type (n=3) ; [#] p<0,0001, ^{##} p<0,01 vs contrôle ; [■] p<0,0001, ^{■■} p<0,01, ^{■■■} p<0,05 vs Cicatryl[®] ; [§] p<0,01 vs *Rubus fruticosus L*.

Conclusion

Conclusion générale

Le travail que nous avons entrepris a pour objectif principal la valorisation de deux plantes de l'est Algérien largement utilisées dans la médecine traditionnelle ; *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L*. Elles étaient choisies parmi les espèces les moins étudiées tout en prenant en considération leur caractère endémique.

Sur le volet phytochimique, l'analyse qualitative par screening phytochimique a révélé la richesse des extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* en composés phénoliques, notamment en flavonoïdes. L'analyse quantitative montre que les taux des phénols totaux, flavonoïdes et flavonols totaux des extraits sont significativement important. A travers cette analyse phytochimique, il peut être conclu que l'extrait hydroalcoolique de *Teucrium polium L* s'est révélé relativement riche en composés phénoliques, par rapport à l'extrait de *Rubus fruticosus L*, qui pourrait constituer une source potentielle d'antioxydants.

Sur le volet biopharmacologique plusieurs activités ont été étudiées, à savoir les activités antioxydante, anti-enzymatique et cicatrisante. L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant les différents essais (DPPH[•], ABTS^{•+}, CUPRAC et GOR) a montré que le potentiel inhibiteur envers les radicaux libres de l'extrait hydroalcoolique de *Teucrium polium L* est le plus important comparé à l'extrait de *Rubus fruticosus L*. Ceci peut être corrélé avec sa teneur élevée en différents groupes de composés phénoliques, comme révélée par les précédentes analyses phytochimiques.

Les extraits des plantes étudiées n'ont révélé aucun des effets anti-enzymatiques inhibiteur vis-à-vis de l'acétylcholinestérase et d' α amylase. On peut souligner d'après les résultats de la présente étude que les extraits de *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L* n'ont pas d'effet sur les maladies d'Alzheimer et de diabète.

Au regard du potentiel antiradicalaire important, Les extraits des plantes étudiées ont été sélectionnés pour subir une évaluation de leur activités cicatrisante sur des plaies d'excision pratiquées sur des lapins Néo-zélandais. Les résultats de l'évaluation de l'activité cicatrisante chez le lapin ont montré que les extraits de *Teucrium polium L*, et *Rubus fruticosus L* présentent un effet cicatrisant significativement supérieur pendant la période allant de J3 au J9, ceci est interprété par une diminution de la phase inflammatoire, une favorisation de la contraction des plaies et une réduction de la période d'épithélialisation.

En conclusion, cette étude nous a permis,

-Sur le volet chimique :

D'établir la richesse des extraits de *Teucrium polium L*, et *Rubus fruticosus* en composés phénoliques particulièrement l'extrait de *Teucrium polium L* ; ce dernier pourrait être exploité comme source potentiel d'antioxydant.

-Sur le volet pharmacologique :

Les évaluations expérimentales *in vitro* sur des biotests normalisés (DPPH[•], ABTS^{•+}, CUPRAC, GOR) a permis de mettre en évidence un potentiel antiradicalaire pour les deux extraits. Ceci est particulièrement notable pour l'extrait de *Teucrium polium L*. Les extraits de *Teucrium polium L*, et *Rubus fruticosus L* se sont par ailleurs, révélés doués d'un effet cicatrisant sur des modèles animaux mais sans aucun effet anti-enzymatique vis-à-vis de l'acétylcholinestérase et d' α amylase.

En perspective, il serait intéressant d'approfondir les investigations phytochimiques, toxicologiques et biologiques des extraits de *Teucrium polium L*, et *Rubus fruticosus L* afin de s'assurer de leur innocuité, de mettre en évidence d'autres activités bénéfiques pour la santé et de caractériser leurs principes actifs. Ces travaux complémentaires permettront éventuellement une phytostandardisation ultérieure, critère indispensable à la valorisation industrielle de ces produits en tant que compléments alimentaires à allégation de santé.

*Références
bibliographiques*

1. **Abdollahi A., Karimpour H. & Monsef-Esfehani H.** (2003). Antinociceptive effects of *Teucrium polium L.* total extract and essential oil in mouse writhing test. *Pharmacology Research*. 48: 31-35.
2. **Abou-Elella F.M. & Farouk Mohammed Ali R.** (2014). Antioxidant and anticancer activities of different constituents extracted from Egyptian prickly pear cactus (*Opuntia ficus indica*) peel. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*. 3(2): 1-9.
3. **Adesegun S.A., Fajana A., Orabueze C.I & Coker H.A.B.** (2007). Evaluation of antioxidant Properties of *Phaulopsis Fascisepsepala CBCI* (Acanthaceae). *Oxford Journal*. 6: 227-213.
4. **Aguilera C.A., Augur C., Prado B.L.A., Favela T.E. & Aguilar C.N.** (2008). Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied Microbiological Biotechnology*. 78: 189-199.
5. **Alcaraz L.E., Blanco S.E., Puig O.N., Tomas F. & Ferretti F.H.** (2000). Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. *Journal of Theoretical Biology*. 205: 231-240.
6. **Al-Majedy Y., Al-Amiery A., Kadhum A.A; Mohamad A.B.** (2017). Antioxidant Activity of Coumarins. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 8(1):24-30.
7. **Al-Mamary M., Al-Meeri A. & Al-Haboui M.** (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*. 22: 1041-1047.
8. **Apak R., Guclu K., Ozyurek M., & Karademir S.E.** (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 7970–7981.
9. **Asnaashari M., Bigom-Taheri J., Mehdipoor M., Bakhshi M. & Azari-Marhabi, S.** (2014). Posthaste Outgrow of Lip *Pyogenic Granuloma* after Diode Laser Removal. *Journal of Lasers in Medical Sciences*. 5(2), 92-95.
10. **Ayoola G.A., Coker H.A.B., Adesegun S.A., ADepeju-Bello K.O., Ezennia E.C & Atangbayila T.O.** (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. *Tropical journal of pharmaceutical research*. 7(3): 1019-1024.

11. **Babero G.F., Liazid A., Palma M. & Barroso C.G.** (2008). Ultrasound assisted extraction of Capsaicinoids from peppers. *Talanta*. 75(5): 1332-1337.
12. **Bahorun T., Luximon-Ramma A., Crozier A. & Aruoma O.I.** (2004). Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84:1553–1561.
13. **Benhammou N., Atik Bekkara F and Panovska K.T.** (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* Desf. *Advanced in food science*. 29(3): 155-167.
14. **Bensegueni A., Belkhiri A., Boulebda N. & Keck G.** (2007). Evaluation de l'activité cicatrisante d'un onguent traditionnel de la région de Constantine sur les plaies d'excision chez le rat. *Science et technologie*. 83-87.
15. **Bock.** (2013). Tela Botanica : Base de données Nomenclature de la flore en France. BDNFF. 4p.
16. **Boros B., Jakabova Dornyei A., Horvath G., Pluhare Z., Kilar F. & Felingera A.** (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–massspectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*. 1217: 7972–7980.
17. **Boullard B.** (2003). Plantes médicinales du monde : réalités et croyances. Paris. 1092-1107.
18. **Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S. & McAnalley B.** (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyco.Science & Nutrition*. 4(6) : 7.
19. **Bruneton J.** (1999). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. *Edition Technique et documentation*.
20. **Bruzzese E., Mahr E. & Faithfull I.** (2000). Blackberry, *Rubus fruticosus* aggregate, best practice management guide for environmental weeds. Ed. CRC for weed Management Systems. 7.
21. **Dehghani F., Khozani T.T., Panjehshahin M.R., & Karbalaedoost S.** (2005). Effect of *Teucrium polium* on histology and histochemistry in rat stomach. *Indian Journal of Gastroenterology*. 24:126-127.

22. **Dellai A., Souissi H., Borgi W., Bouraoui A. & Chouchane N.** (2013). Anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus L.* *Industrial crops and products.* 49 : 879-882.
23. **Djeridane A., Yousfi M., Nedjmi D., Boutassouna D., Stocker P. & Vidal N.** (2006). Antioxydant activity of some medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry.* 97: 654-660.
24. **Dohou N., Yamni K., Griman & Idrissi Hassani L.M.** (2003). Etude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro Marocaine, *Thymelaea lychooides.* *Acta Botanica Malacitana.* 233-239.
25. **Edenharder R & Grünhage D.** (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumenehydroperoxide in *Salmonella typhimurium*TA102. *Mutation Research.* 540: 1–18.
26. **Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. & Featherston R.M.** (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemistry and Pharmacology.* 7: 88–95.
27. **Esmaeili M. A. & Yazdanparast R.** (2004). Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets. *Journal Ethnopharmacology.* 95, 27-30.
28. **Farnood Shokouhi S.J., Tajik H & Mojtaba H.** (2012). Efficacy of topical application of alcoholic extract of yarrow in the healing process of experimental burn wounds in rabbit. *Comparative Clinical Pathology.* 177-181.
29. **Favier A.** (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique Review. L'actualité chimique. Novembre. 108-115.
30. **Florence B.** (2016). Stress oxydant et pathologie diabétique : impact de l'hyperglycémie et de l'albumine glyquée sur les cellules cardiaques et adipeuses. Thèse de doctorat en médecine humaine et pathologie. Université de la Réunion.
31. **Floss H.G.** (1997). Natural products derived from unusual variants of the shikimate pathway. *Natural product reports.* 14: 433-434.
32. **Guignard J.L., Cosson L. & Henry H.** (1995). Abrégé de phytochimie. Hasson edition. 224.

33. **Hasani P., Yasa N., Vosough-Ghanbari S., Mohammadira A., Dehghan G. & Abdollahi M.** (2007). *In vivo* antioxidant potential of *Teucrium polium*, as compared to α -tocopherol. *Acta Pharmaceutica*. 57:123–129.
34. **Hoffman L., Besseau S., Geoffroy P., Ritzenthaler C., Meyer D., Lapierre C., Pollet B & Legrand M.** (2004). Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate/quinate hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*. 6(6): 1446-1465.
35. **Hurtel B.** (2016). Formation de stagiaires en enseignement ayant une situation de handicap : points de vue des formateurs de terrain. *Éducation et francophonie*. 44 (1) : 195–214.
36. **Kandouz M., Alachkar A., Zhang L., Dekhil H., Chehna F., Yasmeen A. & Al Moustafa A.E.** (2010). *Teucrium polium* plant extract inhibits cell invasion and motility of human prostate cancer cells via the restoration of the E-cadherin/catenin complex. *Journal of Ethnopharmacology*. 129: 410-415.
37. **Kassim M., Achoui M., Mustafa M. R., Mohd M. A. & Yusoff K. M.** (2013). Ellagic acid, phenolic acids, and flavonoids in Malaysian honey extracts demonstrate *in vitro* anti-inflammatory activity. *Nutrition Research*. 30: 650–659
38. **Karou D., Dicko M. H., Simpore J., Yameogo S; Sanon S. & Traore A.S.** (2005). Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 106: 119-133.
39. **Khleifat K., Shakhaneh J. & Tarawneh K.** (2001). The chronic effects of *Teucrium polium* on some blood parameters and histopathology of liver and kidney in the rat. *Turkey Journal of Biology*. 26 : 65-71.
40. **Krishnaiah D., Sarbatly R. & Nithyanandam R.** (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant Species. *Food and Bioproducts Processing*. 89: 217–233.
41. **Lemoine C.** (2005). Les fleurs méditerranéennes. Editions Jean-Paul Gisserot. 26.
42. **Ljubuncic P., Dakwar S., Portnaya I., Cogan U., Azaizeh H. & Bomzon A.** (2006). Aqueous extracts of *Teucrium polium* possess remarkable antioxidant activity *in vitro*. *Advance Access Publication*. 3(3): 329-338.

43. **Ma Y.Q., Chen J.C., Liu D.H & Ye X.Q.** (2009). Simultaneous extraction of phenolic compounds of Citrus peel extracts: effect of ultrasounds. *Ultrasonics sonochemistry*. 16 (1): 57-62.
44. **Macheix J.J., Fleuriet A & Jay-Allemand C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. 4-5.
45. **Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C. & Jimenez L.** (2004). Polyphenols: foodsources and bioavailability. *Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747
46. **Moghtader M.** (2009). Chemical composition of the essential oil of *Teucrium polium* L from Iran. *American-Eurasian Journal Agricultural Environmental Sciences*. 5: 843-846.
47. **Niazmand S., Erfanian Ahmadpoor M., Moosavian M. & Derakhshan M.** (2008). The positive inotropic and chronotropic effects of *Teucrium Polium L* Extract on Guinea Pig Isolated Heart. *Pharmacologyonline*. 2: 588-594.
48. **Oyedemi S.O., Bradely G. & Afolayan A.J.** (2010). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activities of aqueous extract of *Strychnos henningsii* Gilg. *African journal of pharmacy and pharmacology*. 4(2): 70-78.
49. **Ozenda P.** (2004). Flore et végétation du sahara. 3ème édition. Centre National de la Recherche Scientifique edition. Paris. 399-402.
50. **Palmeri T. J. & Nosofsky R. M.** (2001). Central tendencies, extreme points, and prototype enhancement effects in ill-defined perceptual categorization. *Quarterly Journal of Experimental Psychology: A*. 54: 197-235
51. **Quezel P. & Santa S.** (1962-1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol. 1-2. Ed. Centre National de la Recherche Scientifique CNRS.Paris. 1170.
52. **Randhirand R. & Shetty K.** (2007). Improved α -amylase and Helicobacter pylori inhibition by fenugreek extracts derived via solid-statebioconversion using *Rhizopus oligosporus*. *Asiaian Pacific journal of clinical nutrition*. 16 (3):382-392.
53. **Rasekh H.R., Yazdanpanah H., Hosseinzadeh L., Bazmohammadi N. & Kamalinejad M.** (2005). Acute and subchronic toxicity of *Teucrium polium* total extract in rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 4: 245-249.

54. **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. & Rice-Evans C.**, (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biomedical*. 26: 1231–1237.
55. **Rice-Evans C.A. & Miller N.J.** (1994). Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochemical Social Transactions*. 24: 790-5.
56. **Rodriguez-Vaquero M.J., Alberto M.R. & Manca de Nadra M.C.** (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food control*. 8:93-101.
57. **Roux D. & Catier O.** (2007). Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie. Wolters Kluwer. France Edition. 74.
58. **Sadasivam S. & Thayumanavan B.** (2003). Molecular host plant resistance to pests. Volume 96 de Books in soils, plants and the environment. CRC Press. p221.
59. **Sainvitu P., Nott K., Richard G., Blecker C., Jérôme C., Wathelet J.P., Paquot M & Deleu M.** (2012). Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignin secoisolariciresinol: a review. *Biotechnology Agronomy. Sociology and Environment*. 16 (1): 115-124.
60. **Sarni-Manchado P & Cheynier V.** (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. EdLavoisier. 2-10.
61. **Shahraki M.R., Arab M.R., Mirimokaddam E. & Palan M.J.** (2007). The effect of *Teucrium polium* (Calpoureh) on liver function, serum lipids and glucose in diabetic male rats. *Iranian biomedical journal*. 11(1): 65-68.
62. **Shi H., Noguchi N. & Niki E.** (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Methods Enzymology*. 335:157-66
63. **Thomas M.** (2011). Nouvelles méthodologie d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de doctorat en chimie analytique-Phytochimie l'université d'Orléans.
64. **Van acker S.A.B.E., Van Den Berg D.J. & Tromp M. J. L.** (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20(3):331-342.
65. **Vuorela S.** (2005). Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Département of applied chemistry, microbiology and food chemistry. University of Helsinki. 9-70.

66. Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N. & Singanusong, R. (2003). *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *Journal of ethnopharmacology*. 87: 73–83.
67. Wojdyła A., Oszmiańska J., Czemyrska R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Journal of Food Chemistry*. 105: 940-949.
68. Zaghad N. (2018). Evaluation des propriétés biopharmacologiques, standardisation chimique et valorisation des agroressources fonctionnelles cas de *granatum*, *Citrus aurantium* et *Opuntia ficus-indica* : revue bibliographique. Thèse de doctorat en Biotechnologie végétale Université Frères Mentouri Constantine 1.
69. Zenasni L. (2014). Etude des polymorphismes chimiques des huiles essentielles de *Thymus satureioides* et d'*Origanum compactum* Benth et de genre *Nepta* et évaluation de leurs propriétés antibactériennes.
70. Zengin G., Sarikurkcu C. & Aktumsek A. (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.
71. Zia-ul-haq M., Ahmad S., Shad M.A., Iqbal S., Qayum M., Ahmad A., Luthria D.L., Amarowicz R. (2014). Compositional studies of some of lentil cultivars commonly consumed in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*. 43, 1563–1567.

Annexes

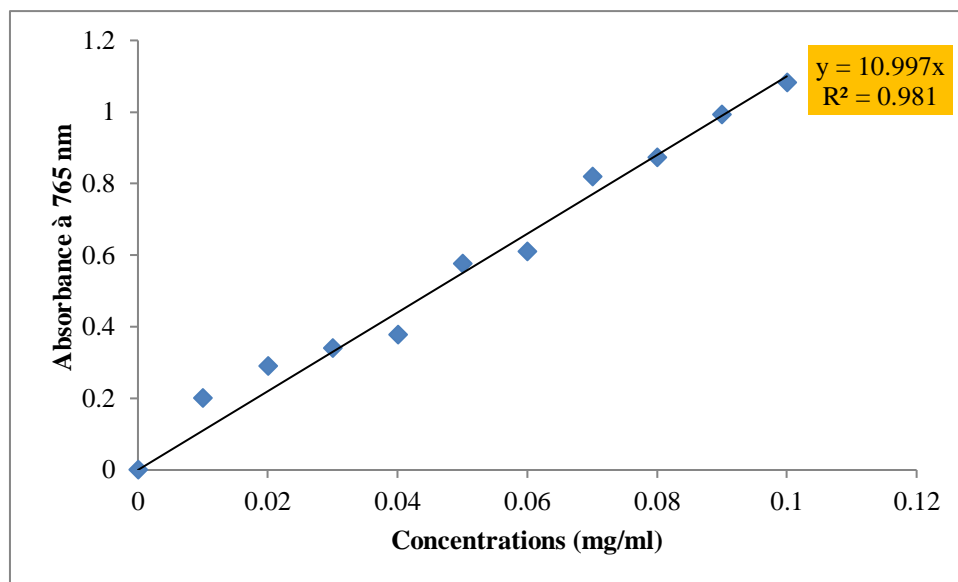
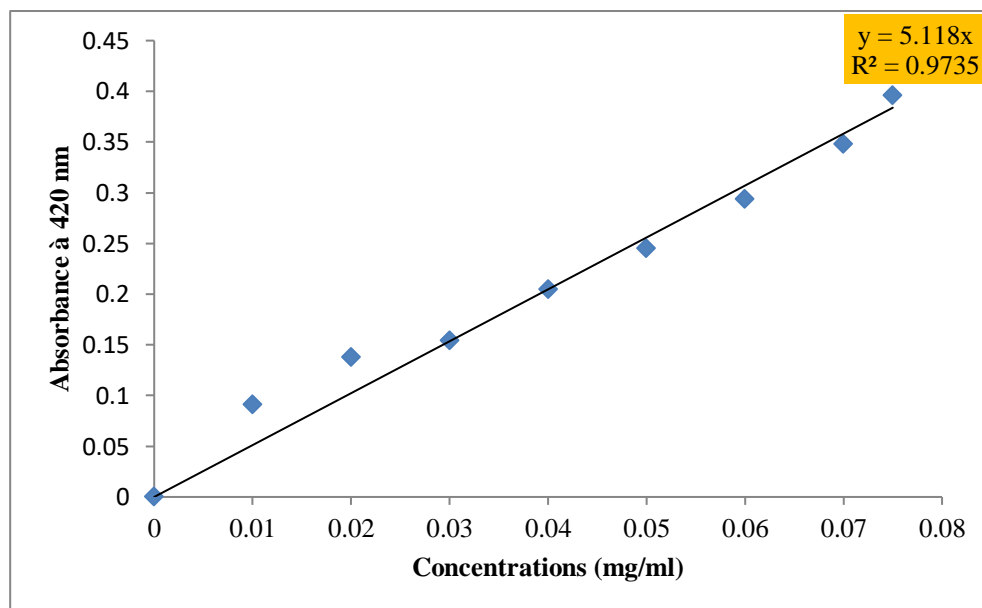
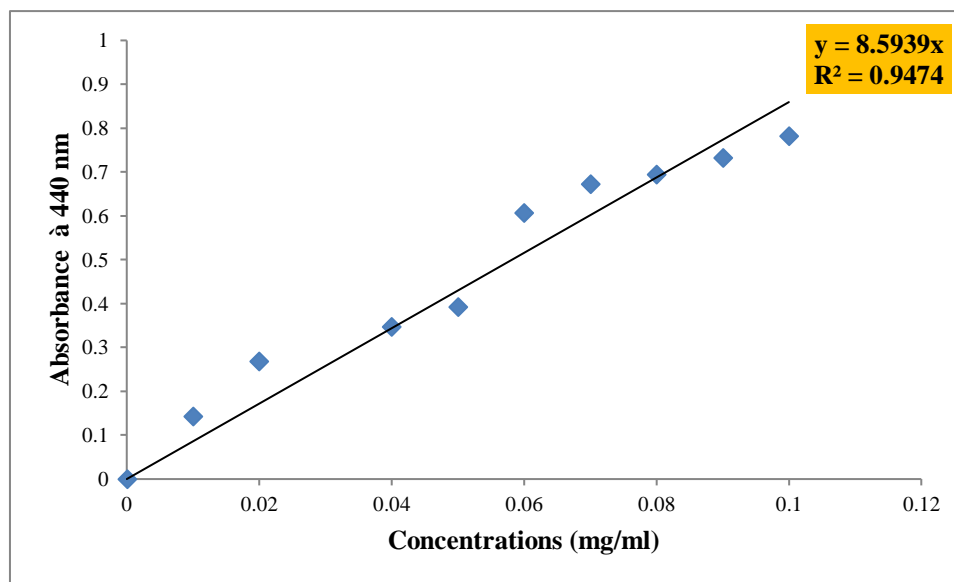
Figure 1 : courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols.**Figure 2**: courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Figure 3 : courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols.

Résumés

Résumé

Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une étude phytochimique et biologique de deux plantes médicinales cultivées localement en Algérie ; *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L*.

Les deux plantes sélectionnées ont été évalués pour leurs activités antioxydantes, et cicatrisantes. Une analyse qualitative par criblage phytochimique a été réalisée et complétée par une évaluation quantitative du contenu des extraits en phénols totaux, flavonoïds et flavonols. Les résultats de l'analyse quantitative montre que les taux des composés phénoliques dans les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* sont significativement importants.

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* (DPPH[•], ABTS⁺⁺, CUPRAC, GOR) a montré que le potentiel antioxydant de l'extrait de *Teucrium polium L* est le plus important comparé à l'extrait de *Rubus fruticosus L*. Les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* se sont montré sans aucun potentiel anti-enzymatique vis-à-vis de l'acétylcholinestérase et d' α amylase. . D'autre part, les résultats de l'évaluation de l'activité cicatrisante chez le lapin ont montré que les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* présentent un effet cicatrisant significativement supérieur pendant la période allant de J3 au J9, ceci est interprété par une diminution de la phase inflammatoire, une favorisation de la contraction des plaies et une réduction de la période d'épithélialisation.

Mots clés : *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L*, composés phénoliques, activité antioxydante , activité cicatrisante.

Abstract

The present work was based on the valorization of two medicinal plants grown locally in Algeria; *Teucrium polium L* and *Rubus fruticosus L* by the determination of their molecular characterizations and biological activities. The hydroalcoholic extracts of the selected plants were evaluated for their antioxidant, anti-enzymatic and healing activities.

The antioxidant activity (DPPH[•], ABTS^{•+}, CUPRAC, GOR) evaluated *in vitro* showed that the antioxidant potential of the *Teucrium polium L* extract is the most important compared to the *Rubus fruticosus L* extract. No anti enzymatic potential has been showed for the extracts of the selected plants.

However *Teucrium polium L* and *Rubus fruticosus L* were selected for an evaluation of their *in vivo* healing activity on the animal model by the use of the excision test performed on New Zealand rabbits. The extracts of the selected plants showed a significant healing potential activity during the period from day 3 to day 9, this is interpreted by a decrease of the inflammatory phase, a favoring of the contraction of the wounds and a reduction of the period of epithelialization.

Key words: *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L*, phenolic compounds, antioxidant activity, healing activity.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى تثمين الموارد الزراعية لنبتتين طبيبتين تزرعان محليا بالجزائر *Teucrium polium L* و *Rubus fruticosus* و هذا من خلال الاطلاع على خصائصهما التكوينية و أنشطتها البيولوجية. هذه النباتات المختارة خضعت لعملية استخلاص للمستخلص الهيدروكحولي و من ثم تقييم أنشطتها المضادة للأكسدة ، نشاط تسريع عملية التئام جروح الشق ، بالإضافة إلى نشاطها المضاد للإنزيمات.

أظهرت نتائج التحليل الكمي أن مستويات المركبات الفينولية للنبتتين تتميز بنسبة عالية. أما بالنسبة للنشاط المضاد للأكسدة (DPPH[•], ABTS^{•+}, CUPRAC, GOR) فقد بينت النتائج أن قدرة مستخلص *Teucrium polium L* ضد الأكسدة هي أكثر أهمية مقارنة بالمستخلص الأخر. من ناحية أخرى، أظهرت نتائج تقييم نشاط شفاء الأرانب أن مستخلص *Teucrium polium L* يساهم في تسريع عملية الشفاء من الجروح مقارنة مع الشاهد بالإضافة إلى أنهما كانتا متفوقتان حتى على كريم الشفاء التجاري[®] Cicatryl خلال الفترة الممتدة من اليوم 3 إلى اليوم 9 وهذا ما يفسر انخفاض المرحلة الالتهابية وتحفيز عملية انكماش الجروح.

الكلمات المفتاح : *Teucrium polium L* ، *Rubus fruticosus L* ، الأنشطة المضادة للأكسدة، نشاط التئام

INTITULÉ : ÉVALUATION DES PROPRIÉTÉS BIOPHARMACOLOGIQUES DE DEUX PLANTES SAUVAGES À L'EST ALGÉRIEN

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et physiologie de la reproduction

Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une étude phytochimique et biologique de deux plantes médicinales cultivées localement en Algérie ; *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L*.

Les deux plantes sélectionnées ont été évalués pour leurs activités antioxydantes, et cicatrisantes.

Une analyse qualitative par criblage phytochimique a été réalisée et complétée par une évaluation quantitative du contenu des extraits en phénols totaux, flavonoïdes et flavonols. Les résultats de l'analyse quantitative montre que les taux des composés phénoliques dans les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* sont significativement importants. ($129.81 \pm 18.12 \text{ mg QE g}^{-1}$), ($102.28 \pm 0.58 \text{ mg GAE g}^{-1}$).

L'évaluation de l'activité antioxydante in vitro (DPPH•, ABTS•+, CUPRAC, GOR) a montré que le potentiel antioxydant de l'extrait de *Teucrium polium L* est le plus important comparé à l'extrait de *Rubus fruticosus L*. Les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* se sont montrés sans aucun potentiel anti-enzymatique vis-à-vis de l'acétylcholinestérase et d'α amylase.

D'autre part, les résultats de l'évaluation de l'activité cicatrisante chez le lapin ont montré que les extraits de *Teucrium polium L* et *Rubus fruticosus L* présentent un effet cicatrisant significativement supérieur pendant la période allant de J3 au J9, ceci est interprété par une diminution de la phase inflammatoire, une favorisation de la contraction des plaies et une réduction de la période d'épithélialisation.

Mots clés : *Teucrium polium L*, *Rubus fruticosus L*, composés phénoliques, activité antioxydante, activité cicatrisante.

Laboratoire de recherche : Laboratoires de CRBT-Constantine et le laboratoire de pharmacologie et toxicologie à l'institut des sciences vétérinaires-Constantine 1.

Jury d'évaluation : Présidente : BOUDOUR LAILA (Pr Université frères Mentouri-Constantine 1),

Rapporteur : ZEGHAD NADIA (MCB Université frères Mentouri-Constantine 1),

Examineur : DJEROUNI AISSA (MCB Université frères Mentouri-Constantine 1).

Date de soutenance : 15/07/2019