



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة1

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم بيولوجيا و فيزيولوجيا النبات

Département de la biologie et physiologie végétal

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 de la Reproduction

Intitulé :

**Etude photochimique et comparative des méthodes d'extraction et
évaluation des activités biologique de quelques plantes sauvages.**

Présenté et soutenu par :

Le : 14/07/2021

- ❖ CHELLOUF Rania
- ❖ BOUGHEZAL Abir

Jury d'évaluation :

- ❖ **Président du jury :** Mr BOULAACEL.M. (MCB-UFM Constantine1).
- ❖ **Rapporteur :** Mr CHIBANI Salih (MCB -UFM Constantine1).
- ❖ **Examinatrice:** Mrs BOUCHARÉB Radia (MAA -UFM Constantine1).

Année universitaire 2021_2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Resumé

L'Artemesia, l'Ortie, Thymus, Murubium sont des plantes médicinales appartient à les famille Astéracée, Urticacée et Lamiacées elle sont très utilisées en Algérie dans la médecine traditionnelle ou alternative, en raison de leurs multiples effets thérapeutiques .

L'objectif de notre travail est porter sur une étude phytochimique des différentes fractions issues des feuilles d'*Armoise blanc Urtica thymus vulgaris Murubium* l'estimation quantitative des polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante, l'activité anti-enzymatique.

Les résultats obtenus, après l'analyse quantitative des polyphénols le teneur en polyphénols totaux des feuilles de *thymus* révèlent que l'extrait MeOH est plus riche en polyphénols avec une teneur $209.60 \pm 0,04$ mg EAG/g d'extrait et le teneur en polyphénols totaux des feuilles d' *Artemesia* révèlent que l'extrait aqueux est plus riche en polyphénols avec une teneur $213.60 \pm 0,04$ mg EAG/g d'extrait puis le teneur en polyphénols totaux des extraits HE des feuilles *thymus* est plus riche en polyphénols avec une teneur $283.41 \pm 0,04$ mg EAG/g d'extrait et pour les flavonoïdes , les teneurs en flavonoïdes totaux des feuilles de *Murubium* révèlent que l'extrait MeOH est plus riche en flavonoïdes avec une teneur $95.55 \pm 0,04$ mg EQ/g d'extrait, les teneurs en flavonoïdes totaux des feuilles des *Artemesia* révèlent que l'extrait aqueuse est plus riche en flavonoïdes avec une teneur $40.79 \pm 0,04$ mg EQ/g d'extrait, et Concernant, l'évaluation du pouvoir antioxydant par deux méthodes DPPH, ABTS a révélée des capacités antioxydantes chez tous les extraits et que La fractions ; MeOH présente une bonne capacité à piéger le radical DPPH avec des valeurs IC50 est *l'Artemesia* avec valeur d IC50 = 12.5 ug/ml et les plantes *Thymus* et *Artemesia* possèdent un potentiel de piégeage du radical ABTS+ le plus important qui est estimé par une IC50=<12.5 ug/ml e une moyenne capacité à piéger le radical DPPH avec la valeur IC50 = 93.18 ± 1.27 ug/ml. De l'extraits MeOH le HE le *Thymus* a une forte capacité IC50= 12.5 ug/ml, et pour l'activité anti cholinestérase l'extrait MeOH et HE n'a donné aucune résultat pour toute les fractions

En conclusion, on peut considérer que les polyphénols et les flavonoïdes sont les plus responsables de l'activité antioxydante

Mots-clés : *Artemesia ; Ortie ; thymus vulgaris Murubium* ; Polyphénols ; Flavonoïdes ; Activité antioxydante ; ; Anticholinestérasique

Abstract

Artemesia, *Nettle*, *Thymus*, *Murubium* are medicinal plants belonging to the Asteraceae, Urticaceae and Lamiaceae families; they are widely used in Algeria in traditional or alternative medicine, because of their multiple therapeutic effects.

The objective of our work is to carry out a phytochemical study of the various fractions resulting from the leaves of white mugwort *Urtica thymus vulgaris Murubium* the quantitative estimation of the total polyphenols and the total flavonoids, as well as the evaluation of the antioxidant activity, l'anti-enzymatic activity

The results obtained, after the quantitative analysis of the polyphenols, the content of total polyphenols in *thymus* leaves, reveal that the MeOH extract is richer in polyphenols with a content of 209.60 ± 0.04 mg EAG / g of extract and the content of total polyphenols from *Artemesia* leaves reveal that the aqueous extract is richer in polyphenols with a content of 213.60 ± 0.04 mg EAG / g of extract then the total polyphenol content of EO extracts from thymus leaves is richer in polyphenols with a content of 283.41 ± 0.04 mg EAG / g of extract and for flavonoids, the total flavonoids contents of *Murubium* leaves reveal that the MeOH extract is richer in flavonoids with a content of 95.55 ± 0.04 mg EQ / g of extract, the total flavonoid contents of the leaves of *Artemesia* reveal that the aqueous extract is richer in flavonoids with a content of 40.79 ± 0.04 mg EQ / g of extract, and Regarding the evaluation of the antioxidant power by two DPPH methods, ABTS revealed antioxidant capacities in all the extracts and that the fractions; MeOH exhibits a good capacity to scavenge the DPPH radical with IC50 values and *Artemesia* with IC50 value = 12.5 ug / ml and the *Thymus* and *Artemesia* plants have the highest ABTS + radical scavenging potential which is estimated by an IC50 = <12.5 ug / ml has an average capacity to scavenge the DPPH radical with the IC50 value = 93.18 ± 1.27 ug / ml. From the MeOH extract the HE the *Thymus* has a high capacity IC50 = 12.5 ug / ml, and for anti cholinesterase activity the MeOH and HE extract gave no results for all fractions.

In conclusion, we can consider that polyphenols and flavonoids are the most responsible for antioxidant activity.

Keywords: *Artemesia*; *Nettle*; *thymus vulgaris Murubium*; Polyphenols; Flavonoids; Antioxidant activity; ; Anticholinesterase,

الملخص

الشيخ ، نبات القراص ، الزعتر، المربوت هي نباتات طبية تنتمي إلى عائلات النجمية الشفويات و القراصية و يتم استخدامها على نطاق واسع في الجزائر في الطب التقليدي أو البديل ، بسبب آثارها العلاجية المتعددة.

الهدف من عملنا هو إجراء دراسة كيميائية نباتية عن أوراق الشيخ الأبيض الزعتر البري المربوت و القرايص و التقدير الكمي لمجموع البوليفينول ومجموع مركبات الفلافونويد ، وكذلك تقييم النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للأنزيم

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ، بعد التحليل الكمي للبوليفينول ، محتوى البوليفينول الكلي في أوراق الزعتر ، أن مستخلص الميثانول أكثر ثراءً في البوليفينول بمحتوى 0.04 ± 209.60 مغ EAG / مغ من المستخلص ومحتوى البوليفينول الكلي من تكشف أوراق الشيخ أن المستخلص المائي أكثر ثراءً في البوليفينول بمحتوى 0.04 ± 213.60 مجم EAG / جم ، ثم يكون محتوى البوليفينول الكلي لمستخلصات أوراق الشيخ أكثر ثراءً في البوليفينول بمحتوى 0.04 ± 283.41 مجم EAG / جم. من المستخلص والفلافونويدات ، تكشف محتويات الفلافونويد الإجمالية لأوراق المربوت أن مستخلص الميثانولي أكثر ثراءً في الفلافونويد بمحتوى 0.04 ± 95.55 مجم EQ / جم ، إجمالي محتويات الفلافونويد لأوراق نبات الشيخ يكشف أن المستخلص المائي غني بالفلافونويد بمحتوى 0.04 ± 40.79 ملجم EQ / جم من المستخلص ، وفيما يتعلق بتقييم قوة مضادات الأكسدة بطريقتين DPPH ، ABTS عن قدرة مضادة للأكسدة ق في جميع المقطعات ؛ يُظهر MeOH قدرة جيدة على اقتناص جذور DPPH بقيم $IC_{50} = 12.5$ و الشيخ بقيمة $IC_{50} = 12.5$ ميكروغرام / مل ونباتات الزعتر و الشيخ لديها أعلى قدرة على الكسح الجذري ABTS + والتي تقدر بـ $IC_{50} = 12.5$ ميكروغرام / مل لديها قدرة متوسطة على اقتناص جذور DPPH بقيمة $IC_{50} = 93.18$ ± 1.27 ميكروغرام / مل. من مستخلص الميثانول ، يحتوي الزيت الأساسي ، الزعتر على سعة $IC_{50} = 12.5$ ميكروغرام / مل ، وبالنسبة لنشاط مضاد الكولين استيراز ، لم يعط مستخلص ميثانولي و الزيوت الأساسية أي نتائج لجميع المحاليل .

في الختام ، يمكننا اعتبار أن البوليفينول والفلافونويد هما المسؤولان الأكبر عن نشاط مضادات

الأكسدة

الكلمات الرئيسية: الزعتر البري نبات القراص؛ المربوت الشيخ . بوليفينول. الفلافونويد. النشاط المضاد للأكسدة؛ ؛ مضادات الكولين.



Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a permis d'être ce que nous sommes aujourd'hui. Car l'homme propose mais ALLAH dispose. Seigneur, veuillez toujours diriger nos pas.

Très chanceuses d'avoir eu comme encadreur l'honorable Mme **BOUCHARE.R** On la remercie tout particulièrement pour son acceptation de nous encadrer, pour le temps qu'elle nous a consacré, pour la confiance qu'elle nous a accordée, pour sa compréhension, sa patience, ses relectures et ses conseils précieux, pour sa disponibilité à tout instant et pour ses orientations judicieuses, le chemin aurait été beaucoup plus ardu sans sa présence. Merci chère madame, puissiez-vous trouver notre profonde reconnaissance.

Notre profonde gratitude va également à **M^rBOULAASEL.M**, pour l' honneur qu'il nous a accordée en acceptant de présider le jury de ce mémoire, et d'apporter ses regards d'expert sur ce travail.

C'est avec un grand plaisir que nous remercions **Mme.ZAGHAD.N**. Pour avoir accepté de participer au jugement de ce travail.

Un énorme merci à **M^r BOUDERSSA. N** Chef de laboratoire biochimie à l'université Frères Mentouri Constantine-1, pour son aide précieuse durant la réalisation de notre travail.

Nous remercions toute l'équipe de Centre de Recherche en Biotechnologie (**CRBT**), et spécialement le chef de laboratoire biochimie **Dr.BENSOUICI. CH** Pour son grand aide de l'acceptation et l'opportunité d'effectuer un stage dans les meilleures conditions.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes et nos amies qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, et espérons que ce travail donnera satisfaction au jury et fera honneur à notre département de biologie et physiologie végétal

Rania et Abir





قبل كل شيء و اي احد اريد ان اشكر الله على نعمه التي رزقني اياها و على عقل ميزني به و على صحة متعني بها

و بعد الصلاة على سيدنا محمد خاتم الانبياء و الرسل

لذكرى وفاة اخي شلوف حمزة لرحمه الله و اسكنه فسيح جناته العليا

اهدي عملي و جهدي للمرأة التي افنت عمرها من اجلي و من اجل عائلتي تلك المرأة التي ضحت بسعادتها و صحتها من اجل تربيتي و تعليمي من اجل راحتي و سعادتني اسال الله يا امي الحبيبة خديجة ان يشفيك و يعافك باذن الله تعالى

الى ابي حسين الحبيب الذي بكى مرارا و تكرارا كلما تفوقت في دراستي اهديك شهادتي و عملي هذا و اسال الله ان اكون عند حسن ظنك دائما

الى اختي الكبرى سلاف اهديك عملي اسال الله ان يعينك

الى اخي شلوف مروان العزيز اهديك عملي و ثمرة مجهود دام لسنوات و اشكرك على مساندتك اياي طوال مشوار دراستي اسال الله ان يرزقك من ابوابه الواسعة

الى اختي الكبرى و صديقة و كاتمة اسراري الى سندي في حياة كانت صعبة جدا الى شلوف وحيدة الحبيبة اهديك عملي و شهادتي و اسال الله ان يرزقك بحجم طبيبتك و تفهمك و ان يجعل من امراة سعيدة و طموحة و راضية

الى تباتي بشير و بلفج ايمان اسال الله ان يسعدكم و يرزقكم

الى احفاد العائلة محمد خليل. هيثم. جاد. احمد امين. مايا سين. لجين. و حبيب خالته و الذي اعتبره ولدا لم انجبه محمد يامن اخر العنقود اسال الله اي يوفقكم في مشواركم الدراسي لاراكم احسن مني بكثير

الى خالتي العزيزة الضاوية اسال الله ان يشفيك و يعافك

و زوجها العم محمد

الى جدي بولمناخر الطاهر رحمه الله الذي لم اره لكنني احبه و جنتي زهرة رحمها الله

الى جدي شلوف الهاشمي و كشود ذهبية رحمهما الله

الى صديقتي و رفيقة دربي مروة اسال الله ان يسعدك دائما و ابدا

شكرا لرفيقتي في هذا العمل لقد مررنا بالكثير معا من قلق و تعب و خوف خصوصا من فيروس كورونا شكرا على تفهمك و شكرا على ذكريات جميلة ستبقى دائما في ذاكرتي

و اخيرا اهدي عملي لنفسي و اريد شكري جزيل الشكر فيرغم من صعوبة الظروف استطعت المحاربة و استكما عملي بتوفيق من الله عز و جل و لي الشرف ان اكون من احد متخرجين في عائلتي الكبيرة .

رانيا

DEDICACE

Je commence ma dédicace au nom de Dieu et le salut sur Mohamed le
messager de Dieu Je voudrais dédier ce modeste travail :

A la mémoire de Mes grands parents paternels et maternels surtout Ma que
j'aurais aimé qu'ils soient à mes côtés, et être fier de moi. Que Dieu tout-
puissant ait pitié de vous .

A ce qui ont sacrifié pour mon éducation, qui sont ma source de tendresse de
force de don et de confiance et qui sont tout pour ma réussite mes chers
parent : Ilhem et Azzedine l que j'adore. Que dieu vous garde pour moi.

A mes adorables soeurs et mon petit prince et trésor : Asma, Rima , Ahmed
midou

A mes très chères tantes : Wahiba , lamia , Nawel

A mes chers Khalou Saber et Mohamed

A toute mes cousins et cousines que j'aime trop

A mes fideles amies : Aya , Oumnia , Souha, qui sont tout le temps a mes cotés

A ma chère encadreur Madame. Bouchareb pour son soutien, encouragement,
et l'aide précieuse qu'elle m'a apportée tout le long de ce parcours en vue de la
concrétisation de ce mémoire

A mon binôme Rania et sa famille celle qui a partagé avec moi les bons et les
mauvais moments : les rires la joie et Le stresse de covid 19 , les différentes
pressions, la faim ainsi que les fast Food . Que dieux nous garde si tendre si
aimante l'une envers l'autre.

.A toutes personnes qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un

Encouragement. Je dis

»Merci.«

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	page
tableau 01	propriétés thérapeutiques de l'ortie .	
tableau 02	Les caractéristiques d'huile essentielle de Thymus vulgaris était sa teneur élevée du thymol (Guillén et Manzanos, 1998 ; Balladin et Headley,1999 ; Hudaib et al., 2002 ; Bouhdid et al., 2006).	
tableau 03	les compositions chimiques d'huile essentiel	
tableau 04	Structure des squelettes des polyphénols (Crozier et al., 2006) .	
tableau 05	Différentes structures des flavonoïdes (Bruneton, 1999).	
tableau 06	: le matériel et appareils et solution de laboratoire .	

LISTE DES FIGUR

N°	Titre	Page
Figure 1	la famille Astéracée (Wikipédia 2001).	
Figure 2	la plante herba alba.	
Figure 3	Morphologie générale de la plante Artemesia herba-alba.	
Figure 4	répartition L'armoise blanche en Algérie.	
Figure 5	composition des huiles essentielles des parties aeriennes Artemesia herba alba.	
Figure 6	la famille Urticacée.	
Figure 7	la plante l'ortie (Wikipédia 2017).	
Figure 8	répartition de l'ortie dans le monde.	
Figure 9	les fibres de la plante Ortie.	
Figure 10	Les caractéristiques morphologiques d'une Lamiacée (Skafia-Crete, 2018).	
Figure 11	Carte de répartition géographique de la famille des <i>Lamiacées</i> (Stevens, 2001).	
Figure 12	aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris</i> L. (Iserin,2001).	
Figure 13	répartition géographique de <i>Thymus Vulgaris</i> en Algérie.	
Figure 14	compositions chimiques de <i>thymus vulgaris</i> .	
Figure 15	la plante <i>Marrubium vulgare</i> L (Weel al., 1999) .	
Figure 16	Description botanique de <i>Marrubium Vulgare</i> .	
Figure 17	répartition de <i>Marrubium</i> dans le monde.	
Figure 18	Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate (Crozier et al., 2006). PAL : phénylalanine ammonia-lyase ; C4H : cinnmate 4-hydroxylase.	
Figure 19	Squelette de base des flavonoïdes (<i>Chebrouk, 2009</i>).	
Figure 20	Différentes structures des tanins (Karamali et Teunis, 2001).	
Figure 21	Mécanisme réactionnel du teste polyphénols totaux (Muller et al. ,2010).	
Figure 22:	Mécanisme de l'interaction du chlorure d'aluminium avec les flavnoïdes (Ribéreau-Gayon ,1968).	
Figure 23	Transformation du radical DPPH• en DPPH, H (Gülçin, 2012).	
Figure 24	Formation et piégeage du radical ABTS•+ par un antioxydant donneur .	
Figure 25:	Principe de la réaction d'Ellman et al. (1961).	
Figure 26	Site d'échantillonnage.	
Figure 27	Localisation de la commune djbel agab dans la wilaya de Mila.	
Figure 28	Evaporateur rotatif (Rihane et Benlahreche, 2013).	
Figure 29	schéma de principe de la technique d'hydrodistillation (LUCCHESI , 2005).	
Figure 30	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .	
Figure 31	Courbe d'étalonnage de la quercétine.	
Figure 32	Histogramme representant la valeur de rendement des 4 plantes et de 2 methode MeOH et aqueux .	

Figure33	Histogramme représente les moyennes des TFC dans differente methodes d'extraction.	
Figure 34	Histogramme represente les moyenne des TFC des differente méthodes d'extraction.	
Figure 35	Histogramme represente les vaeurs d'IC50 des extraits et standard obtenues par le test DPPH .	

Liste des abréviations

ABTS : 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique).

AChE : Acétylcholinestérase.

BHA : Hydroxyanisole butylé.

BHT : Hydroxytoluène butylé.

DPPH : 1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyl .

FCR : Réactif Folin Ciocalteu.

DTNB : Acide 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque).

g : Gramme.

HE : Huile essentielle.

pH: Potentiel hydrogène.

U : Unité.

UV : Ultraviolet.

µg : Microgramme.

µl : Microlitre.

AQ : Aqueuse.

BChE : butyrylcholinestérase.

HCl : chlorure.

HydrogèneIKI : Potassium iodide.

MeOH : Méthanol.

Aqueus : extrait de l'eau .

mg EQ/g : Milligrammes équivalents de quercétine par gramme mg.

GAE/g : Milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme.

TABLE DES MATIERES

Resumé

Introduction	01
I. Les plantes médicinales	02
I.1 Les plantes Médicinales et les extraits.....	02
I.2 Les plantes aromatiques.....	02
II. Les métabolites secondaires.....	03
II.1 Les polyphénols.....	03
II.1.1 Effets biologiques des polyphénols.....	06
II.2.1 Les flavonoïdes	09
II.2.2 Localisation et distribution Les flavonoïdes	09
II.2.3 Intérêts et effets biologiques des flavonoïdes.....	09
II.2.4 Utilisation thérapeutique.....	10
II.3 Les tanins	10
II.4 Les huiles essentielles	11
III. LES PLANTES	13
III.1 Artemesia (Herba Alba)	13
III.1.1 La famille des Astéracées	13
III.1.2 Historique et generalité.....	14
III.1.3 Description botanique.....	15
III.1.4 Position systématique	16
III.1.4 La distributions géographique et Ecologique.....	16

III.1.5	Composition chimique	17
III.1.6	Usages traditionnels et médicinaux.....	18
III.1.7	Utilisation	18
III.1.8	Contre-indications.....	19
III.2	La famille des Urticaceae	19
III.2.1	L'Urtica dioica L.....	20
III.2.2	Position systématique	21
III.2.3	Dénomination.....	21
III.2.4	Distribution géographique.....	22
III.2.5	Description botanique.....	23
III.2.5.a	Les feuilles.....	23
III.2.5.b	La tige.....	23
III.2.5.c	Les poils urticants	23
III.2.5.d	Les racines.....	23
III.2.6	Composition chimique	24
III.2.7	Usage	24
III.2.8	Utilisation.....	27
III.2.9	Contre-indication.....	27
III.3	La famille des Lamiacées	27
III.3.1	Distribution géographique.....	28
III.3.2	Intérêt économique.....	29
III.3.4	Caractéristique botanique de Thymus.....	29

III.3.4.1 Aspect botanique	30
III.3.4.2 Description morphologique.....	30
III.3.4.3 Position systématique	31
III.3.4.4 Répartition géographique.....	32
III.3.4.5 COMPOSITION CHIMIQUE.....	32
III.3.4.6 principes actifs du thym.....	34
III.3.4.7 Propriétés du thym.....	34
III.3.4.8 Utilisation	35
III.3.4.9 Contre-indications du thym.....	35
III.3.5 Plante <i>Marrubium vulgare</i> L.....	35
III.3.5.1 Aspect botanique.....	35
III.3.5.2 Description marphologique	36
III.3.5.3 Position systématique	37
III.3.5.4 Répartition géographique	38
III.3.5.5 Composition chimique	38
III.3.5.6 Propriétés et utilisation.....	39
III.3.5.7 Utilisation.....	40
III.3.5.8 Contre-indications	41
IV. Activités biologiques	41
IV.1 Activité antioxydante.....	41
IV.1.1 Activité antiradicalaire au DPPH :.....	41
IV.2.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS :.....	42
IV.3 Activité enzymatique	43
IV.3.1 Evaluation de l'activité anticholinestérase	43
IV.3.2 Inhibition de la butyrylcholinestérase.....	43
 <i>Chapitre 2 Matériels et méthodes</i>	
I. Matériel végétal et Échantillonnage	46

I.1 Matériel de laboratoire	47
I.3 Extraction par macération dans le méthanol aqueux(extraction solide/liquide).....	47
I.4 Extraction avec de l'eau (extraction solide/liquide).....	47
I.5 Evaporation.....	48
I.6 Détermination du rendement.....	49
I.7 Le principe du rotavapor.....	49
I.8 extraction des huiles essentiels par hydrodistillation	50
II Activités biologiques.....	50
II.1 Estimation du contenu total en polyphénols (TPC).....	50
II.2 Estimation du contenu total en flavonoïdes (TFC).....	51
II.3 Activité antioxydant.....	52
II.3.1 Activité anti radicalaire au DPPH.....	52
II.3.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS :.....	52
II.3.4_ Activité enzymatique.....	53
II.3.4.1 Evaluation de l'activité anti cholinestérase.....	53
II.3.4.3 Inhibition de la butyrylcholinestérase.....	53
II.3.4.5 Traitement statistique des résultats.....	54

Chapitre 3 Résultats et discussions

I. Résultat de rendement	56
I.1. Discussion des résultats	56
II.1 Quantification des polyphénols totaux (TPC)	57
II.2 Resultats Polyphénols	
MeOH.....	57
II.3.Résultats Polyphénols aqueuse	58
II.4. Resultats polyphenols HE.....	58
II.5 Discussion des résultats	58
III.1 Quantification des flavonoïdes totaux (TFC)	59
III.2.Resultats extraction MeOH	59
III.3. Resultats de l' extraction aqueuse.....	59
III.4 Discussion des résultats.....	60
IV. Détermination des IC50 :	60
IV.1 Activité anti oxydante.....	60
IV.1.1Discussion DppH extraction MeOH	60
IV.1.2 DPPH huile essentiel	61
IV.1.3 Discussion des résultats.....	61
IV.2 Teste abts	62
IV.2.1 Discussions des résultats	62
Conclusion.....	65
Referance	



Introduction

Introduction

Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Les médicaments à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes. L'Afrique dispose d'une diversité importante de plantes médicinales. Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Afrique, où plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer les soins de santé (**Jiofack et al., 2009, 2010**). La présence des antioxydants naturels tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les tanins dans les plantes peut fournir une protection contre un certain nombre de maladies, et leur utilisation a été inversement associée à la morbidité et à la mortalité dues aux troubles dégénératifs (**Baba et Malik, 2015**).

Les plantes médicinales sont une bonne source de produits naturels pouvant avoir une activité antimicrobienne, antidiabétique, anti-alzheimer et anti-inflammatoire en raison de leur richesse en métabolites secondaires tels que les terpènes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Ces métabolites secondaires peuvent être analysés par deux méthodes de choix ; la CPL/SM et la CPG/SM, elles sont très spécifiques et précises pour la séparation et la détection des composés. (**Seyoum et al., 2006**).

Dans notre mémoire on a choisi et discuté quatre plantes médicinales et aromatiques afin de chercher sur les activités biologiques telles que le taux des flavonoïdes et les polyphénols et l'activité anti-oxydante de ces dernières le DPPH et ABTS et on a traité une activité enzymatique (anti-Alzheimer) avec les trois méthodes d'extraction MeOH, aqueuse, huile essentielle pour finalement comparer entre les trois méthodes et les quatre plantes basées sur l'efficacité dans les activités nos plantes sont : *Artemisia herba alba*, *l'Ortie Urtica dioica L*, *Thymus vulgaris* et *le Murubium*.

Dans le but, d'évaluer leurs activités biologiques principalement l'activité antioxydante mesurée par plusieurs tests (DPPH, ABTS), l'activité enzymatique anticholinestérase de trouver des molécules naturelles plus actives et puissantes que celle des molécules synthétiques.

I. Les plantes médicinales :

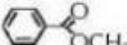
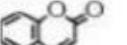
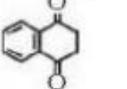
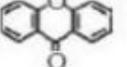
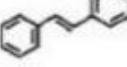
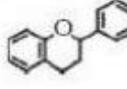
I.1 Les plantes Médicinales et les extraits :

Selon **Bruce (2012)**, les plantes médicinales se présentent sous diverses formes galéniques dont parmi : plantes en nature, poudres, gélules de poudres, nébulisats, alcoolats, extraits, teintures, huiles essentielles.

L'ensemble du marché des plantes médicinales et de leurs dérivés a augmenté de 200 millions de dollars en 5 ans par suite d'un intérêt nouveau pour la médecine traditionnelle en Asie et pour les éléments naturels en Europe et en Amérique du nord. La répartition des principaux marchés des plantes médicinales est la suivante :

- ✓ En Asie : le Japon a importé 22 640 tonnes pour un montant de 10,6 milliards de yens.
- ✓ En Europe : l'Allemagne a importé 28 326 tonnes pour un montant de 56,8 millions de dollars.
- ✓ En Amérique du nord : les U.S.A. en ont importé pour 44,6 millions de dollars. Au niveau des plantes médicinales des règles ont été établies (**Moreau, 1983**), en ce qui concerne :
 1. La culture : une surveillance des insecticides et des herbicides s'impose et leur usage est très sévèrement réglementé. Leur recherche et leur dosage seront faits par chromatographie en phase gazeuse pour les pesticides organo-chlorés et par dosage de l'oxyéthylène et du chloroéthanol (**Flet, 1984**).
 2. Le stockage et la conservation : Les plantes doivent être conservées à l'abri de la lumière et de la chaleur, dans un milieu sec et aéré (**Bretonnière, 1983**).
 3. Les variations observées : dans leur composition sont fonction de certains paramètres : époque de la récolte, âge de la plante, lieu d'origine.

Tableau 5 : Structure des squelettes des polyphénols (Crozier et al. 2006) :

Nombre de Carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de Base
7	C6-C1	Acides phénols	Acide gallique	
8	C6-C2	Acétophénones	Gallacetophénone	
8	C6-C2	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphényl acétique	
9	C6-C3	Acides hydroxycinamiques	Acide Coumarique	
9	C6-C3	Coumarines	Esculitine	
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone	
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiferine	
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Resveratrol	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Naringénine	

II.1.1 Effets biologiques des polyphénols :

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Bahorun, 1997**). Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux, anti-allergènes, vasodilatateurs et antioxydants (**Falleh et al., 2008**). Les composés polyphénolique sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique. Ils sont regroupés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculoprotecteurs. Parmi les veinotoniques, nous citerons le Relvenet ou le Cirkant renfermant du ruténoside, le Daflont ou le Diosmilt renfermant de la diosmine. Un

certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des antiagrégants plaquettaire, ou hypotenseur sans résultats probants (**Martin et Andriantsitohania, 2002**).

II.2.1 Les flavonoïdes :

- Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoum et al., 2006**), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Bruneton, 1999; Ghestemet al., 2001**). Du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (**Harborne et Williams, 2000**).

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- γ -pyrane (**Skergetet al., 2005**). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (**Tableau 02, Figure 02**) (**Dacosta, 2003**).

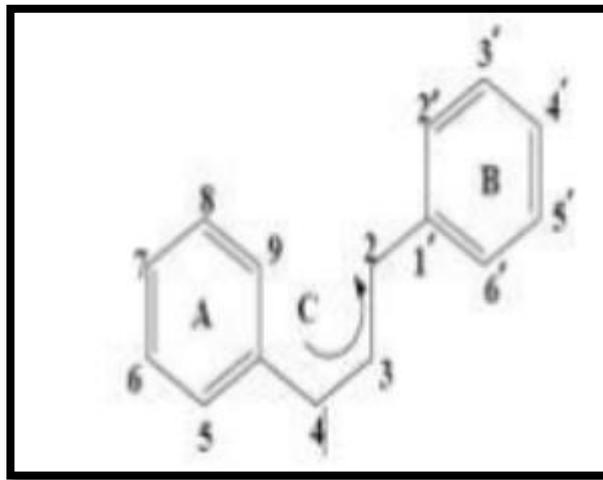


Figure 18 : Squelette de base des flavonoïdes (**Chebrouk, 2009**).

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (**Dacosta, 2003**). Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanins (**Efendiet al., 2008**).

Tableau 6 : Différentes structures des flavonoïdes (Bruneton, 1999)

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
Flavonols		OH	OH	H	Catéchine
Flavonones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanins		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
isoflavandiols		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidzeine

II.2.2 Localisation et distribution Les flavonoïdes :

Possèdent une large répartition dans le monde végétal, ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes. Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, elles se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques (Bruneton, 1999).

II.2.3 Intérêts et effets biologiques des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois... (Bruneton, 1999) Chapitre I Généralités sur les plantes médicinales 9 Certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus. Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles (Graceet al., 1996). Les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs (Decoomaet al., 1993). Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaunes et orangées). Leur fonction principale est la pigmentation des plantes (aspect esthétique). Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de Co-pigments (certaines flavones et flavonols) (Grace et al., 1996)(Bruneton, 1999).

II.2.4 Utilisation thérapeutique :

Par-delà les résultats partiels fournis par des tests biochimiques ou des études de pharmacologie animale, la réalité de l'efficacité clinique de la plupart des flavonoïdes et, a fortiori, celle des drogues qui en contiennent est rarement correctement établie. Les essais chez l'homme ne sont assez souvent que des observations et ne sont pas toujours conduits en conformité avec les normes actuellement en vigueur pour un type d'évaluation. C'est essentiellement dans le domaine capillaro-veineux que l'on utilise les flavonoïdes ; seuls ou associés, ce sont les constituants habituels des vasculo-protecteurs et veinotoniques et des toniques utilisés en phlébologie. La plupart des spécialités actuellement disponibles ont des indications ou propositions d'emploi suivantes :

II.4 Les huiles essentielles :

Huile essentiel Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau ou autre procédé. C'est un mélange de molécules variées, comprenant en particulier des terpènes, et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones). L'obtention des huiles essentielles par expression à froid (zestes). Dans ce dernier cas, une certaine ambiguïté existe sur la dénomination d'huile essentielle. Pour ce type d'extrait le terme d'essence est aussi utilisé. Les huiles essentielles peuvent être extraites de différentes parties de la plante :

- Fleurs (pétales de rose),
- Ecorces de fruits (citron, bergamote, orange),
- Graines (anis),-Feuilles (eucalyptus),

- Baies (genévrier),
- Boutons floraux (clou de girofle),
- Fruits (persil),-Bois (santal, écorce de quinquina).

La teneur des plantes en huile essentielle est faible de l'ordre de 1 à 3 % à l'exception du clou de girofle de (14 à 19 %), du macis (10 à 13 %), de la noix de muscade (8 à 9 %), de la cardamome (4 à 10 %).

Les huiles essentielles ont connu ces dernières années un grand essor car elles tiennent une place très importante en phytothérapie. Une huile essentielle reste modulable en fonction des besoins particuliers de la plante. *Sa composition donc n'est pas statique (Perry et al. 1999).*

L'influence des facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité (**Palà-paul et al., 2001**), la durée totale d'insolation, le régime de vents (**Bruneton, 2009**), l'altitude, latitude (**Oliveira et al., 2005**) et la nature du sol (**Zheljzkov et al., 2005**) sur la composition chimique et le rendement des huiles essentielles a été décrite. Certains auteurs ont étudiés d'autres facteurs tels que le cycle végétatif (**Sefidkon et al., 2007**), l'âge et l'organe végétal (**Laouer, 2004**) période de récolte (**Randrianalijaona et al. , 2005**), les parasites, les virus et les mauvaises herbes (**Smallfield, 2001**) et ont trouvés qu'ils ont une influence sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles.

D'une manière générale les huiles essentielles sont des corps aromatiques, volatils, existant dans le règne végétal, soit préformés, soit combinés (souvent sous forme d'hétérosides).

Sous cette forme, l'huile essentielle sera libérée par l'action d'un ferment sur l'hétéroside ou simplement au cours de la distillation. Ce sont les plus souvent des corps assez mobiles dont la densité est inférieur à celle de l'eau, le point d'ébullition supérieur à 100, qui sont solubles dans les graisses et les solvants apolaires, très légèrement solubles dans l'eau (de 0.30 à 0.50 pour mille) plus ou moins solubles dans les alcools à différents titres. Leur composition est très complexe (**Miguel, 2010**). Les HE sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur le mode d'extraction, ou les effets biologiques. On retient 8 classes principales: Selon **Baudoux (1997)** les huiles essentielles peuvent renfermer de très nombreuses substances dont parmi :

- Des carbures terpéniques (limonène, phéllandrène)
- Des carbures saturés

- Des alcools (bornéol, menthol)
- Des phénols (thymol, carvacrol, eugénol)
- Des aldéhydes (benzoïque, cinnamique)
- Des cétones (camphre, thyone)
- Des ester (acétate de linalyle, de giranyle)
- Des composés sulfurés Ces complexes de substances pures sont très lypophiles ils ont une action sélective pour le système nerveux central ou ils occasionnent des accidents secondaires sévères. De ce fait, les huiles essentielles sont neurotoxiques et donnent des troubles graves (**Bernard, 1988**).

III. Présentation de matériale végétales :

III.1 *Artemesia (Herba Alba)* :

III.1.1 La famille des Astéracées :

Les Astéracées Dumortier, également appelée Composite Giseke (ou synanthérées), est la plus importante famille chez les angiospermes (**Funk et al., 2005**). Le nom "Asteraceae" provient du genre Aster, signifiant étoile en grec, et se réfère à la forme étoile Del' inflorescence. "Composite" est un nom plus ancien mais toujours valable qui se réfère au fait que la famille est l'une des quelques angiospermes à avoir des fleurs composites Selon Funk et al. (**2005**), 10 % des plantes à fleurs sont des Astéracées.

En Algérie, **Quézel et Santa (1963)** ont répertorié 408 espèces réparties en 109 genres. Les Asteraceae peuvent se rencontrer sur toute la surface du globe (**Guignard, 1998; Botineau, 2010**). Néanmoins, elles sont particulièrement diversifiées dans les régions sèches, Comme le Bassin Méditerranéen, l'Afrique australe, le Mexique, le Sud-ouest des Etats-Unis Et les régions arides d'Amérique du Sud (**Botineau, 2010**). Selon les reconstructions Phylogénétiques récentes, la famille a eu son origine dans la partie sud de l'Amérique du Sud Il y a environ 50 millions d'années, pour conquérir ultérieurement l'Afrique et se propager Vers l'Asie, l'Eurasie et l'Australie (**Funk et al. 2005**). Les Astéracées regroupent des espèces annuelles, vivaces ou pérennantes et aussi quelques espèces ligneuses : lianes, arbustes et même des arbres (**Botineau, 2010**).

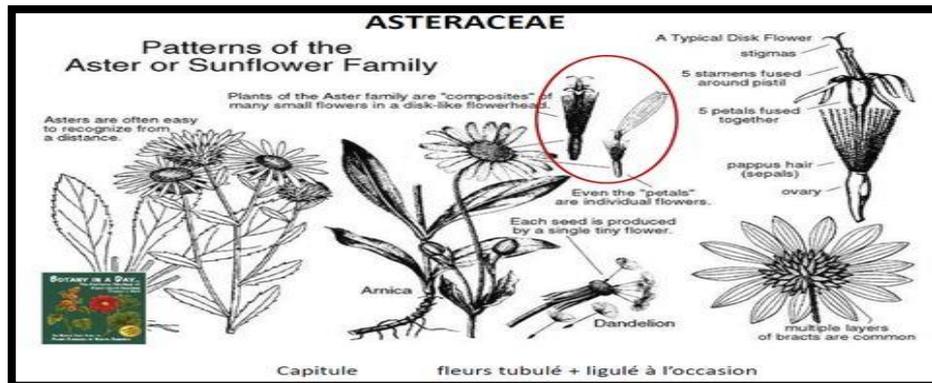


Figure 1 : la famille Astéracée (Wikipédia 2001)

III.1.2 Historique et généralité :

L'Artemisia Herba Alba ; en français l'Armoise herbe blanche est une plante mensuelle très répandue dans les zones arides à semi-aride. C'est une espèce du genre *Artemisia* (Armoise) qui appartient à la famille des Astéracées. Herbacée et peut mesurer de 30cm à 50cm de haut. Ses tiges sont florifères et élancées, un peu velues et ses feuilles sont oblongues, découpées en segments de couleur vert sur la face et blanc cotonneux sur leur partie inférieure (**figure1**), elle possède aussi des petites fleurs tubuleuses jaunes ; elle dégage une odeur très forte, parfois désagréable (**Ozenda, 1983; Baba Aissa, 2000**) Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les Flavonoïdes, les acides cafféoylquiniques, les coumarines, les huiles essentielles (**Kundan et Anupam., 2010**).

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés Thérapeutiques, et non seulement elles utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi Dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Mirjalili et al. 2007**).



Figure 2 : la plante herba alba

III.1.3 Description botanique :

L'Armoise blanche est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées, de 30 à 50cm, très feuillées avec une souche épaisse. Les feuilles sont petites, sessiles, pubescentes et à aspect argenté. Les fleurs sont groupées en grappes, a capitules très petites (3/ 1,5 mm) et ovoïdes. L'involucre est à bractées imbriquées, les externes orbiculaires et pubescentes. Le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (POTTIER, 1981), La formule florale correspondante est : 5S+5P+5E+2C. Elle se distingue par une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent. (NABLI, 1989).

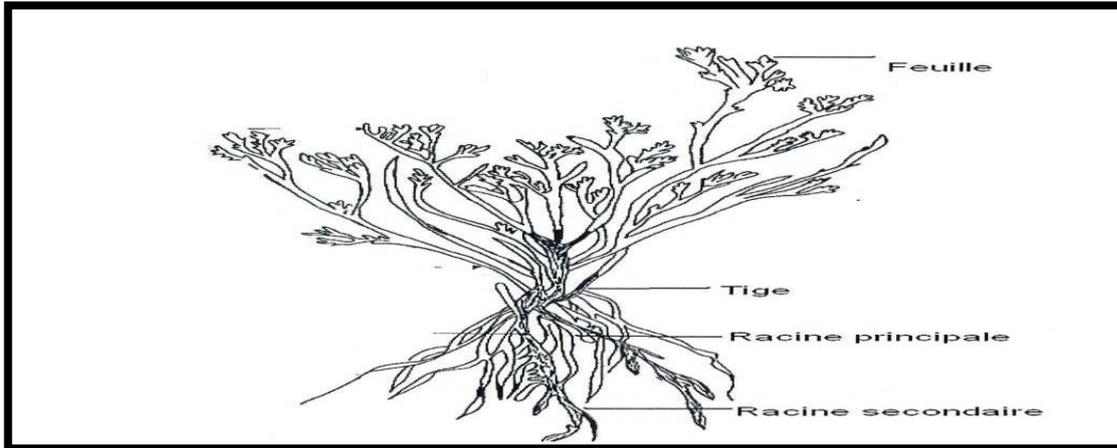


Figure 3 : Morphologie générale de la plante Artemisia herba-alb

III.1.4 Position systématique :

Artemisia est le nom de genre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis; herba-alba signifie herbe blanche (Nabli, 1989). Son nom scientifique est *Artemisia herba-alba* asso ou *Artemisia incultadel*.

Phylum: Angiospermeae.

Sous Phylum: Dicotylédones

Ordre: Gampanulatae

Famille: Asteraceae.

Sous-famille: Asteroideae.

Tribu: Anthemideae.

Sous-tribu: Artemisiinae.

Genre: Artemisia.

Espèce: *Artemisia Herba-alba*..

III.1.4 La distributions géographique et Ecologique :

L'Armoise est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne Jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, *Artemisia herba-alba* est absente des zones littorales nord et se raréfie dans l'extrême sud (Nabli, 1989). L'armoise blanche existe dans les bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien. Elle est indifférente aux altitudes et peut vivre dans les régions d'hiver chaud à frais. Dans le sud, cette plante pousse sur les sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur les sols sableux. Elle résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés (Nabli, 1989).



Figure 4: répartition L'armoise blanche en Algérie

III.1.5 Composition chimique :

La partie aérienne d'*Artemisia herba alba* possède des activités antioxydantes significatives. En effet cette partie de la plante est riche en composés doués d'activité antioxydantes tels que: les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants

exercent ses actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion peroxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (**Bruneton, 1999**).

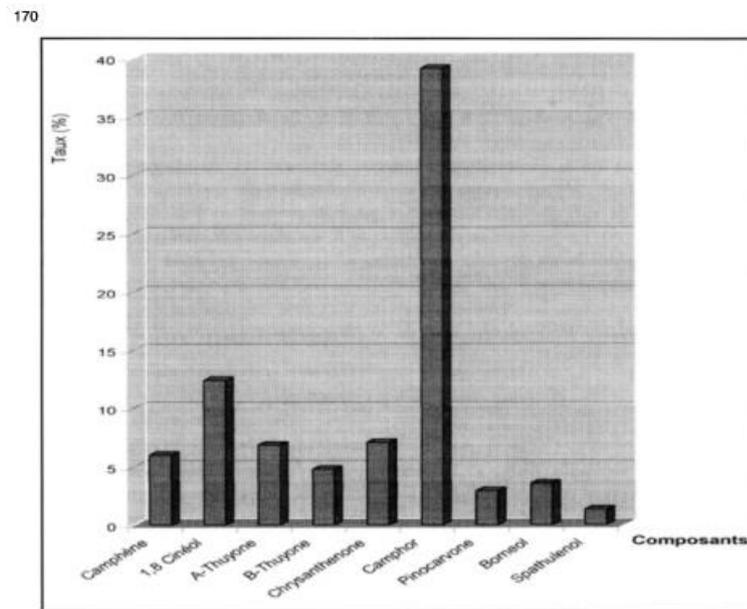


Figure 5: composition des huiles essentielles des parties aériennes *Artemisia herba alba*.

III.2 La famille des Urticaceae :

La famille des orties Urticaceae était anciennement classée dans l'ordre des Urticales mais désormais dans l'ordre des Rosales dans les plantes dicotylédones. La famille comprend environ 54 à 56 genres et environ 2625 espèces. Elle a une distribution mondiale, mais elle n'existe pas dans les climats arctiques. Les espèces de cette famille des Urticacées poussent en plantes herbacées annuelles ou vivaces ou en plantes ligneuses telles que lianes, arbustes et rarement des arbres (par exemple, *Cecropia*). Certaines espèces contiennent un jus laiteux aqueux. Ils peuvent être à feuilles persistantes ou à feuilles caduques. Les espèces sont monoïques ou dioïques; certaines espèces sont à fleurs unisexuées et hermaphrodites.

III.2.1 *L'Urtica dioica L* :

Considérée comme une «mauvaise herbe», est une des rares plantes que l'on peut reconnaître les yeux fermés vu son contact irritant. L'ortie a donné son nom à toute une famille, les Urticacées qui comprend une cinquantaine de genres et de 700 espèces. La grande ortie est une plante herbacée, vivace, de 0,6 à 1,2 m de hauteur et une longue durée de vie (**Draghi, 2005**). Le nom *Urtica* est un nom d'origine latin *uro* ou *urere* qui signifie « je brûle », allusion

à ses poils urticants. Le terme dioica vient de dioïque, ce qui signifie que les fleurs mâles et femelles se trouvent sur des pieds séparés (Camille et Christine, 2009).



Figure 7: la plante l'ortie (Wikipédia 2017)

III.2.2 Position systématique :

Elle est positionnée comme ci-dessous suivant l'Angiosperme Phylogénie Groupe APGIII en (2009).

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta

Sous-embranchement : Magnoliophytina

Classe : Rosidae

Sous-classe : Rosidae dialycarpellées

Ordre : Rosales

Famille : Urticaceae

Genre : *Urtica*

Espèce : *Urtica dioica* L.

III.2.3 Dénomination :

Nom latin : *Urtica dioica* L.

Noms français : ortie élevée, ortie dioïque, ortie piquante, grande ortie.

Noms anglais: Greater Nettle, Nettle, Common Nettle, Tall Nettle, Slender Nettle, Stinging Nettle (**Camille et Christine, 2009**).

D'après **Beloued (1998)**, **Wichtl et Anton (1999)**, et **Ghedira et al., (2009)**, les noms vernaculaires d'*U. dioica* L. sont les suivants :

Arabe : Elhourayga (الحرايقة).

Kabyle : Azagtouf.

Allemand : Brennessel blatter, Brennessel kraut

Italien : Ortica comune.

III.2.4 Distribution géographique :

De nos jours, l'ortie est répandue dans les zones tempérées sur tous les continents, et originaire d'Eurasie (**Camille et Christine, 2009**). Elle se trouve dans le monde entier et dans toutes les régions montagneuses jusqu'à 2400m (**Draghi, 2005**). Elle est indigène de l'Afrique, de l'Asie occidentale, de l'Amérique du Sud et de l'Europe (**Zhang et al., 2005**). En Algérie, elle parcourt les ravins frais des montagnes de l'Atlas de Blida et Djurdjura

III.2.5 Description botanique :

III.2.5.a Les feuilles :

L'ortie présente des feuilles simples charnues, opposées deux à deux, tombantes, dentelées, de couleur vert foncée, riche en chlorophylle (**Moutsie, 2008**). Elles mesurent environ 1,5-20 cm de long par 0,6-12cm de largeur. Elles sont plus longues que larges (**Reaume, 2010 ; Upton, 2013**). Pétiolées, stipulées, caractérisées par une faible odeur herbacée, velues sur les deux faces et munies de poils que sur le dessus.

III.2.5.b La tige :

Cette plante présente une tige velue, dressée, non ramifiée et quadrangulaire ayant des poils urticantes et des poils courts, très fibreuse (**Schaffner, 1992**). Ces tiges sont fortes à section carrée, plus ou moins raides

III.2.5.c Les poils urticants :

Les poils urticants monocellulaires en forme de pointe aigue, sur un bulbe basilaire enflé pluricellulaire, fragiles. Ces poils se brisent aisément et se vident de leur contenu très irritant. On peut distinguer deux parties :

- La base ressemblant à une ampoule qui renferme les substances urticantes (Acétylcholine, sérotonine, histamine, acide formique, formiate de sodium).
- Une pointe effilée à l'aspect d'aiguille, coiffée d'une petite boule qui se brise facilement lors d'un contact. Elle laisse ainsi s'échapper le contenu de l'ampoule qui pénètre dans la peau, ce qui provoque une irritation locale (**Wichtl et Anton, 2003**).

III.2.5.d Les racines :

L'ortie est composée de longues racines de 1 à 5 mm d'épaisseur pourvues d'un chevelu de fines racines; de rhizomes cylindriques de 3 à 10 mm d'épaisseur (**Wichth et Anton 19991**). Ce dernier considéré comme une racine spécialisée (tige souterraine) de couleur jaunâtre, abondamment ramifié. La fixation d'azote par les rhizomes se fait par une symbiose avec un microorganisme tellurique *Rhizobium frankia* (**Langlade, 2010**).

III.2.6 Composition chimique:

Urtica dioica L. synthétise une gamme extraordinaire de métabolites secondaires (**Coxet al., 1994**). Les scientifiques accordent un important intérêt à sa composition chimique principalement des flavonoïdes, des tanins, des acides gras, des polysaccharides, des stérols, des protéines (**Gul et al., 2012**), vu son usage traditionnel millénaire (**Tita et al., 2009**).

D'autre part, les feuilles d'ortie sont riches en glucides (9%), en protides (8%) et en contiennent 80% d'eau (**Couplan, 2011**). Les feuilles constituent une bonne source de flavonoïde, de tanins, des acides aminés essentiels, de vitamines, d'hydrates de carbone rares, de plusieurs minéraux et oligo-éléments et des éléments nutritifs (**Toldy et al., 2005**).

tableau 1: propriétés thérapeutiques de l'ortie :

III.3 La famille des Lamiacées :

Tableau 5 : Propriété thérapeutique d *urtica dioica*

<i>Propriétés Thérapeutiques</i>	<i>Actions</i>	<i>Références</i>
Traitement de cancer prostatique et d'hypertrophie bénigne de la prostate.	Les effets de la racine d'ortie dans le traitement de l'HBP. (un effet comparable à celui de la tamsulosine).	- Durak <i>et al.</i> , 2004. - Hoffman, 2006 - Konrad <i>et al.</i> , 2000 - Safarinejad, 2005 - Schneider et Rubben, 2004
Hypotenseur	Les racines d'ortie peuvent produire des réponses hypotensives à travers des effets vasodilatateurs, par la libération de l'oxyde d'azote endothélial et par l'ouverture des canaux potassiques, et à travers une action inotrope négative	- Blumenthal, 2000 - Broncano, 1983. - Legssyer <i>et al.</i> , 2002. - Newall <i>et al.</i> , 1996. - Tahri <i>et al.</i> , 2000. - Testai <i>et al.</i> , 2002
Diurétique	Augmente le débit urinaire	- Blumenthal, 2000. - Tahri <i>et al.</i> , 2000
Hépatoprotectrice, Dépurative,	Elimination des toxines accumulées dans l'organisme (urées, ions de chlorure). La feuille aide à assainir autant la lymphe que le sang en diminuant l'acidité tout en régulant les facteurs inflammatoires.	Turkdogan <i>et al.</i>, 2003 - Yener <i>et al.</i> , 2008.
Anti-anémique, Anti-agrégation plaquettaire	Antifatigue grâce à la forte teneur en fer contenu dans la chlorophylle des feuilles.	- El houari <i>et al.</i> , 2006
Anti-allergique, Anti-oxydante	Utile dans le traitement de l'allergie au pollen, traitement de longue durée. Effets sur les récepteurs clés et les enzymes associés à la rhinite allergique(feilles)	- Gulcin <i>et al.</i> , 2004 - Ilhami <i>et al.</i> , 2004 - Mittman, 1990. - Roschek <i>et al.</i> , 2009
Anti-inflammatoire, Immunostimulateur	Activité inhibitrice sur un oedème de patte de rat des polysaccharidique de l'extrait aqueux des racines. Une activité immuno-stimulatrice des flavonoïdes glycosides des feuilles sur les neutrophiles	- Akbay <i>et al.</i> , 2003 - Capasso <i>et al.</i> , 2003 - Glusker et Rossi, 1986 - Wagner, 1994
Traitement de rhumatismes et Arthrose	Effet sur la maturation des cellules dendritiques myéloïdes humaines, avec diminution de l'induction la réponse des cellules T primaires du rhumatisme articulaire. Consolidation des cartilages grâce à sa richesse en Silice (surtout les racines).	- Broer et Behnke, 2002 - Wang et Wei, 2001.
Effet sur la fonction cérébrale et la mémoire	La feuille d'ortie est capable de diminuer la transcription des facteurs de l'inflammation, et de stimuler la performance cérébrale	Wichtl et Anton, 2003.
Alopécie (chute des cheveux)	Stoppe la chute des cheveux. (surtout les racines)	- Davis, 1982

Il s'agit de l'une des principales familles de plantes dicotylédones, qui comprend environ 258 genres et 6900 espèces plus ou moins cosmopolites, mais particulièrement répandues depuis le Bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale. (**Jean monord et al.,2004**).

Les Lamiacées sont le plus souvent des plantes herbacées, annuelles ou vivaces aromatiques, des sous-arbrisseaux et rarement des arbres ou des lianes. La section des tiges est carrée et les feuilles opposées parfois verticillées. Les fleurs sont généralement bilabiées, à corolle irrégulière zygomorphe, possédant quatre étamines dont deux sont longues et deux sont courtes. (**Blamey et wilson, 1991**)

Par ailleurs, cette famille est une source importante d'huiles essentielles pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques, sont traditionnellement utilisées dans remèdes naturels contre : l'asthme, l'ingestion, les maux de têtes et le rhumatisme. (**Jun et al., 2001**)

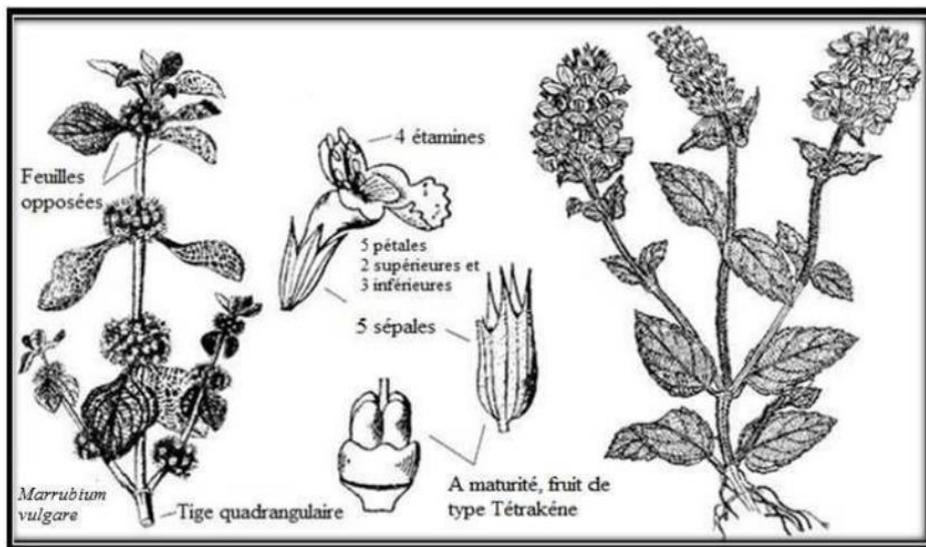


Figure 10: Les caractéristiques morphologiques d'une Lamiacée (Skafia-Crete, 2018).

III.3.1 Distribution géographique :

Selon **Judd et al. (2002)**, la distribution géographique des lamiacées est cosmopolite. Les Lamiacées sont rencontrées sous tous les climats, à toutes les latitudes.

Certains des 200 genres que compte la famille sont quasiment cosmopolites, d'autres ont une distribution plus restreinte. Rare dans le milieu forestier tropical, les Lamiacées se concentrent dans la région méditerranéenne (**Bruneton, 2001**). Ils sont comprennent environ 2500 espèces dont l'aire de disposition est extrêmement étendue, elles sont particulièrement

abondantes dans la région méditerranéenne (Crété, 1965). Sont surtout des plantes méditerranéennes qui, au Sahara ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf les trois espèces *Marsupium deserti*, *Salvia aegyptica* et *Teucrium polium* qui, thym sont plus largement répandues et en particulier, les deux premières espèces (Ozenda, 2004).

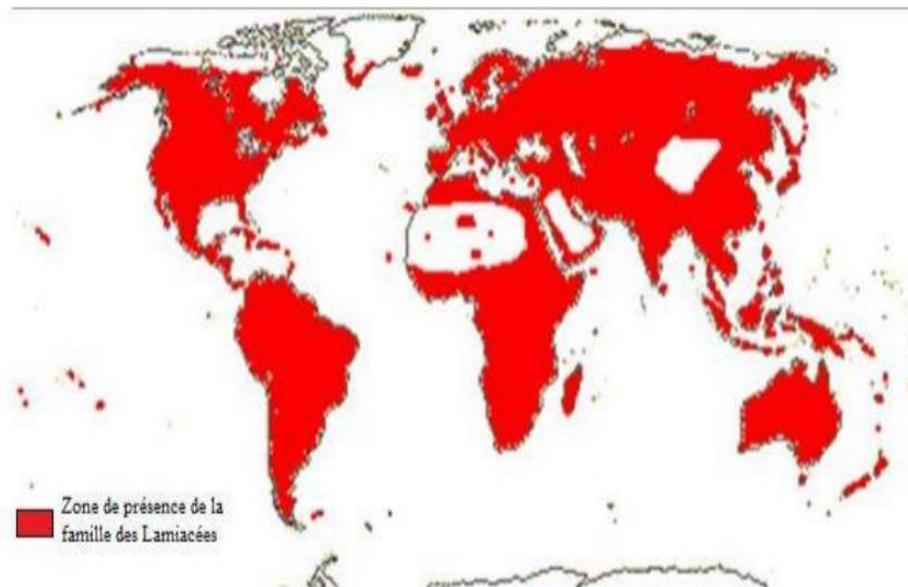


Figure 11: Carte de répartition géographique de la famille des *Lamiacées* (Stevens, 2001).

III.3.2 Intérêt économique :

La famille renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par leurs huiles essentielles, soit pour leur usage condimentaire, elles appartiennent aux genres *Mentha* (la Menthe), *La vandula* (la Lavande), *Marrubium* (le Marrube), *Nepeta* (L'Herbe aux chats), *Ocimum* (le Basilic), *Origanum* (l'Origan), *Rosmarinus* (le Romarin), *Salvia* (la Sauge), *Satureja* (la Sarriette) et *Thymus* (le Thym).

Les tubercules de quelques espèces de *Stachys* sont comestibles.

Tectona (le Tek) fournit un bois d'œuvre important. De nombreux genres contiennent des espèces ornementales: on peut citer parmi eux *Ajuga*, *Callicarpa*, *Clerodendrum*, *Monarda*, *Salvia*, *Scutellaria* et *Vitex* (Judd et al., 2002). Un très grand nombre de genres de la famille des *Lamiaceae* sont des sources riches en terpénoïdes, flavonoïdes et iridoïdes glycosylés.

Le genre *Phlomis* comparant près de 100 espèces est particulièrement riche en flavonoïdes, phényléthanoïdes, phénylpropanoïdes et en iridoïdes glycosylés. Le genre *Salvia*, comprenant

près de 900 espèces majoritairement riche en diterpénoides et le genre *Marrubium* avec environ 30 espèces réparties dans un grand nombre de pays du globe (Bonnier, 1909).

III.3.4 Caractéristique botanique de *Thymus*

Le nom *Thymus* dérive du mot grec « thymos » qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariante, 2001).

III.3.4.1 Aspect botanique :

L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserin, 2001).

Cette plante aromatique endémique se trouve à l'état spontané sous forme d'un sous-arbrisseau très ramifié à la base et très feuillu présentant un polymorphisme remarquable et pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (Morales R, 2002). Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *Thymus vulgaris* L. localement connu zaatar. En français et anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre (thym et thyme respectivement) pour désigner l'espèce *Thymus vulgaris* (Amiot J, 2005).

III.3.4.2 Description morphologique :

Les feuilles du thym sont plus au moins contractées et les inflorescences sont en faux verticilles. Le calice quant à lui est tubuleux et la corolle est plus au moins exserte (Quezel et Santana, 1962).

Elle est constituée de petites feuilles florales plus ou moins tachées de pourpre au moins à la base. Ces dernières sont peu dilatées et opposées, sans stipules, courtement pétiolées, oblongues, glabres mais généralement ciliées à la base et un peu enroulées sur les bords colorées (Delanch et al, 1978 ; Quezel et Santa, 1962)

Les feuilles sont sessiles, elliptiques, lancéolées et très densément velues. Il possède de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose.

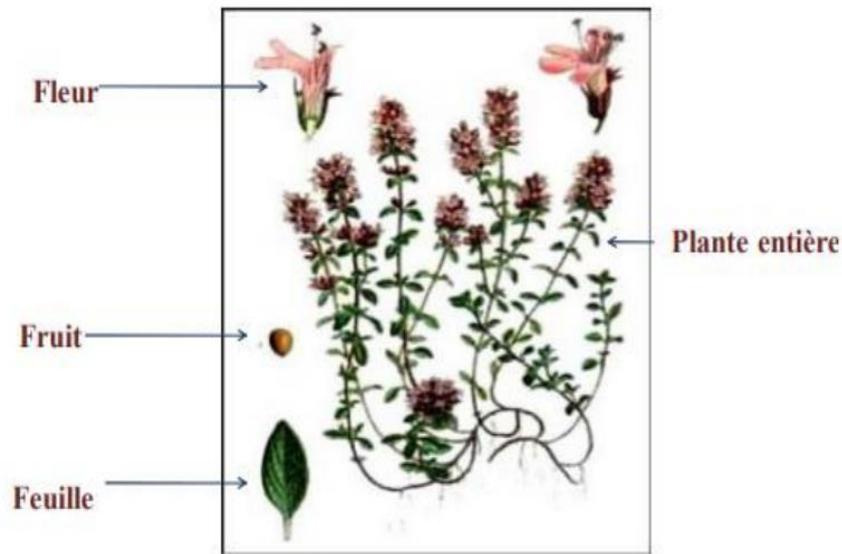


Figure 12 : aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L. (Iserin,2001)

III.3.4.3 Position systématique :

Elle est positionnée comme ci-dessous suivant l'Angiosperme Phylogénie Groupe APGIII en (2009).

Règne :	Plantes
Sous règne :	Plantes vasculaires
Embranchement :	Spermaphytes
Sous- embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous - classe :	Dialypétales
Ordre :	Labiales
Famille :	Lamiacées
Genre :	<i>Thymus</i>
Espèce :	<i>Thymus vulgaris</i> . L

III.3.4.4 Répartition géographique :

Le thym est une plante qui est très répandue dans le bassin méditerranéen : Maghreb, France, Espagne, Italie. Aussi dans les montagnes d'Arabie du Sud-ouest et dans la péninsule de Sinaï en Égypte. Le thym pousse également en Sibérie et en Europe du Nord (**Jalas, 1991**).

Le thym est une plante répandue en Algérie, les différentes espèces qui y existent sont réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (**Kabouche et al., 2005**).

Il se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines, comme la lavande, le romarin, la sauge et beaucoup d'autres plantes sauvages (**Kaloustian et al., 2003**).



Figure 13 : répartition géographique de *Thymus Vulgaris* en Algérie

III.3.4.5 COMPOSITION CHIMIQUE :

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection).

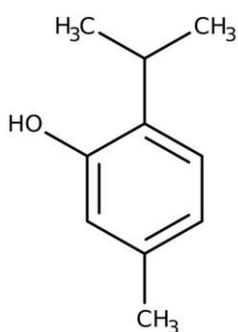
L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité intraspécifique, qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produits chimiques (**Balladin et Headley, 1999 ; Amiot, 2005**).

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (**Bruneton, 1999**) ; l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été analysée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à une spectrométrie

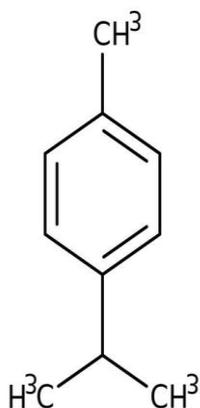
de masse (SM), 30 composés ont été identifiés et caractérisés, les plus abondant sont respectivement

Tableau 2 : Les caractéristiques d’huile essentielle de *Thymus vulgaris* était sa teneur élevée du thymol (Guillén et Manzanos, 1998 ; Balladin et Headley,1999 ; Hudaib et al., 2002 ; Bouhdid et al., 2006).

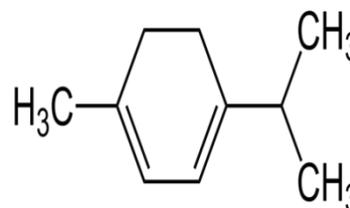
La composition	Le pourcentage
Thymol	44,4 - 58,1 %
p-cymene	9,1 - 18,5 %
Ū-terpinène	6,9 - 18,0 %
Carvacrol	2,4 - 4,2 %
Linalol	4,0 – 6,2 %



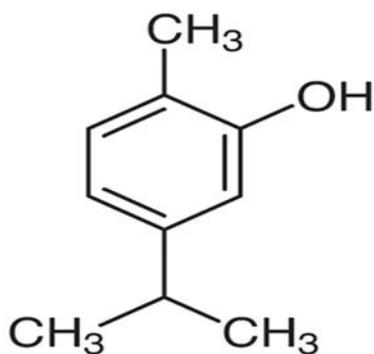
Thymol



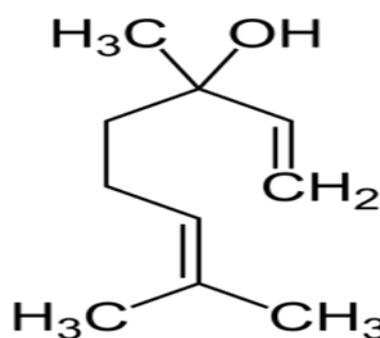
p-cymene



Ū-terpinène



Carvacrol



Linalol

Figure14 : compositions chimiques de thymus vulgaris.

– Le contenu phénolique total, flavonoïdes , catéchine, et anthocyanine dans l’infusion aqueuse préparée du thymus vulgarisa été déterminé par des méthodes spectrophotométriques (Kulišic et al., 2006).

III.3.5 Plante *Marrubium vulgare* L :

On trouve 2 origines possibles : Le nom latin de *Marrubium* proviendrait de *Maria urbs* une ancienne ville d'Italie. L'autre origine serait de l'hébreu *marrob* désignant un jus amer.

III.3.5.1 Aspect botanique :

Le genre *Marrubium* comporte quelque 40 espèces, répandues principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasiatique et quelques pays d'Amérique Latine (**Rigano et al ,2006, Meyre et al ,2005**).

En Algérie, on retrouve 6 espèces différentes au sein de ce même genre: *Marrubium vulgare*, *Marrubium supinum*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alyssoides* Pomelet *Marrubium deserti* de Noé: (**Quezel et Santa, 1963**).



Figure 15 :
vulgare L (Weel al., 1999).

la plante *Marrubium*

III.3.5.2 Description morphologique :

Le marrube blanc est une plante herbacée vivace pouvant atteindre 80 cm de hauteur, à tige quadrangulaire cotonneuse. Les feuilles pétiolées, ovales ou arrondies, à limbe crénelé sur les bords, sont blanchâtres et duveteuses sur la face inférieure. Les fleurs petites, blanches, avec un calice à dents crochues sont groupées en verticilles globuleux à l'aisselle des feuilles.

- Le fruit est un tétra-akène.
- Le genre *Marrubium* est muni d'un calice à 10 dents, dont les 5 commissurales plus courtes, toutes terminées en pointe épineuse. C'est un Arbuste à tiges et face inférieure des feuilles blanches tomenteuses.

C'est une plante pérenne de couleur grisonnante ressemblant légèrement à la menthe, et qui peut atteindre 25 à 45 cm de hauteur. Ses feuilles duveteuses ont une longueur de 2 à 5 cm et un aspect froissé. Les fleurs sont blanches et comme beaucoup d'autres Lamiacées, le marrube a une tige carrée. C'est une plante à reproduction entomophile.

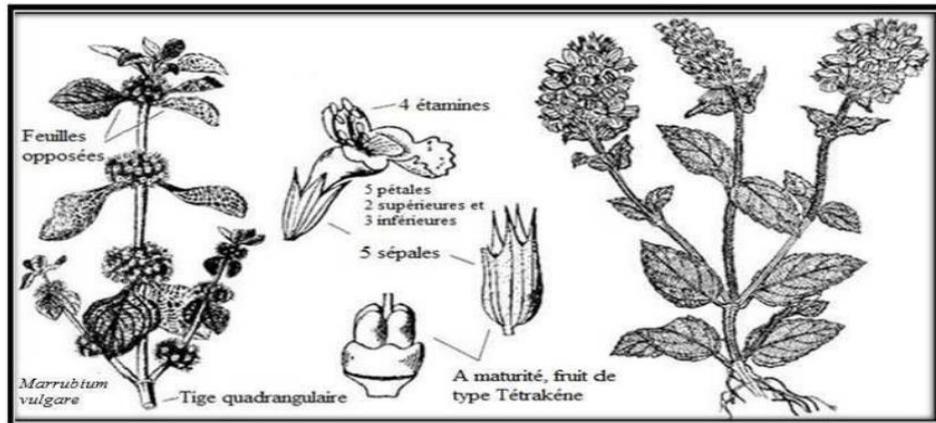


Figure 16 : Description botanique de *Marrubium Vulgare L.*

III.3.5.3 Position systématique :

Selon **Judd et al.,(2002)** la position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* Elle est positionnée comme ci-dessous suivant l'Angiosperme Phylogénie Groupe APGIII en (2009).

Règne:	Végétale
Sous-règne :	Plantes vasculaires
Embranchement:	Angiosperme
Classe:	Eudicots
Ordre:	Lamiales
Famille:	Lamiacées
Genre:	<i>Marrubium</i>
Espèce:	<i>Marrubium vulgare</i>

III.3.5.4 Répartition géographique :

Elle pousse dans toute l’Afrique du Nord et est commune dans toute l’Algérie et presque dans toute l’Europe, au centre et au Sud-ouest de l’Asie et aux Canaries (**Bonnier, 1990**).

Le genre *Marrubium* comporte quelques 40 espèces, répandues principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasien et quelques pays d’Amérique Latine (**Rigano, 2006, Meyre, 2005**).

Lieux incultes, décombres, terrains vagues, prairies chaudes et sèches, garrigues. En général sur sols calcaires (**Schlempher et al., 1996**).

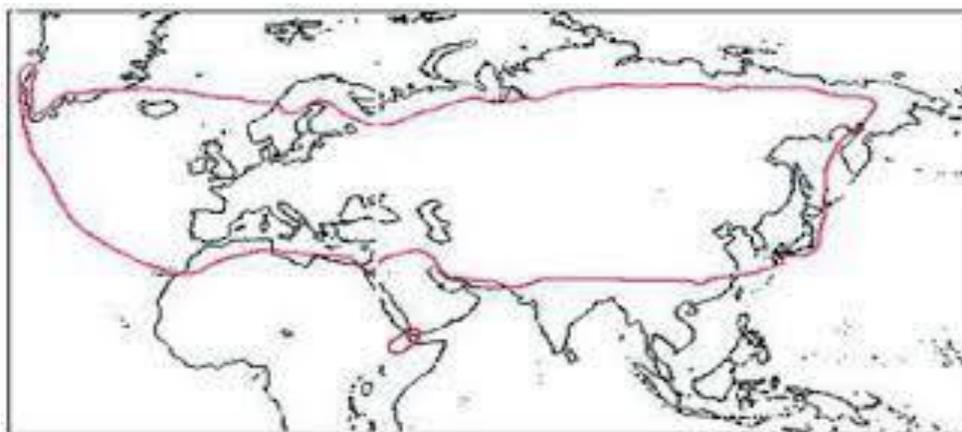


Figure 17 : répartition de *Marrubium* dans le monde

III.3.5.5 Composition chimique :

Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation et distillation-extraction et analysées par CPG et CPG/SM. En effet, l’analyse de celle d’*O. glandulosum* (rendement 2,7% v/m) a révélé la présence à des taux respectivement élevés de :

Tableau 4 : les compositions chimiques d’huile essentiel :

La composition	Le pourcentage
Carvacrol	45%
γ - terpinène	13%
p- cymène	11%
Thymol	6.6%

On y trouve des diterpènes amers de la série des furanolabdanes et surtout des composés de lactones: marrubiine principalement et son précurseur préfuranique, la prémarrubiine, mais aussi du pérégrinol, du vulgareol, du marrubéol et du marrubiol. Il y a également des

Hétérosides flavoniques du quercétol, de la lurtéoline ou de l'apigénine, mais aussi des lactoylflavones, et quelques dérivés de l'acide ursolique.

En outre il y a des tanins spécifiques des Lamiacées et dérivés de l'acide hydroxycinnamique (juste à 7%) (Acide chlorogénique, caféique, caféylquinique, mais absence d'acide rosmarinique).

Toute fois la présence d'une faible quantité d'huiles essentielles comportant différents composés monoterpéniques (moins de 1%: α -pinène, camphène, limonène) (**Wichtl et Anton, 2003**).

On retrouve également des saponosides, des flavonoïdes (Hétérosides flavoniques et flavonoliques du quercétol, de la lutéoline et de l'apigénine, lactoylflavones, dérivés de l'acide ursolique), des musilages, des résines, un peu d'huile essentielle (α -pinène, camphène, limonène, sabinène, para-cymène, para-fenchène,...) et des tannins(**Schlempher et al., 1996**).

IV.1 Activité antioxydante :

IV.1.1 Activité antiradicalaire au DPPH[•] :

Cette méthode a été développée par **Blois (1958)** dont l'objectif est de déterminer l'activité antioxydante en employant un radical libre stable l' α,α -diphényl- β -picrylhydrazyl. L'analyse est basée sur la mesure de la capacité d'un antioxydant à réduire le radical DPPH[•]. L'électron impair de l'atome d'azote dans le DPPH[•] ; initialement violet ; est réduit en recevant un atome d'hydrogène des antioxydants à l'hydrazine correspondante et se décolore donc en jaune (**Contrerasguzman et Strong, 1982**). Cette transformation peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm (**Molyneux, 2004**).

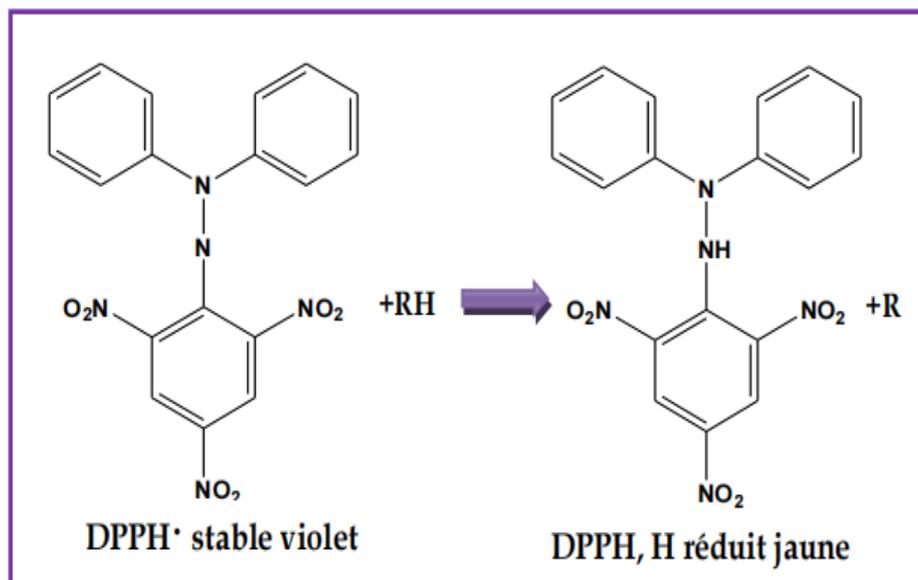


Figure 18: Transformation du radical DPPH• en DPPH, H (Gülçin, 2012).

IV.2.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+} :

L'activité ABTS a été déterminée par la méthode de **Re et al., (1999)**. Cette technique implique la production directe du chromophore ABTS^{•+} bleu/vert par une réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium. Ceci a des maximums d'absorption aux longueurs d'onde 645,734 et 815 nm. Le principe de cette méthode est basé sur la mesure de la consommation du radical ABTS^{•+} suite à l'addition d'un échantillon antioxydant. Ce dernier réagit avec ABTS^{•+} (en excès) par transfert d'électrons pour redonner l'ABTS (**Roginsky et Lissi, 2005**). L'activité des composés est alors exprimée par la Capacité Anti oxydante Equivalente Trolox (TEAC) qui correspond à la capacité anti oxydante d'une solution de Trolox[®] (1 mM) (analogue hydrophile de la vitamine E). Ainsi, plus la valeur TEAC est élevée, plus l'antioxydant est efficace (**Schlesier et al., 2002**).

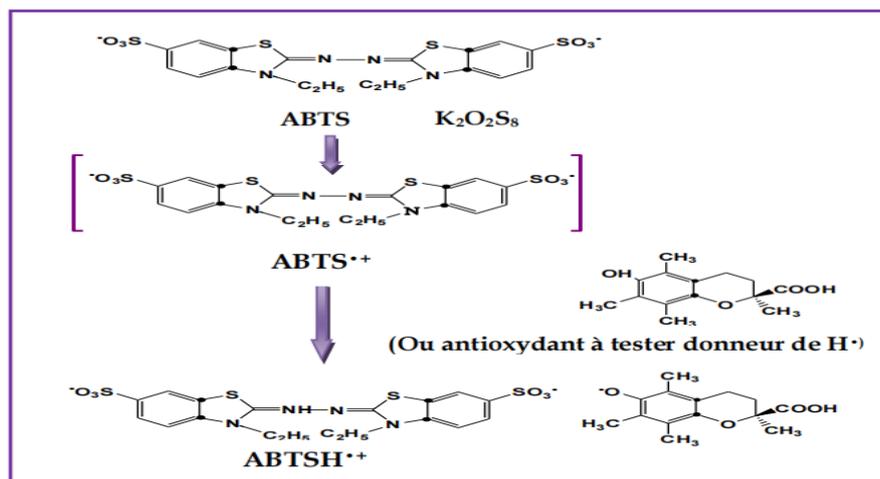


Figure 19 : Formation et piégeage du radical $ABTS^{\bullet+}$ par un antioxydant donneur de H^{\bullet}

IV.3 Activité enzymatique :

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

IV.3.1 Evaluation de l'activité anticholinestérase :

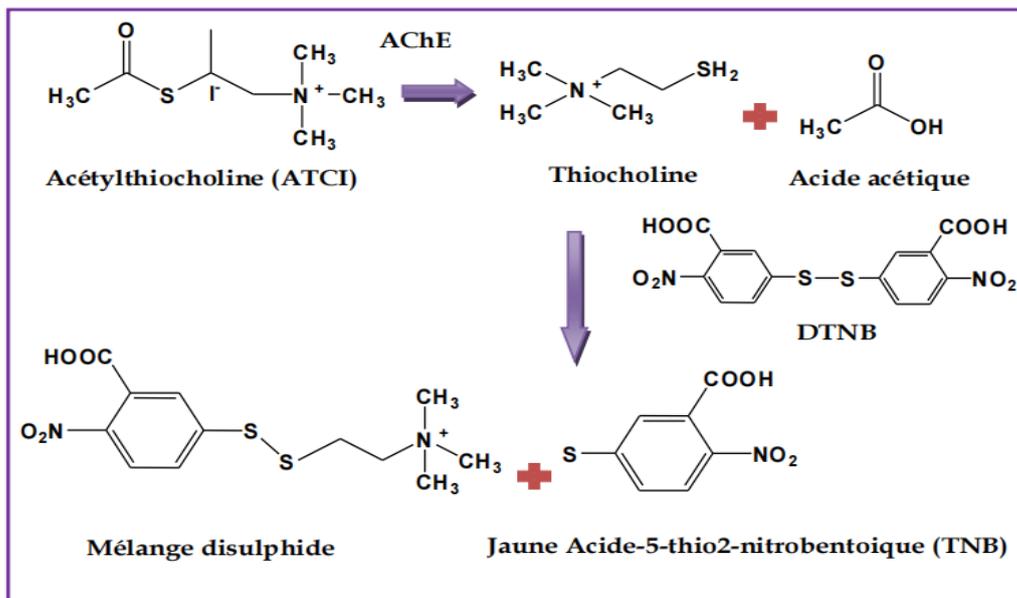
Les inhibiteurs actuels de l'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE) possèdent quelques effets secondaires défavorables et sont efficaces seulement contre le type doux de la maladie d'Alzheimer. En conséquence, il est très nécessaire de développer de nouvelles drogues naturelles avec des meilleurs inhibiteurs de l'AChE et du BChE afin de lutter contre cette maladie neurodégénérative (Orhan *et al.*, 2004).

IV.3.2 Inhibition de la butyrylcholinestérase :

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative associée à une perte progressive de la mémoire. L'une de ses caractéristiques est la diminution du taux de neurotransmetteur acétylcholine. La neurotransmission cholinergique est interrompue par deux cholinestérases. L'acétylcholinestérase hydrolyse l'acétylcholine dans la région post-synaptique. La deuxième enzyme, la butyrylcholinestérase, appelée également pseudo-cholinestérase, est aussi capable d'hydrolyser l'acétylcholine mais moins spécifique au substrat que l'AChE (Bajda *et al.*, 2018). Elle a une activité plus élevée dans le foie, l'intestin, le cœur, les reins et les poumons (Çokuğraş, 2003).

L'inhibition de cette enzyme va engendrer une augmentation de la concentration de l'acétylcholine, ce qui est considéré comme un traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer (**Orhan et al., 2004**).

Cette inhibition peut être évaluée *in vitro* selon la méthode d'**Ellman et al., (1961)**. Plusieurs études récentes indiquent que le BChE joue un rôle plus important dans le cerveau des personnes atteignant la maladie d'Alzheimer et que les inhibiteurs sélectifs du BChE Figure 20 : pourraient être des candidats médicaments prometteurs (**Bajda et al., 2018**).





Matriels et methodes



I. Matériel végétal et Échantillonnage :

Dans cette étude, les échantillons du matériel végétal utilisé ont été récoltés au mois de mars 2021 dans la région de Jbel agab a Oued l Athmaniya, sud-est de la wilaya de Mila (Figure 21), [Latitude 36° 26'.53" N.Longitude 6° 18'.44" E)].



Figure 21: Site d'échantillonnage.



Figure 22 : Localisation de la commune djbel agab dans la wilaya de Mila.

- Le matériel végétal est constitué de feuilles des *plantes thymus, marrubium, artemisia, urtica*. Les feuilles sont lavées puis laissées sécher à l'ombre et à température ambiante dans un endroit aéré, pendant 30 jours.
- Les feuilles sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique et le broyat obtenu a été conservé dans des sachets en papier à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.

I.1 Matériel de laboratoire :

I.3 Extraction par macération dans le méthanol aqueux(extraction solide/liquide) :

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes).

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par Hamiaet al.(2014), avec quelques modifications.

Le protocole de la macération de cette plante est le suivant :

- Peser 50 gramme de la matière végétale;
- Mettre la matière végétale (50 g) sur le méthanol aqueux); (250 ml de méthanol +75 ml de l'eau) ;
- Agiter de temps en temps;
- Laisser macérer pendant 24 h, ensuite filtrer sur un papier filtre Wathman (n°:1);
- Récupérer le filtrat dans un flacon;

I.4 Extraction avec de l'eau (extraction solide/liquide) :

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par Nshimiyimana et He, 2010 en y apportant quelques modifications :

Le protocole de cette pour chaque plante est le suivant (Figure):

- Peser 30 gramme de la matière végétale;
- Ajouté la matière végétale broyée au 210 ml eau distillée puis agiter manuellement et doucement;
- Laisser macérer pendant 24 h
- Filtrer sur un papier filtre Wathman n°1;
- Récupérer le filtrat dans un flacon.

I.5 Evaporation :

Les deux solutions obtenues ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rotavap (Figure) qui permet a éliminé le solvant sous vide.

Le protocole d'évaporation est le suivant :

- Placer la solution dans le ballon d'évaporation;
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant (température 45°C)
- Retirer le ballon du rotavap et attendre qu'il soit froid;
- Peser le ballon afin de calculer le rendement d'extraction;
- Récupération de matière solide avec quelque gouttes de méthanol ou bien de l'eau distillée selon le protocole ;
- Mettre la solution dans boite de petri ;

➤ Laissez-les sécher à l'air.

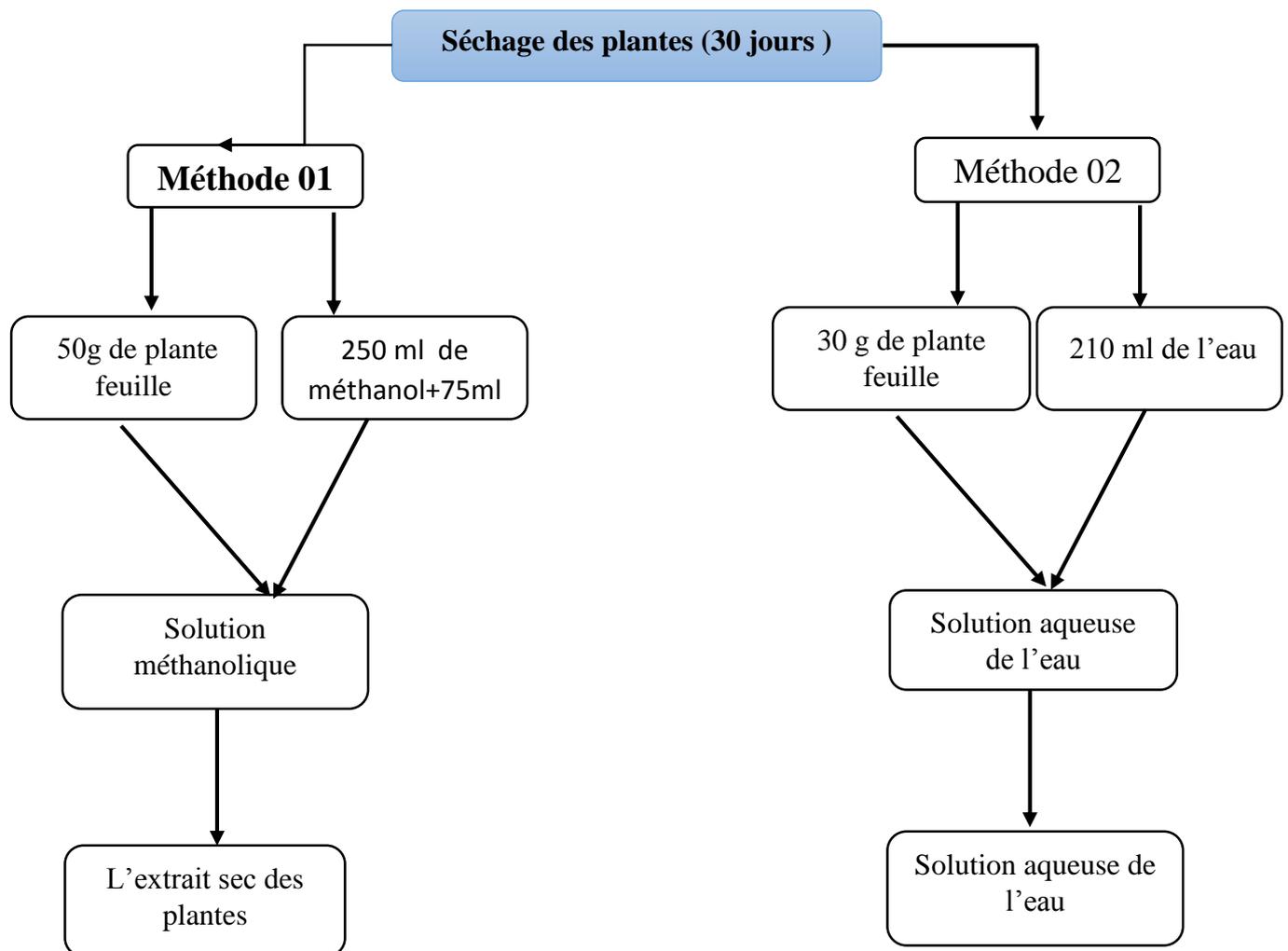


Schéma des extraction méthanol et l' eau

I.6 Détermination du rendement :

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage des métabolites secondaires dissouts dans un solvant organique et/ou aqueux utilisé pour l'extraction

(Abe et al., 2010). Il est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue après évaporation du solvant et la masse de la poudre végétale utilisée. Ce rendement est calculé par l'équation suivant :

$$R (\%) = [M1/ M0] \times 100$$

R % : Rendement des extraits exprimés en pourcentage (%).

M1 : la masse de l'extrait sec.

M0 : la masse de la poudre végétale

I.7 Le principe du rotavapor

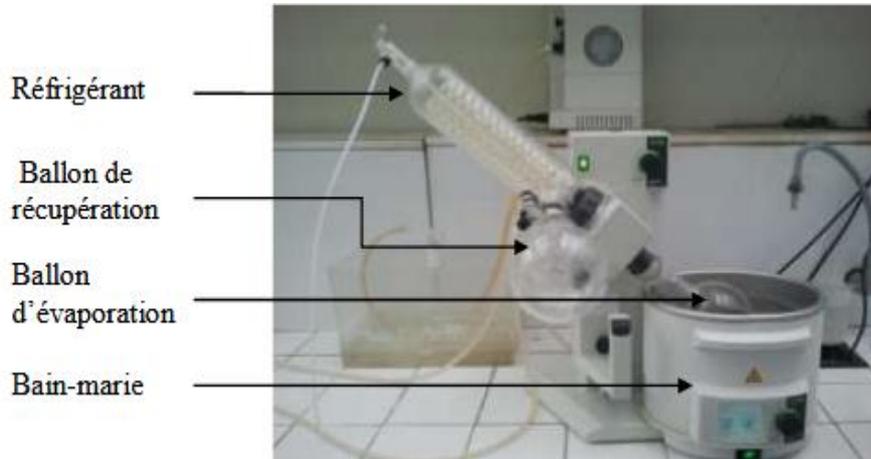


Figure 23 : Evaporateur rotatif (Rihane et Benlahreche, 2013).

Le principe du rotavapor est basé sur la distillation du macérât sous vide.

Le mode d'emploi de cet appareil est suivant :

(<http://www.lachimie.fr/materiel/evaporateur.php>)(Consulter et rédiger par Rihane et Benlahreche, 2013):

- ✓ Placer le macérât à évaporer dans le ballon d'évaporation;
- ✓ Mettre ensuite le ballon d'évaporation sous rotation ;
- ✓ Ouvrir le robinet d'eau froide relié au réfrigérant ;
- ✓ Fermer ensuite la vanne reliant le montage à la pression extérieure (vanne de fermeture) et faire le vide à l'intérieur de l'appareillage à l'aide d'une trompe à eau ;
- ✓ Si l'évaporation n'est pas assez rapide, plonger le ballon d'évaporation contenant le macérât à évaporer dans le bain marie d'eau chaude ;
- ✓ Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant ;
- ✓ Ouvrir la vanne de fermeture pour remettre la pression atmosphérique à l'intérieur du dispositif ;

I.8 EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES PAR HYDRODISTILLATION :

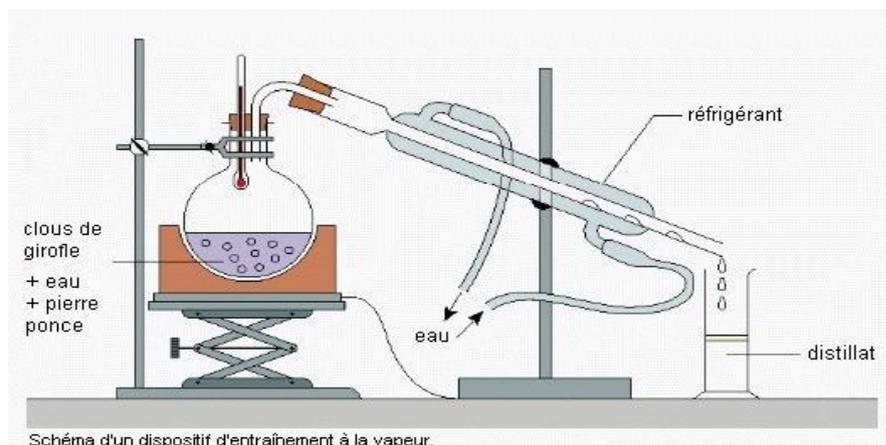


Figure 24 : schéma de principe de la technique d'hydrodistillation (LUCCHESI , 2005).

Dans cette méthode le matériel végétal à extraire est contact direct avec l'eau en ébullition, la vapeur d'eau produite entraîne avec elle les essences de la plante (Belleau,1990).

II Activités biologiques

Les mesures des absorbances des activités biologiques ont été faites à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits de marque PerkinElmer (USA) avec son logiciel EnSpire au niveau du laboratoire de Biochimie au CRBt de Constantine.

II.1 Estimation du contenu total en polyphénols (TPC)

Le contenu en polyphénols totaux est détecté en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) (Singleton et Rossi, 1965) par la méthode de dosage sur microplaque de 96 puits décrite par Muller *et al.*; (2010). Un volume de 20 µl d'extrait de plante (1 mg d'extrait dissout dans 1 ml de méthanol) est ajouté à 100 µl de FCR dilué (1:10). Ensuite un volume de 75 µl de carbonate de sodium (7,5%) est additionné. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante. L'absorbance de différentes intensités de la couleur bleue résultante est déterminée à 765 nm.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). L'acide gallique est utilisé comme contrôle positif, à partir de lequel une courbe d'étalonnage a été établie.

II.2 Estimation du contenu total en flavonoïdes (TFC) :

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes. La méthode décrite par Topçu *et al.*, (2007) est utilisée et adaptée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque à 96 puits. Un volume de 50 µl de l'extrait est mélangé avec : 130 µl de méthanol, 10 µl d'acétate de potassium et 10 µl de nitrate d'aluminium. Le mélange est ensuite maintenu à la température ambiante pendant 40 min puis une lecture d'absorbance est réalisée à 415 nm. La quercitrine est utilisée comme contrôle positif, à partir duquel une courbe d'étalonnage a été établie.

II.3 Activité antioxydant :

L'activité antioxydant des extraits *de 4 plantes* a été réalisée par l'utilisation de deux méthodes : Piégeage du radical libre DPPH, piégeage de l'ABTS.

II.3.1 Activité anti radicalaire au DPPH :

L'activité anti radicalaire au DPPH est déterminée spectrophotométriquement par la méthode décrite par **Blois (1958)**. Brièvement, sur une microplaque à 96 puits, une solution de 160 µl du DPPH[•] a été mélangé avec 40 µl de l'extrait préparé à plusieurs concentrations. Le mélange a été maintenu à une température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min. L'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le BHA est utilisé comme standard.

II.3.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+} :

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de **Re et al., (1999)**. Sur une microplaque à 96 puits, un volume de 160 µl d'ABTS^{•+} a été ajouté à 40 µl de l'extrait dilué dans le méthanol à plusieurs concentrations. Le mélange a été maintenu à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 734 nm après 10 min d'incubation **H•** (**Gülçin, 2012**).

- Le pourcentage de réduction du radical ABTS^{•+} est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Activité ABTS (\%)} = \frac{[\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}]}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Le pourcentage d'inhibition de différents extraits a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[(A C - A E) / A C] \times 100}{1}$$

AC : Absorbance du contrôle.

AE : Absorbance de l'extrait.

Nous avons déterminé le paramètre **CI50** (valeur de concentration inhibitrice), c'est la concentration de l'extrait qui provoque une inhibition de **50%** de l'activité du **DPPH** (changement de la couleur). Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées. Donc **IC 50** de chaque extrait est calculé :

$$CI_{50} = (Y - b) / a$$

II.3.4_ Activité enzymatique :

II.3.4.3 Inhibition de la butyrylcholinestérase

L'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase (BChE) de divers extraits des 4 plante a été mesurée par la méthode spectrophotométrie développée par **Ellman et al., (1961)**. Brièvement, un volume de 150 µl de tampon phosphate de sodium à (pH 8) (100 mM) est ajouté à 10 µl d'une solution d'extrait dissoute dans le méthanol à différentes concentrations et à 20 µl de BChE ($6,85 \times 10^{-3}$ U). Le mélange est incubé pendant 15 minutes à 25°C, puis 10 µl de DTNB (acide 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)) (0,5 mM) ont été ajoutés. Ensuite, la réaction a été initiée par l'addition de 20 µl le chlorure de butyrylthiocholine (0,2 mM). L'hydrolyse de ces substrats est suivie par spectrophotométrie à 412 nm avec la formation d'une couleur jaune d'anion 5-thio-2-nitrobenzoate de méthyle, résultante de la réaction du DTNB avec la thiocholine libérée par l'hydrolyse enzymatique de chlorure de butyrylthiocholine. La galanthamine a été utilisé comme composé de référence.

- Le pourcentage d'inhibition de l'enzyme d'AChE est déterminé par rapport au blanc (méthanol avec le phosphate buffer pH 8) par la formule suivante :

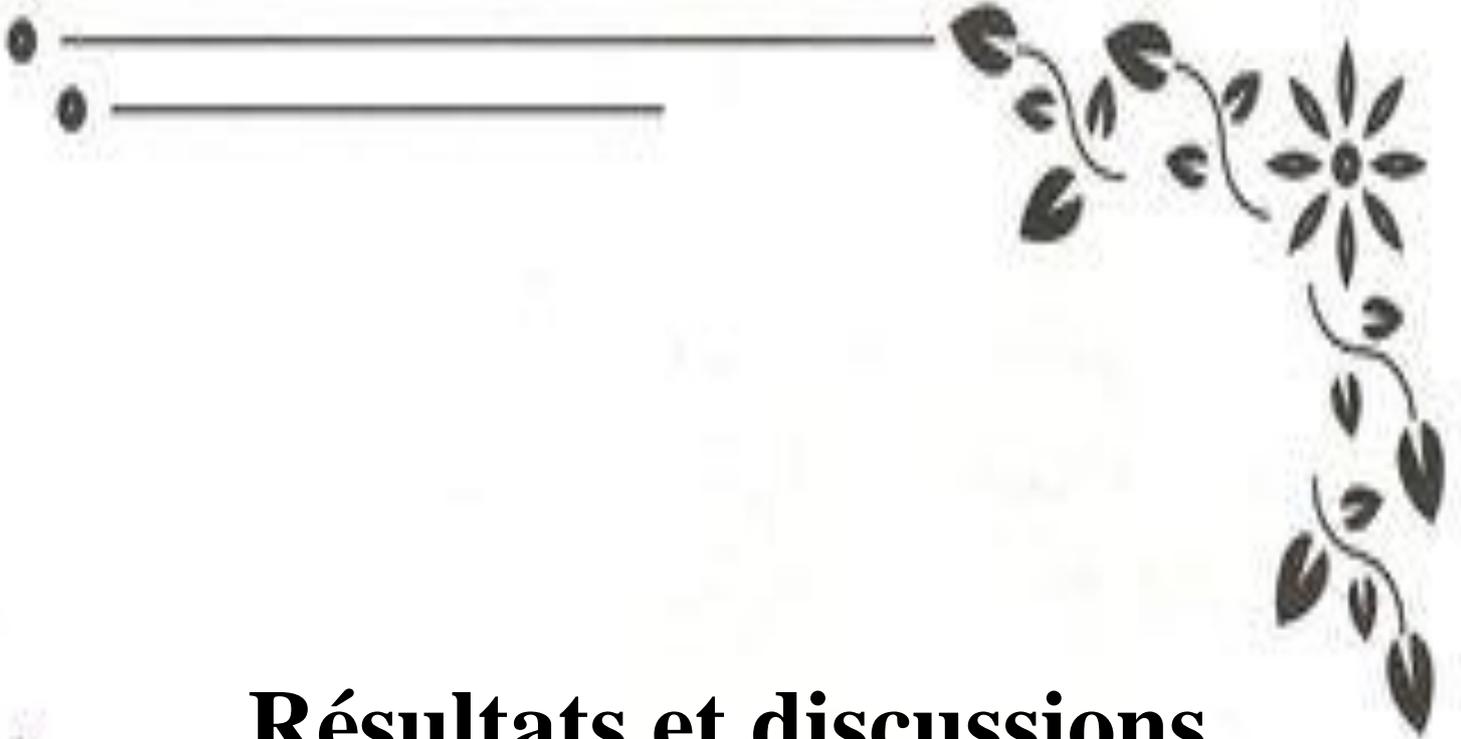
$$\%INH = (abs E - abs S) / abs E$$

E : L'activité de l'enzyme sans extrait.

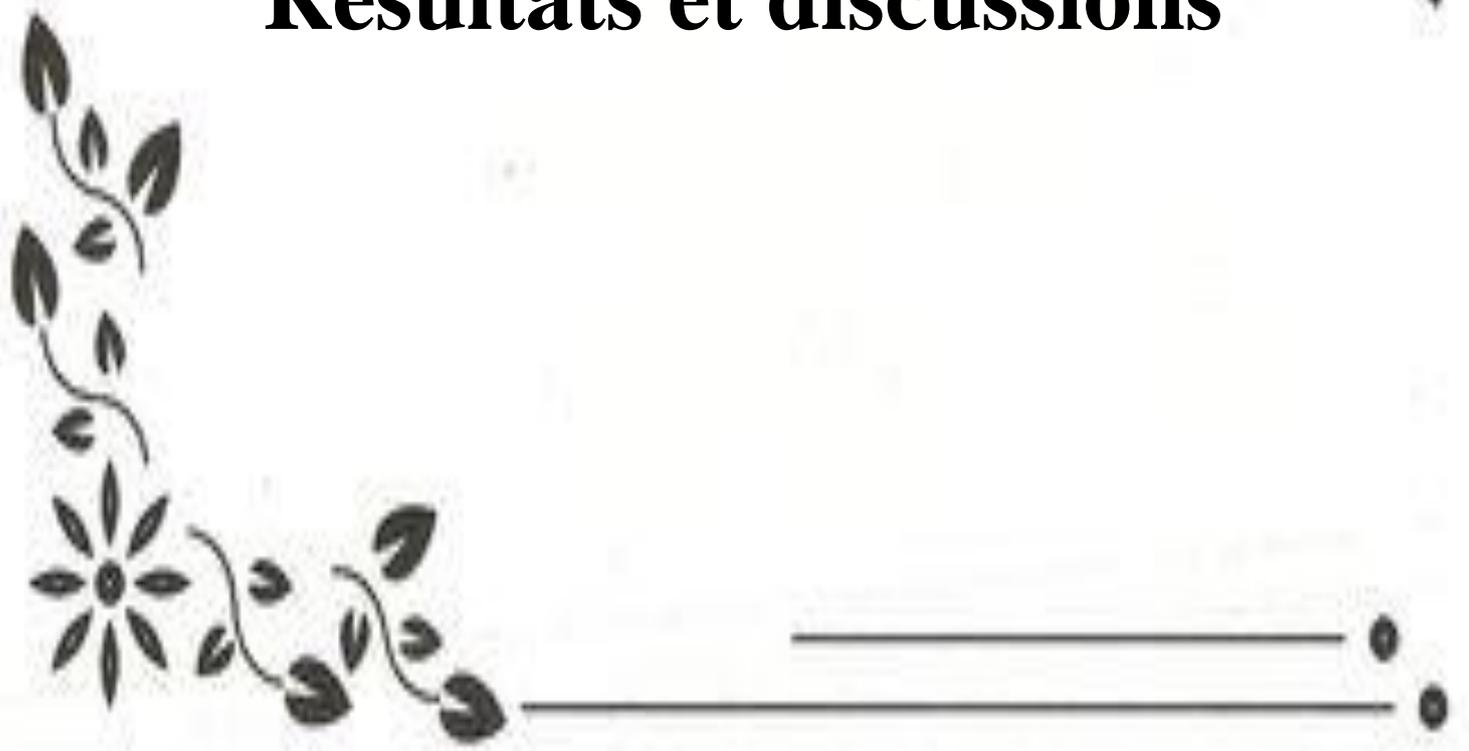
S : L'activité de l'enzyme avec l'extrait.

II.3.4.5 Traitement statistique des résultats :

Les résultats exprimés en moyenne \pm une erreur standard. Tous les calculs les valeurs de $CI_{50}/A_{0,5}$ ainsi que les représentations graphiques ont été réalisées par le logiciel EX.



Résultats et discussions



Résultats et discussions

I. Résultat de rendement :

Rendement d'extraction Dans cette étude, le rendement a été déterminé par rapport à deux masse de 30 g et 50 g de la poudre végétale .Des différents rendements obtenus, , sont présentés dans l'histogramme.

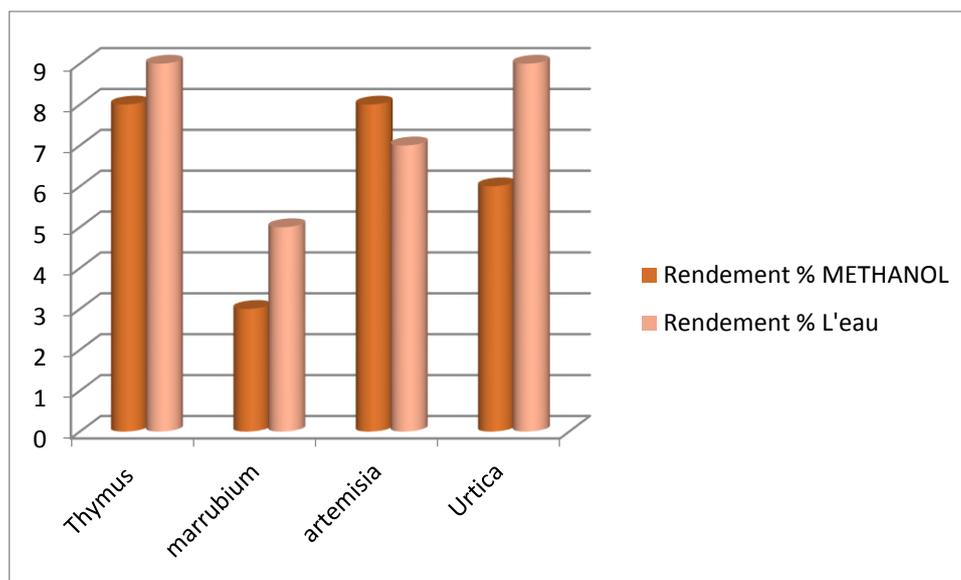


Figure 27 : Histogramme représentant le valeur de rendement des 4 plante de 2 méthode méthanol et aqueux .

D'après cesrésultats, nous pouvons déduire que:

- Le rendement le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction avec méthanol entre 9% 7% suivie par laméthode d'extraction de l' eau entre 8% et 3% .

I.1. Discussion des résultats :

La variation du rendement d'extraction peut être expliqué par la différence de solubilité des composés chimiques dans le solvant d'extraction, à leur degré de polymérisation ou à leur implication dans autres structures moléculaires formant ainsi des complexes insolubles **Cacace et Mazza, (2000)**, puisque la polarité des solvants utilisés est influencée par la solubilité différentielle des différents composés phénoliques et d'autres métabolites secondaires contenus dans l'extrait méthanolique et ses fractions (Garciasalas et al., 2010).

Mais il y a également d'autres paramètres peuvent attribuer cette différence telle que : le pH et la température du milieu, le temps d'extraction qui est dans notre méthode de macération est très longue 72 heures par rapport à la méthode de décantation...etc **Quy DiemDo et al., (2014)**.

Dans ce contexte, **Naima et al, 2005** ont observé que le solvant le plus efficace pour extraire les polyphénols et les flavonoïde à partir des plantes est le méthanol aqueux (80%) suivie par l'eau.

II.1 Quantification des polyphénols totaux (TPC) :

La quantification des polyphénols totaux a été déterminée par une méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu (FCR). L'acide gallique est utilisé comme un étalon le résultat obtenu est présenté dans une courbe d'étalonnage dont l'équation:

$$Y = 0,0034X + 0,1044 \text{ avec } R^2 = 0,9972.$$

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG / g d'extrait).

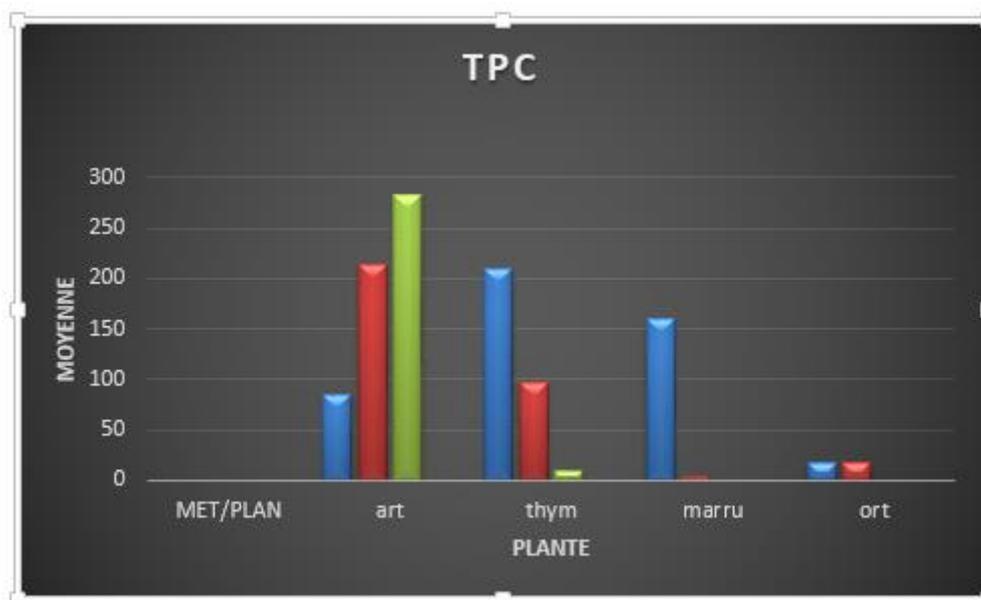


Figure28 : Histogramme représente les moyennes des TFC dans différentes méthodes d'extractions

II.2 Résultats Polyphénols MeOH :

D'après nos résultats présentés, la teneur en polyphénols totaux des feuilles de *thymus* révèle que l'extrait MeOH est plus riche en polyphénols avec une teneur $209.60 \pm 0,04$ mg EAG/g d'extrait, suivie par la plante de *marrubium* avec une teneur $195.58 \pm 0,02$ mg EAG/g

, puis la plantes *Artemisia* avec une teneur $84.98 \pm 0,02$ mg EAG/g , Enfin la plante *ortie* presente le teneur le plus faible $17.92 \pm 0,14$ mg EAG/g.

II.3. Résultats Polyphénols aqueuse :

A partir les résultats obtenus , nous avons observé qu'il y a une variabilité des teneurs en polyphénols totaux dans nos différents extraits , le teneur en polyphénols totaux des feuilles de *Artemisia* révèlent que l'extrait aqueus est plus riche en polyphenols avec une teneur $213.60 \pm 0,04$ mg EAG/g d'extrait, suivée par la plante de *thymus* avec une teneur $97.23 \pm 0,04$ mg EAG/g , puis la plantes *ortie* avec une teneur $18.50 \pm 0,02$ mg EAG/g , Enfin la plante *marrubium* qui a présent le teneur le plus faible $3.50 \pm 0,14$ mg EAG/g.

II.4. Résultats polyphénols HE :

D'après nos résultats présentés dans , le teneur en polyphénols totaux des extraits HE des feuilles *thymus* est plus riche en polyphenols avec une teneur $283.41 \pm 0,04$ mg EAG/g d'extrait suivée par l extraits HE de *Artemisia* avec une teneur $9.68 \pm 0,08$ mg EAG/g.

II.5 Discussion des résultats :

Kulišic et ses collaborateurs (2006) ont déterminé, par des méthodes spectrophotométriques ,le contenu en polyphénols totaux dans l'infusion aqueuse préparée des feuilles de *thymus vulgaris* .

La teneur en polyphénols dans cette extrait est de $33.3 \mu\text{g EAG/ mg}$ d'extrait, la comparaison entre la teneur en polyphénols trouvée dans le macéré aqueux des feuilles de *thymus vulgaris* (présente étude) et celle de l'infusion aqueuse des feuilles de la même plante étudiée par **Kulišic** et ses collaborateurs nous a permis de déduire que la teneur en polyphénols dans notre extrait est plus élevé . Et HE de *thymus* est plus riche en polyphenols . Il est important de souligner que l'utilisation de plante d'origine géographique et climatique distinctes ainsi que des méthodes d'extraction et de dosage différentes réduisent la fiabilité d'une comparaison entre les deux études.

III.1 Quantification des flavonoïdes totaux (TFC) :

La quantification des flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode de Topçuet al.(2007). La quercétine a été utilisé comme un standard, les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage ayant l'équation : $Y = 0,0047x + 0,0165$ avec $R^2 = 0,9978$.

Dont la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent d'acide quercétine par g d'extrait (mg EQ / g) .

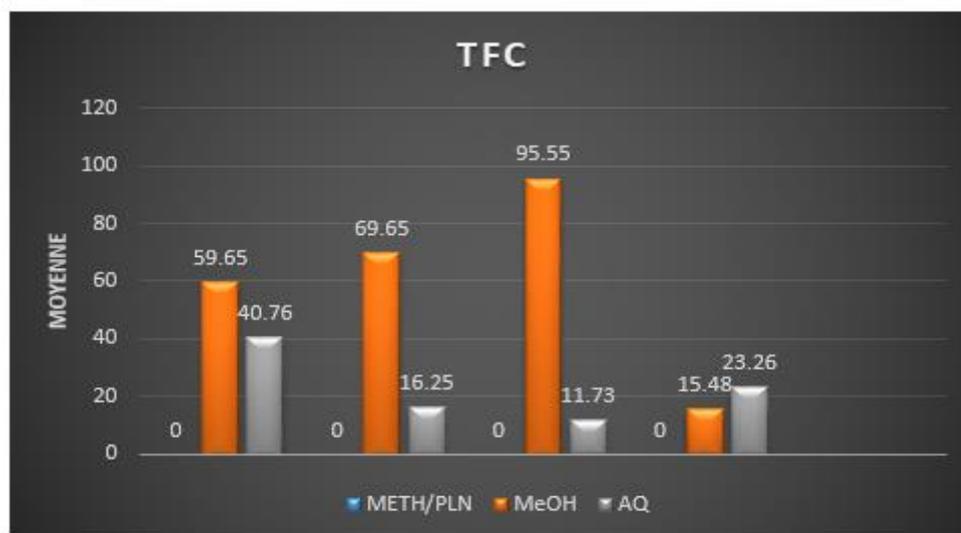


Figure 29 : Histogramme représente les moyennes des TFC dans différentes méthodes d'extractions

III.2. Résultats extraction MeOH :

D'après nos résultats présentés, les teneurs en flavonoïdes totaux des feuilles de *marrubium* révèlent que l'extrait MeOH est plus riche en flavonoïdes avec une teneur $95.55 \pm 0,04$ mg EQ/g d'extrait, suivie par la plante de *thymus* avec une teneur $69.65 \pm 0,04$ mg EQ/g, puis la plante *Artemisia* avec une teneur $59.65 \pm 0,02$ mg EQ/g, Enfin la plante *ortie* qui a présent la teneur la plus faible $15.48 \pm 0,14$ mg EQ/g.

III.3. Résultats de l'extraction aqueuse :

D'après nos résultats présentés dans le tableau 8 et figure 23, les teneurs en flavonoïdes totaux des feuilles des *Artemisia* révèlent que l'extrait aqueuse est plus riche en flavonoïdes avec une teneur $40.79 \pm 0,04$ mg EQ/g d'extrait, suivie par la plante de *ortie* avec une teneur $23.26 \pm 0,02$ mg EQ/g, puis la plante *thymus* avec une teneur $16.25 \pm 0,02$ mg EQ/g, Enfin la plante *marrubium* qui a présent la teneur la plus faible $15.48 \pm 0,14$ mg EQ/g.

III.4 Discussion des résultats :

Les tests biochimiques réalisés dans notre étude sur des feuilles de *marrubium* ont mis en évidence la présence des principes actifs du métabolisme secondaire tels que : les polyphénols et les Flavonoïdes.

Un rendement de 39,2 mg de l'extrait brut a été obtenu à partir de la partie aérienne de la même espèce lors d'une étude entreprise par **Kanyonga et al. (2011)**.

C'est un pourcentage inférieure a celui obtenu dans notre cas et qui est de l'ordre de $95.55 \pm 0,04$ mg . EQ/g.

Il est important de souligner que l'utilisation de plante d'origine géographique et climatique distinctes ainsi que des méthodes d'extraction et de dosage différentes réduisent la fiabilité d'une comparaison entre les deux études.

IV. Détermination des IC50 :

IV.1 Les Activité anti oxydante :

Pour mieux comprendre le pouvoir antioxydant de nos extraits, nous avons déterminé la valeur d' IC50 $\mu\text{g} /\text{ml}$ qui est définie comme étant la concertation de l'extrait antioxydant nécessaire pour inhiber et réduit 50% du radical DPPH. Dont les valeurs d' IC50 calculées, nous a permis d'évaluer et comparer l'efficacité des extraits plus la valeur est petite, plus l'activité antioxydant à piéger les radicaux libres est élevée .Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur IC50 qui est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées et les standards. Les valeurs des IC50 trouvées pour les trois extraits testés sont représentées dans le sous forme d'histogrammes.

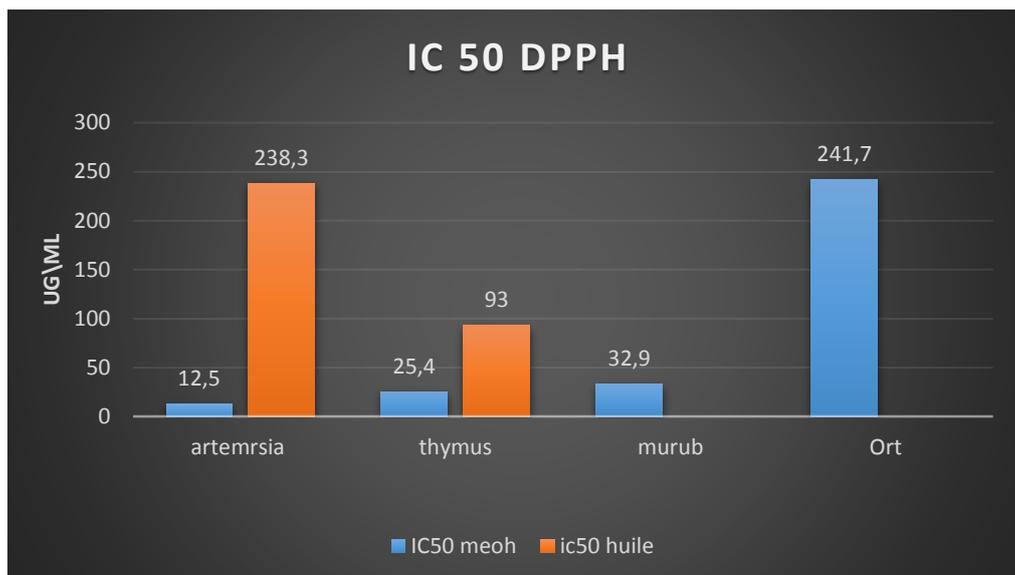


Figure 30 : Histogramme représentant les valeurs des CI50 des extraits e standards obtenus par le test DPPH.

Résultat de DPPH de l'extrait MeOH

D'après nos résultats obtenue on constate que parmi les fractions testées dans la méthode d'extraction MeOH, présente une bonne capacité à piéger le radical DPPH avec des valeurs IC50 est l'*Artemesia* avec des valeurs IC50 = 12.5 ug/ml Thymus 25.5 ±0.48 ug/ml mais cette activité anti radicalaire elle reste inférieure à celle du *Marubium* 32.9 ug/ml .

Tandis que, l'activité anti radicalaire la plus faible a été exprimée par la fraction d'*Ortie* par IC50 = 241.77 ±6.89 ug/ml .Dont le classement de l'activité anti radicalaire de nos Plantes est comme suit : Thym > Marub > Art >Ort.

IV.1.2 Résultat DPPH huile essentiel :

D'après nos résultats on constate que le *Thymus* donne une moyenne capacité à piéger le radical DPPH avec la valeur IC50 = 93.18 ± 1.27 ug/ml. Par contre l'*Artemesia* présente une faible capacité avec une valeur de IC50 = 238.31 ± 2.97 ug/ml .

IV.1.3 Discussion des résultats :

dans l'étude présentait **Kessoum ,Samiaet ces collaborations.(2013)** ont trouvé que l'extrait méthanolique d'*Artemesia* à une concentration de 10µg/ml est permis de donner les activités antiradicalaires avec un pourcentage de (36 ,76%) et d'IC50= 33,55 ug/ml contrairement à notre résultat qui a donné une capacité plus importante de IC50 = 12.5 ug/ml Cette bonne activité antioxydante de l'extrait méthanolique peut être expliquée par la nature

des composés phénoliques qui sont des acides phénoliques tels que l'acide gallique et ses dérivés, les flavonoïdes et le côté d'environnement et le climat et la culture de la plante .

IV.2 ABTS :

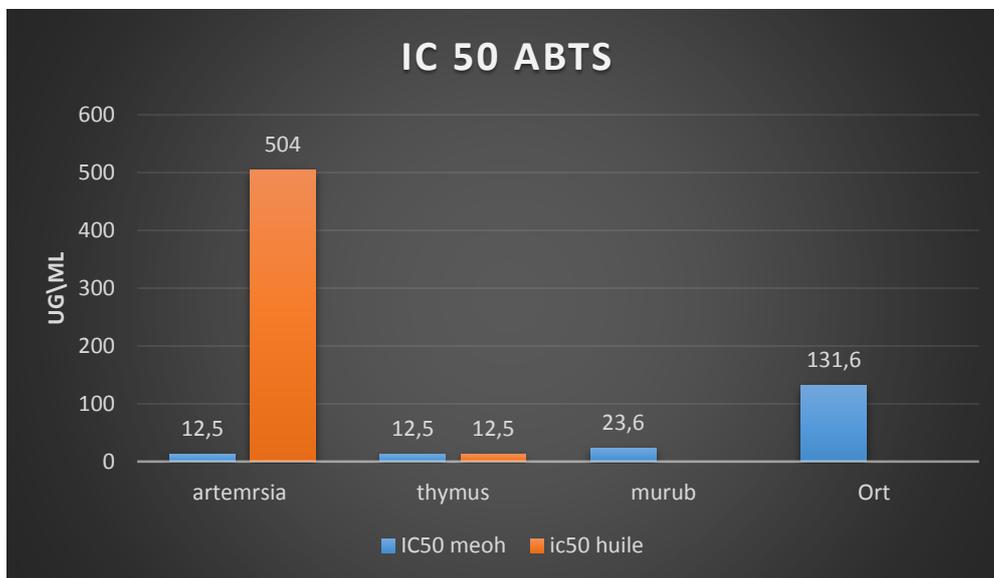


Figure 31 : Histogramme représentant les valeurs des CI50 des extraits et standards Obtenus par le test ABTS

Résultat ABTS de l' extrait MeOH

On constate que les plantes *Thymus* et *Artemesia* possèdent un potentiel de piégeage du radical ABTS+ le plus important qui est estimé par une $IC_{50} < 12.5$ ug/ml puis le *Marubium* qui a une capacité moins importante par rapport à les deux premiers par $IC_{50} = 23.60 \pm 2.96$ ug/ml et finalement l'Ortie qui a le plus faible potentiel de $IC_{50} = 131.60 \pm 3.40$ ug/ml pour les huiles essentielles d'*Artemesia* et de thymus on constate que le *Thymus* a une forte capacité par rapport à l'*Artemesia* qui ont les valeurs suivantes successivement

($IC_{50} = 12.5$ ug/ml, 504.10 ± 5.42 ug/ml) .

IV.2.1 Discussions des résultats :

On constate que le thymus et l'*Artemesia* qui ont donné les mêmes résultats et une capacité d'inhibition importante de $IC_{50} = 12.5$ ug/ml qui est moins importante pour les résultats de **Kessoum, Samia, et ces collaborations. (2013)** qui a donné 2.5 ug/ml pour l'*Artemesia*. Ces résultats peuvent être dus au fait que notre plante contient différents types de polyphénols et la synergie entre ces derniers peut expliquer leur pouvoir antiradicalaire important à piéger l'ABTS.

IV.2.1 Discussions des résultats :

Les résultats de l'activité anti cholinestérase après une application du protocole donner nous a donné des résultats négatives à nos plantes spécifiquement l'extrait méthanolique MeOH.

On peut dire alors que nos plantes n'ont pas une capacité anti Alzheimer.

A base extraction méthanoïque.



Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules d'origine naturelle nécessaires à la mise au point de futurs médicaments qui contribuent de manière significative à la prévention de diverses maladies. Dans le présent travail, nous nous sommes intéressées à l'étude phytochimique par le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux, suivi par l'évaluation de certaines activités biologiques comme l'activité antioxydante, l'activité enzymatique (anti-Alzheimer) des différents extraits des feuilles des quatre plantes *Artemisia*, *Ortie*, *Thymus* et *Murubium*. De point de vue phytochimique, nous avons réalisé deux types d'extraction : liquide –solide, pour obtenir l'extrait brute (MeOH), et la deuxième extraction est de type liquide – liquide (aqueux) et huile essentiel.

A propos de l'analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans les extraits de nos plantes, les résultats obtenus, indiquent que les extraits MeOH et AQ sont les plus riches en ces composés.

Le pouvoir antioxydant des différents extraits des plantes ont été évalué in vitro par deux méthodes complémentaires ; DPPH•, ABTS•+, Cette évaluation a montré que l'extrait MeOH avait un très fort effet scavenging vis-à-vis les radicaux DPPH• ABTS•+.

Ces tests montrent donc que les plantes *Artemisia* et *thymus* possèdent une activité antioxydante très élevée, cette activité est liée en grande partie à la composition des extraits en composés Phénoliques, particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes.

En ce qui concerne, l'activité anti cholinestérase nos plantes ne possèdent pas un effet inhibiteur sachant que on a utilisé l'extrait MeOH.

Enfin, les résultats obtenus de cette étude montrent que les plantes étudiées *est* riche en composés bioactifs qui peuvent être employés pour différentes applications thérapeutiques.

En perspectives, nous envisageons d'utiliser ces résultats comme un point de départ de recherche de nouvelles molécules biologiquement actives.



Bibliographie

- Iserin P. (2001)** Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226.
- Jassim S.A., Naji M.A. (2003)** Novell antiviral agents: a medicinal plant perspective. Appl. Microbiol. : 412-27.
- Iserin P (2001)**. Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2ème Ed., Paris : 14, 275.
- Pariante L. (2001)** Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2ème Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris 1643 p
- Morales, R. (2002)** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : *Thyme : the genus Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.
- Amiot J. (2005)** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier.
- Quezel P. et Santa S. (1962)** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales Ed. C.N.R.S. Tome I. 565 p.
- Bruneton J., (1999)**. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed: Tec & Doc Lavoisier. Paris. 1120 p.
- Kaloustian J., El-Moselhy T. F., Portugal H. (2003)** Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). Therm. Ochimica. Acta. 401: 7786.
- Poletti A. (1988)** Fleurs et plantes médicinales. 2ème Ed. Delachaux & Niestlé S. A. Suisse. Pp : 103 et 131
- Bruneton J. (1999)** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed Tec&Doc. Paris.
- Balladin D.A; Headley, O. (1999)**. Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herbs. Renewable Energy. : 523-531.
- Guillén M. D., Manzanos M. J. (1998)** Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus Vulgaris* L. plant. Food chemistry. : 373-383.
- Hudaib M., Speroni E., Pietra A. M. D., Carvin V. (2002)** GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during vegetative cycle. J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis : 691-700.
- Bouhdid S., Idaomar, M. ; Zhiri, A.; Bouhdid, D.; Skali, N. S. ; Abrini, J. (2006)** *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies, Agadir. 324-327.
- Kulšić T., Dragovic-Uzelac V., Miloš M. (2006)** Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. Food Technol. Biotechnol. : 485-492.
- Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. (2004)**. New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L). Bioscience, biotechnology and biochemistry., 68 (5) : 1113-1134.
- Bazylo A. et Strzelecka H. (2007)**. A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. Fitoterapia., 78 : 391-395.

Cowan M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews.*, 12 (4) : 564-570.

Jiménez-Arellanes A., Martínez R., García R., León-Díaz R., Aluna-Herrera J., Molina-Salinas G. et Said-Fernández S. (2006). Thymus vulgaris as a potential source of antituberculosis compounds. *Pharmacologyonline.*, 3 : 569-574.

Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. (2004). New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (Thymus vulgaris L). *Bioscience, biotechnology and biochemistry.*, 68 (5) : 1113-1134.

Selmi S. et Sadok S. (2008). The effect of natural antioxidant (Thymus vulgaris Linnaeus) on flesh quality of tuna (Thunnus Linnaeus) during chilled storage. *Pan-American Journal of aquatic sciences.*, 3 (1) : 36-45.

Al-Bayati F. A. (2008). Synergistic antibacterial activity between Thymus vulgaris and Pimpinella anisum essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology.*, 166 (3): 403-406.

Rigano D., Apostolides A. N., Bruno M., Formisano C., Grassia A., Piacente S., Piozzi F., Senatore F., (2006). Phenolic compounds of Marrubium globosumssp. libanoticumfrom Lebanon. *Biochemical Systematics and Ecology.* 34: 256-260.

Meyre S.C., Yunes R.A., Schlemper V., Campos-Buzzi F., Cechinel-Filho V., (2005). Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene presentin Marrubium vulgare (Lamiaceae). *II Farmaco.* 60: 321-326.

Quezel P., Santa, S., (1963). La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed: CNRS. Paris. 360-361 p.

Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P., (2002). Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. 1ere Ed: Paris et Bruxelles. pp. 369-384.

Bonnier G., (1909), La Végétation de la France, Flore Complète. Tome 09. Ed : Suisse et Belgique. Paris. pp. 25-26.

Wichtl M., Anton R., (2003). Plantes thérapeutiques: Traditions, Pratique officinale, Sciences et Thérapeutique. 2e Ed: TEC & DOC. Paris. pp. 1-364.

Bellakhdar J., (1997). Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocaine traditionnelle. IBS Press. pp. 340-341.

Raynaud J., (2007). Prescription et conseil en phytothérapie. Ed: Tec & Doc. Paris. 149 p.

Roman R.R., Alarcon-Aguilar F., et al., (1992). Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. *Archives of Medical Research.*23(1): 59-64.

Novaes A.P., Rossi C., et al., (2001). Preliminary evaluation of the hypoglycemic effect of some Brazilian medicinal plants. *Therapie.* 56(4) : 427-30.

Herrera A.A., Aguilar S.L., et al., 2004. Clinical trial of Cecropia obtusifoliaand Marrubium vulgareleaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. *Phytomedicine.* 11(8): 561-6.

Aouadhi S (2010).Mémoire Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes

- Crété P., (1965).** Précis de Botanique: Systématique des Angiospermes. Tome II. 2e Ed: Masson, Paris. pp. 368-371.
- Bruneton J., (2001).** Plantes toxiques: végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2ème Ed: TEC & DOC. Paris. 337 p.
- Ozenda P., (2004).** Flore et végétation des sahara. 3ème Ed: CNRS édition. Paris. pp.399-402.
- Bonnier G., (1909),** La Végétation de la France, Flore Complète. Tome 09. Ed : Suisse et Belgique. Paris. pp. 25-26.
- Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S.M. et Ghorbani A. (2005).** Labiatae Family in folk Medicine in Iran from Ethnobotany to Pharmacology, Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2: 63-79.
- Yalçın F.N., Kaya D. (2006).** Ethnobotany, Pharmacology and Phytochemistry of the Genus Lamium (Lamiaceae), Pharm. Sci., 31: 43-52.
- Amiri H. (2011).**The in vitro antioxidative properties of the essential oils and methanol extracts of *Satureja macrosiphonia* Bornm, Natural Product Research, 25: 232–243.
- Jean Bruneton (1999).** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales, 3èmeéd,
- Weel K.G.C (1999).** Antioxidant activity of horehound (*Marrubium vulgare* L.) grown in Lithuania, Fett/Lipid 101, 10, 395 – 400.
- Schlempher V (1996).** Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues Phytomedicine, 3 (2), 211-216.
- Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P., (2002).** Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. 1ere Ed: Paris et Bruxelles. pp. 369-384.
- Jiofack T, Fokunang C, Guedje N, Kemeuze V, Fongnzossie E, Nkongmeneck BA, Mapongmetsem PM, Tsabang N, (2010).** Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. International Journal of Medicine and Medical Sciences 2 (3): 60-79 .
- Hagerman, A.E. (2002).** Tannin Hand book. Miami University, Oxford OH 45056
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., (1999).**Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorizationassay. Free Radical Bio. Med. 26, 1231–1237.
- Blois M.S., (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature, 4617 (181): 1119-1200.
- Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. (2007).** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. Food Chemistry 103: 816–822
- Tiago Margraf, Ariadne Roberto Karnopp, Neiva Deliberali Rosso, and Daniel Granato. (2015).** Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue Assays to Estimate The Total Phenolic Content of Juices and Teas Using 96-Well Microplates. Journal of Food Science. C2397- C2403.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherston, R.M., (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol. 7, 88–95.

- Singleton V.L and Rossi J.A.J. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16:144-58.
- Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. 2010.** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 992–999.
- Baba, S.A., and Malik, S.A. (2015).** Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume. *Journal of Taibah University for Science.* 9, 449-454.
- Yang, Y., Song, X., Sui, X., Qi, B., Wang, Z., Li, Y., and Jiang, L. (2016).** Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Industrial Crops and Products.* 80, 141-147.
- Khoddami, A., Wilkes, M., and Roberts, T. (2013).** Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules.* 18, 2328-2375.
- Moco, S., Bino, R.J., Vorst, O., Verhoeven, H.A., Groot, J. de, Beek, T.A. van, Vervoort, J., and Vos, C.H.R. de (2006).** A Liquid Chromatography-Mass Spectrometry-Based Metabolome Database for Tomato. *Plant Physiology.* 141, 1205-1218.
- Korfmacher, W.A. (2005).** Foundation review: Principles and applications of LC-MS in new drug discovery. *Drug Discovery Today.* 10, 1357-1367.
- Vogeser, M., and Parhofer, K. (2007).** Liquid Chromatography Tandem-mass Spectrometry (LC-MS/MS) - Technique and Applications in Endocrinology. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes.* 115, 559-570.
- Wilson, I.D., Nicholson, J.K., Castro-Perez, J., Granger, J.H., Johnson, K.A., Smith, B.W., and Plumb, R.S. (2005).** High Resolution “Ultra Performance” Liquid Chromatography Coupled to oa-TOF Mass Spectrometry as a Tool for Differential Metabolic Pathway Profiling in Functional Genomic Studies. *Journal of Proteome Research.* 4, 591-598.
- Ladoh, Y., Dibong, S., Nyegue, M., Djembissi, T., Lenta, N., Mpondo, M., Yinyang, J., and Wansi, J. (2015).** Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences.*84, 7636.
- Aksoy, L., Kolay, E., Ağlönü, Y., Aslan, Z., and Kargioğlu, M. (2013).** Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 20, 235-239.
- Singleton, V.L., and Rossi, J.A. (1965).** Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture.* 16, 144-158.
- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., and Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes.*
- Ouyang, X., Li, X., Lu, W., Zhao, X., and Chen, D. (2018).** A Null B-Ring Improves the Antioxidant Levels of Flavonol: A Comparative Study between Galangin and 3,5,7-Trihydroxychromone. *Molecules.* 23, 3083.

- Carocho, M., and Ferreira, I.C.F.R. (2013).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*. 51, 15-25.
- Lin, S., Zhang, G., Liao, Y., Pan, J., and Gong, D. (2015).** Dietary Flavonoids as Xanthine Oxidase Inhibitors: Structure–Affinity and Structure–Activity Relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63, 7784-7794.
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., and Ulubelen, A. (2007).** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*. 103, 816-822.
- Pisoschi, A.M., and Negulescu, G.P. (2011).** Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*. 01, 1-10.
- Blois, M.S. (1958).** Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 181, 1199-1200.
- Contrerasguzman, E., and Strong, F. (1982).** Determination of tocopherols (vitamin E) by reduction of cupric ion. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. 65, 1215- 1226.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarın Journal of Science and Technology*. 26, 211-219.
- Gülçin, İ. (2010).** Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 11, 210-218.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26, 1231-1237.
- Roginsky, V., and Lissi, E.A. (2005).** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. 92, 235-254.
- Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V., and Bitsch, R. (2002).** Assessment of Antioxidant Activity by Using Different In Vitro Methods. *Free Radical Research*. 36, 177-187.
- Orhan, I., Şener, B., Choudhary, M.I., and Khalid, A. (2004).** Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 91, 57-60.
- Bajda, M., Łątka, K., Hebda, M., Jończyk, J., and Malawska, B. (2018).** Novel carbamate derivatives as selective butyrylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*. 78, 29-38.
- Çokuğraş, A.N. (2003).** Butyrylcholinesterase: Structure and Physiological Importance. *Turkish Journal of Biochemistry*. 28, 54-61.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., and Featherstone, R.M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 7, 88-95.

- Abraham E, (2006).** Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l'Hibiscus sabdarif Ja L. et à l'Artemisia annua, L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE :P 180.
- Afif-Chaouche T ,(2015),** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou – Algérie .
- Ahmed A.A., Zain U., Abjuluziz M.A., Rius U., Iubul H. & Muhammad T. (2012):** Evaluation of the chemical composition and element analysis of *Urtica dioica*. African Journal of Pharmacy, **6(21):** 1555- 1558.
- Akbay P., Basaran A.A., Undeger U., Basaran N. (2003).** In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. Phytother. Res. 17 : 34–37.
- Alam Md. N., Bristi N. J. & Rafiquzzaman Md. (2013).** Review on *in vivo* and *in vitro* method evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **21:** 143–152 .
- Albayrak S., Aksoy A., Sagdic O. & Albayrak S. (2012):** Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in turkey. *Journal of Food Biochemistry* **36:** 547–554 .
- Alilou H, 2012** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens subsp. Odorus (Schousb.) Greuter* et *Asteriscus imbricatus (Cav.) DC.P* .
- Alternative Médecine Review, (2007).** Volume 12, Number 3.
- Amason, T., Hebda, R.J., Johns, T., 1981.** Use of plants for food and medicine by Native Peoples of eastern Canada. *Canadian Journal of Botany* 59, 2189-2325.
- Angus S., Armstrong B., de Reuck K. M., (1976).** "International thermodynamic table of the fluid state: carbon dioxide", vol. 3, IUPAC, Pergamon Press, Oxford .
- Appl. (2003).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the orders and families of flowering plants: APGII. *Bot. J Linn. Soc.*, 2003, 141, 4399-436 .
- Assiniwi, B., (1988).** La médecine des Indiens d'Amérique. Guérin littérature : Montréal.
- Atamer A et al., (2008).** The importance of paraoxanase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. J.
- Cetinus E., Kilinc M., Inanc F., Kurutas E.B., Buzkan N., (2005).** The role of *Urtica dioica* in the prevention of oxidative stress caused by tourniquet application in rats. *Tohoku* .
- Abad M.J., Bedoya L.M., Apaza L. and Bermejo P. 2012:** The *Artemisia* L. Genus: A review of bioactive essential oil. *Molecule*; 17: 2542-2566.
- **AFNOR, 1986:** Huiles essentielles. Recueil de normes françaises. Edition Tec&Doc Lavoisier. 2e édition..
 - **Akrout A., Chemli R.C., Chrief., and Hammami M. (2001).** Analysis of the essential oil

of *Artemisia campestris* L. J. Flavour Fragr. 16: 337–339.

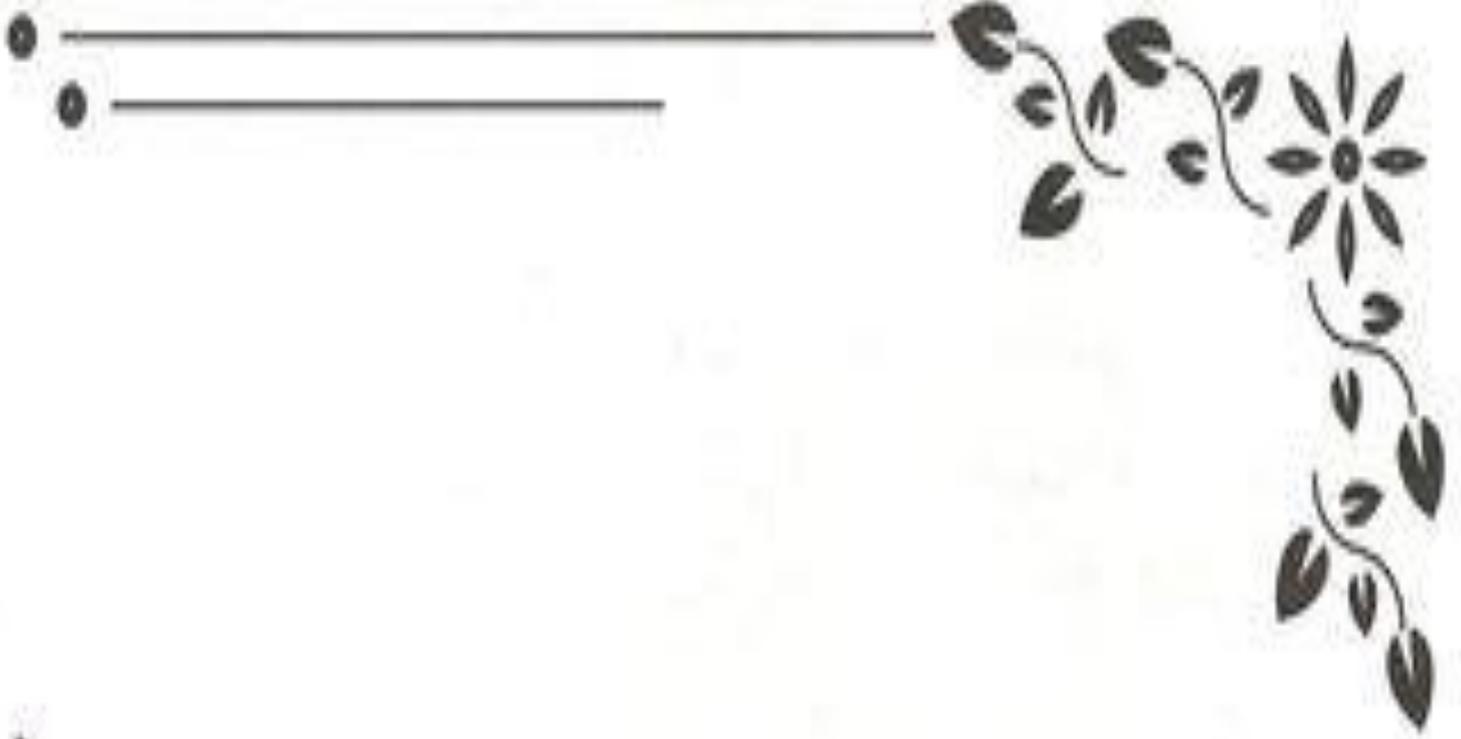
• □ **Akrouit A., Gonzalez L.A., El Jani H.J., and Madrid P.C. (2011).** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaeahirsuta* from southern of Tunisia. J. Food. Chem. Tox. 49: 342–347.

• □ **Belhattab R., Amor L., Barroso J.G., Pedro L.G. et Figueiredo A.C., 2012:** Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey. Arabian Journal of Chemistry.

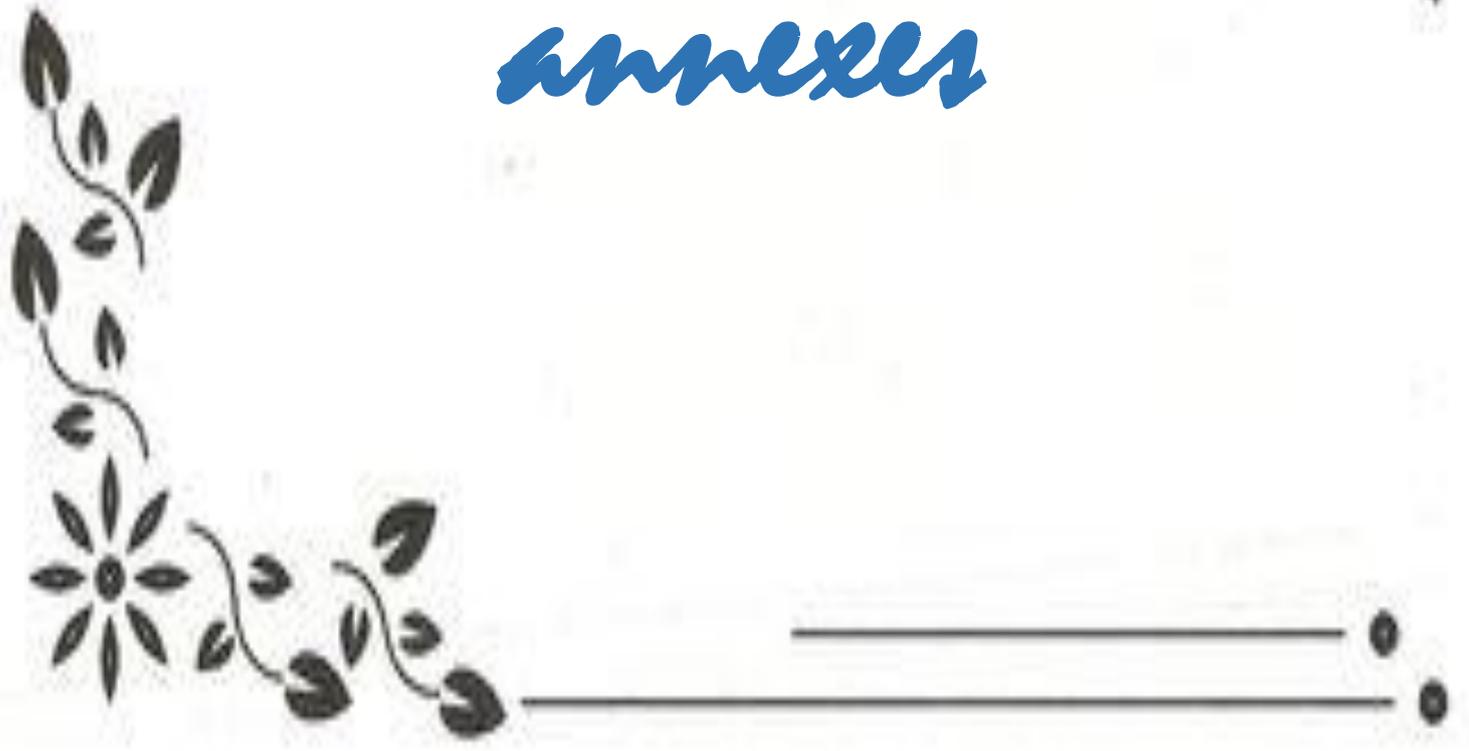
Mohamed A.H., El-Sayed M.A. and Mohamed N.S., 2010: Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba alba*. Records of natural products.

ürgen R., Paul .S., Ulrike S., and Reinhard S. (2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties– an Overview: Forsch Komplementmed.

Huang Guangrong., Jiang Jiabin., and Dai Dehui. (2008). Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. African Journal of Biotechnol.ottier G., *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes–dicotylédones–gamopétales, (1981) p 1012.



annexes



ANNEXE

I. LE RENDEMENT

Plante	Masse des extrait sec /G	Mass de matire végétal /G	Rendement %
Thymus	4.3	50g	9
marrubium	2.5	50g	5
artemisia	3.5	50g	7
Urtica	4.5	50g	9

TABLEUX1 : DES CALCULES DE RENDEMENT D'EXTRAIT METHANOLIQUE

Plante	Masse des extrait sec /G	Mass de matire végétal /G	Rendement %
Thymus	2.44g	30g	8
marrubium	1g	30g	3
artemisia	2.4g	30g	8
Urtica	1.8g	30g	6

TABLEUX2 : DES CALCULES DE RENDEMENT D'EXTRAIT AQUEUS