

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

BADJI MOKHTAR- ANNABA UNIVERSITY

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR- ANNABA



جامعة باجي مختار - عنابة

Année 2023

Faculté des Sciences  
Département de Chimie

## THESE

Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat

Option : Chimie Organique Appliquée

## THEME

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE  
PHYTOCHIMIQUE ET  
PHARMACOLOGIQUE DE QUELQUES  
PLANTES DU NORD-EST ALGÉRIEN

Par :

*Mr. SAMAI Zakaria*

Devant le jury :

Pr. AOUF Nouredine  
Pr. AKKAL Salah  
Dr. GUENADIL Faouzi  
Pr. DJILANI Salah Eddine  
Dr. DADDA Nouredine

Président  
Examinateur  
Examinateur  
Directeur de thèse  
Co-Directeur de thèse

Université Badji Mokhtar - Annaba  
Université Frères Mentouri - Constantine 1  
Université Chadli Bendjedid -El Tarf  
Université Badji Mokhtar - Annaba  
Université Badji Mokhtar - Annaba

## *Dédicaces*

قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ (32)

*À mes chers parents Amar & Ghania...*

*À mes chers frères, surtout Hammoud*

*À tous mes amis & collègues...*

*À tous ceux qui me sont chers.*

*Merci!*

## *REMERCIEMENTS*

*Avant tout, Je remercie Dieu Tout Puissant, qui m'a permis de mener à bien ce travail.*

*Je tiens à exprimer toutes mes reconnaissances à Monsieur DJILANI Salah Eddine, professeur à l'université BADJI Mokhtar- Annaba et Directeur de cette thèse, pour l'accueil qu'il m'a accordé dans son laboratoire, pour sa rigueur scientifique, sa générosité, son encouragement et surtout ses judicieux conseils qui ont permis d'accomplir ce travail. Qu'il trouve ici toute la sympathie et le respect que je lui porte.*

*Mes remerciements s'adressent également à Monsieur DADDA Noureddine, Docteur à l'université BADJI Mokhtar- Annaba et co-directeur de cette thèse, pour son soutien et sa disponibilité consacrée pour l'accomplissement et la concrétisation de ce travail de thèse.*

*Un grand merci à Monsieur AOUF Noureddine, professeur à l'université BADJI Mokhtar - Annaba pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider ce Jury.*

*Je suis également reconnaissant à Monsieur, AKKAL Salah, professeur à l'université Frères MENTOURI- Constantine-I et à Monsieur GUENADIL Faouzi, docteur à l'université Chadli BENDJEDID - El Tarf, pour avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie de ce jury.*

*Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour leur aide dans la réalisation de cette thèse :*

- Professeur HAMEL Tarek, botaniste du Département de Biologie, Université BADJI Mokhtar. Un grand merci pour le choix, la récolte et l'identification de nos plantes.*
- Docteur BENSOUICI Chawki, Chercheur au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) qui m'a fait partager son savoir et son enthousiasme.*

*Enfin, que tous ceux qui, de loin ou de près, ont participé à la réalisation de ce travail et m'ont apporté leurs encouragements, trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude.*

**ZAKARIA**

Table des matières	Page
المخلص.....	i
Abstract.....	ii
Résumé.....	iii
Abréviation.....	iv
Table des figures.....	v
Liste des tableaux.....	vii
Introduction.....	1
<b>Partie Bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Famille des <i>Asteraceae</i>, Synthèse bibliographique</b>	
I.1. Introduction.....	3
I.2. La famille des <i>Asteraceae</i> .....	3
I.2.1. Classement botanique.....	4
I.2.3. le genre <i>Calendula</i> .....	5
I.2.3.1. Description botanique du genre <i>Calendula</i> .....	5
I.2.3.2. Activités biologiques du genre <i>Calendula</i> .....	6
I.2.3.3. Investigations phytochimiques du genre <i>Calendula</i> .....	7
I.3. La famille <i>Plantaginaceae</i> .....	8
I.3.1. Introduction.....	8
I.3.2. Classement botanique.....	9
I.3.4. Le genre <i>Linaria</i> .....	10
I.3.4.1. Description botanique.....	10
I.3.4.3. Recherches phytochimiques du genre <i>Linaria</i> .....	10
a) Les iridoïdes.....	11
b) Les flavonoïdes.....	12
c) Les diterpènes.....	13
I.3.5. <i>Linaria pinifolia</i> .....	14
I.3.6. Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Linaria pinifolia</i> .....	15
I.4. La famille <i>Polygonaceae</i> .....	15
I.4.4 Le genre <i>Rumex</i> .....	16
I.4.4.1. Caractéristiques botaniques du genre <i>Rumex</i> .....	17
I.4.4.2. Activités Biologiques.....	17
I.4.4.3. Recherches phytochimiques du genre <i>Rumex</i> .....	17
I.4.5. <i>Rumex aristidis</i> Coss.....	18
BIBLIOGRAPHIE.....	19
<b>Chapitre II : Métabolites secondaires</b>	
II-1 Introduction.....	23
II.2. Les grandes familles de métabolites secondaires.....	23
II.3. Composés phénoliques.....	23
II.3.1. Biosynthèse.....	24
II.3.2. Acides phénoliques.....	24
II.3.3. Les Coumarines.....	25
II.3.3.1. Classification.....	25
II.3.3.2. Activités pharmacologiques des coumarines.....	25

II.3.4. Les flavonoïdes.....	27
II.3.4.1. Biosynthèse des flavonoïdes.....	27
II.3.4.2. Classification des flavonoïdes.....	29
II.3.5. Les polyphénols dans les plantes : leur localisation et leur importance.....	30
II.3.6. Intérêts thérapeutiques des polyphénols.....	31
II.4. Huiles essentielles.....	31
BIBLIOGRAPHIE.....	32
<b>Chapitre III : Antioxydants et stress oxydant</b>	
III.1. Généralités.....	35
III.2. Stress oxydatif.....	35
III.3. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant.....	35
III.3.1. Dommages de l'ADN.....	36
III.3.2. Mécanismes de défense contre le stress oxydant.....	36
III.4. Définition d'un radical libre.....	37
III.4.1. Formes des radicaux libres.....	37
III.4.2. Espèces réactives de l'oxygène.....	37
III.5. Définition de l'activité Antioxydante.....	38
III.5.1. Classification des antioxydants.....	39
III.5.1.1. Antioxydants enzymatiques.....	39
III.5.1.2. Antioxydants non enzymatiques.....	40
BIBLIOGRAPHIE.....	40
<b>Chapitre IV : MÉTHODES D'EXTRACTION</b>	
IV.1. Introduction.....	42
IV.2. Méthodes d'extractions traditionnelles.....	42
IV.2.1. Infusion.....	42
IV.2.2. Décoction.....	42
IV.2.3. Macération.....	42
IV.3. Extraction au soxhlet.....	43
IV.4. Extraction liquide-liquide.....	43
VI.5. Méthodes d'extractions modernes.....	43
VI.5.1. Extraction assistée par micro-ondes.....	43
IV.5.2. Extraction par fluide supercritique.....	44
IV.5.3. Extraction assistée par ultrasons.....	45
BIBLIOGRAPHIE.....	46
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
<b>Chapitre V : Etude phytochimique et biologiques de l'espèce : <i>Calendula. suffruticosa</i>. boiserie, <i>Linaria pinifolia</i> (Poir.) Thell et <i>Rumex aristidis</i> Coss.</b>	
V.1. Étude phytochimique et biologique de l'espèce <i>Calendula. suffruticosa</i> . boiserie.....	47
V.1.1. Choix des plantes.....	47
V.1.2. Etude bibliographique.....	47
V.1.3. Protocole Expérimental.....	47
V.1.3.1. Récolte du matériel végétal.....	47
V.1.3.2. Extraction.....	48

V.2. Étude phytochimique et biologique de l'espèce <i>Linaria pinifolia</i> (Poir.).....	48
V.2.1. Choix du matériel végétal.....	48
V.2.2. Place dans la systématique.....	48
V.3. Étude phytochimique et biologique de l'espèce <i>Rumex aristidis</i> Coss.....	48
V.3.1. Place dans la systématique.....	48
V.3.2. Choix du matériel végétal.....	49
V.3.3. Etude bibliographique.....	49
V.3.4. Récolte du matériel végétal.....	49
V.4. Criblage phytochimique.....	49
V.4.1. Test des Alcaloïdes.....	50
V.4.2. Test des Flavonoïdes.....	50
V.4.3. Test des Tanins.....	50
V.4.4. Test des Saponines.....	50
V.4.5. Test des Stéroïdes et des terpènes.....	50
V.4.6. Test des Lipides.....	51
V.5. Détermination de la teneur .....	51
V.5.1. Dosage des polyphénols totaux.....	51
V.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	51
V.5.3. Détermination des flavonols totaux.....	51
V.6. Etude des activités biologiques des espèces étudiées.....	52
V.6.1. Etude des activités anti-oxydantes.....	52
V.6.2. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante.....	52
V.6.2.1. Piégeage du radical DPPH.....	53
V.6.2.2. Piégeage du radical ABTS.....	54
V.6.2.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP).....	55
V.6.2.5. Test $\beta$ -carotène.....	55
V.6.3. Activité d'inhibition enzymatique.....	55
V.6.3.1. Activité antidiabétique via l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase et $\alpha$ -Glucosidase.....	55
➤ Protocole de l'activité : inhibition de l'alpha- amylase.....	55
➤ Protocole de l'activité : inhibition de l'alpha-glucosidase.....	56
V.6.3.2. Activité anti-Alzheimer via l'inhibition de l'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase.....	56
V.7. Analyse des données.....	59
V.8. Activité anti-microbienne des plantes.....	59
V.8.1. Souches de bactéries et de levures étudiées.....	59
V.8.2. Evaluation de l'activité anti-microbienne par la méthode de disque « Aromatogramme ».....	59
V.8.2.1. Ensemencement.....	60
V.8.2.2. Détermination de MIC et MBC.....	60
BIBLIOGRAPHIE.....	62
<b>Chapitre VI : RÉSULTATS ET DISCUSSION</b>	
V.1. Introduction .....	64
V.2. Mesures spectrales et produits chimiques utilisés .....	64

V.3. Criblage phytochimique .....	66
V.4. Etude phytochimique et biologique .....	67
V.4.1. Préparation des extraits .....	67
VI.4.2. Analyse colorimétrique (spectrophotométrie UV-visible).....	67
V.4.2.1. <i>Linaria pinifolia</i> (Poir.) .....	67
V.4.2.2. <i>Calendula suffruticosa boiserie</i> .....	70
V.4.2.2.1. Quantification des polyphénols .....	70
VI.2.2. Huiles essentielles de <i>C. suffruticosa. boiserie.</i> .....	71
➤ Analyse GC/MS .....	71
➤ Composants chimiques de l'huile essentielle .....	71
V.4.2.3. <i>Rumex aristidis Coss</i> .....	75
V.4.3. Activité antioxydante .....	75
V.4.3.1. Extraits de <i>Linaria pinifolia</i> (Poir.) .....	76
V.4.3.2. Extraits de <i>C. suffruticosa boissieri</i> .....	78
V.4.3.3. Extraits de <i>Rumex aristidis Coss</i> .....	79
V.4.4. Activité inhibitrice des enzymes .....	80
V.4.4.1. Extraits de <i>Linaria pinifolia</i> (Poir.) .....	80
V.4.4.2. Les extraits de <i>C. suffruticosa. boissieri</i> .....	82
V.4.4.3. Les extraits de <i>Rumex aristidis Coss</i> .....	83
V.4.5. Activité anti-microbienne des plantes .....	84
V.4.5.1. Les extraits de <i>Linaria pinifolia</i> (Poir.) .....	84
V.4.5.2. Les extraits de <i>C. suffruticosa boissieri.</i> .....	85
V.4.5.3. Extraits de <i>Rumex aristidis Coss</i> .....	86
BIBLIOGRAPHIE .....	88
CONCLUSION .....	92

## الملخص:

إن الهدف من هذا العمل هو تسليط الضوء على تأثير طرق الاستخلاص على المردود والأنشطة البيولوجية للمستخلصات الكحولية لثلاثة نباتات متوطنة في شمال شرق الجزائر وهي:

*Thell Rumex aristidis* و *Calendula. suffruticosa. boiserie, Linaria pinifolia* (Poir.)  
Coss.

أجرينا عمليات الاستخلاص عن طريق الموجات الصوتية والنقع باستخدام المحاليل المائية-الكحولية ثم قمنا بتقييم بعض الأنشطة البيولوجية لمستخلصات عدة أعضاء من النبات (جذور، أوراق وأزهار). أيضاً، قمنا بدراسة تأثير المذيب (ميثانول 70% وإيثانول 70%) على هذه الأنشطة. أظهرت النتائج قدرة تثبيط جد قوية ضد الكولينستراز، مضادات الالفا اميلاز، الالفا غلوكوزيداز ومضادات المكروبات.

لقد تم استخدام خمس طرق لتقييم نشاط مضادات الأكسدة: (CUPRAC ،DPPH ،ABTS)، تقليل الطاقة وتبييض بيتا كاروتين) و كانت النتائج مشجعة للغاية.

بناءً على هذه النتائج يمكن القول بأن النباتات المدروسة لها أنشطة بيولوجية مهمة يمكن استخدامها في قطاعات الأغذية والأدوية والعلاج بالنباتات.

**الكلمات المفتاحية:** مضادات الأكسدة-مضاد الكوليناستراز-مضادات السكري-مضادات المكروبات-النباتات لمستوطنة-المخطط البوليفينولي-الموجات فوق الصوتية.



**Abstract:**

The aim of this work is to highlight the effect of extraction methods on the yield and biological activities of alcoholic extracts of three endemic plants of northeastern Algeria (*Calendula. suffruticosa. boiserie*, *Linaria pinifolia (Poir.) Thell* and *Rumex aristidis Coss*).

We performed sonication and maceration extractions using hydro-alcoholic solutions, and then we evaluated the biological activities of extracts from various organs (flowers, leaves, and roots). We also studied the effect of the solvent (70% ethanol and 70% methanol) on these activities. The results showed that cholinesterase, anti-amylase, -glucosidase, and antimicrobials had a high inhibitory capacity.

Five methods were used to assess antioxidant activity (ABTS, CUPRAC, DPPH, reducing power, and the -carotene bleaching test). The results are very encouraging. Based on these results, it can be said that the studied plants have significant biological activity and can be exploited in the food, pharmaceutical, and phytotherapy industries.

**Keywords :** antioxidant activities – anticholinesterase – antidiabetic – antimicrobial - endemic plants - phenolic profiles - ultrasounds.

**Résumé :**

Le but de ce travail est de mettre en évidence l'effet des méthodes d'extraction sur le rendement et les activités biologiques des extraits alcooliques de trois plantes endémiques du nord-est algérien (*Calendula. suffruticosa.* boiserie, *Linaria pinifolia* (Poir.) Thell et *Rumex aristidis* Coss.).

Nous avons procédé à des extractions par sonication et macération en utilisant des solutions hydro-alcooliques, puis nous avons évalué quelques activités biologiques des extraits de différents organes (fleurs, feuilles, racines). Nous avons étudié également l'effet du solvant (éthanol 70% et méthanol 70%) sur ces activités. Les résultats ont montré une forte capacité inhibitrice contre la cholinestérase, l'anti- $\alpha$ -amylase, l' $\alpha$ -glucosidase, et l'antimicrobiens.

Cinq méthodes ont été utilisées pour la mesure de l'activité antioxydante (ABTS, CUPRAC, DPPH, pouvoir réducteur et test de blanchiment du  $\beta$ -carotène). Les résultats sont très encourageants. Sur la base de ces résultats, on peut dire que les plantes étudiées ont des activités biologiques importantes, elles peuvent être utilisées dans le secteur alimentaire, pharmaceutique ou en phytothérapie.

**Mots clés :** activités antioxydantes, anticholinestérasique, antidiabétique, antimicrobien, plantes endémiques, profils phénoliques, ultrasons..

## Abréviations

<b>A</b>	Absorbance
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>AChE</b>	Acétylcholinestérase
<b>ADN</b>	Acide ribonucléique
<b>BChE</b>	Butyrylcholinestérase
<b>BHA</b>	Butylatedhydroxyanisole
<b>BHT</b>	Butylatedhydroxytoluene
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>CUPRAC</b>	CUPric Reducing Antioxydant Capacity
<b>CPG</b>	Chromatographie en phase gazeuse
<b>DPPH</b>	2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle
<b>GSH</b>	Glutathion
<b>HHDP</b>	Acide hexahydroxydiphenique
<b>LDL</b>	Lipoprotéines de basse densité
<b>MBC</b>	Concentration bactéricide minimale
<b>MCE</b>	Extraction par macération
<b>MIC</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>NADPH</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
<b>NO</b>	Oxyde nitrique
<b>NOS</b>	Oxyde nitrique synthétase
<b>PARP</b>	Poly (ADP-ribose) polymerase
<b>PPT</b>	Polyphénols totaux
<b>Rd</b>	Rendement
<b>RL</b>	Radical libre
<b>ROS</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>TFC</b>	Teneurs en flavonoïdes totaux
<b>TFlaC</b>	Teneurs totales en flavonols
<b>USE</b>	Extraction assistée par ultrasons.

<b>Liste des figures et des photos</b>	<b>Page</b>
Figure I.1. Le capitule chez les Asteracees	4
Figure I.3. Quelques iridoïdes isolés	12
Figure I.4. Les flavonoïdes isolés	12
Figure I.5. Les diterpènes isolés	14
Figure II.2. Les dérivés de l'acide benzoïque	24
Figure II.4. Coumarine	24
Figure II.5. Les structures chimiques des différentes catégories de coumarines	25
Figure II.6. Noyau flavone	26
Figure II.7. Biosynthèse des flavonoïdes	27
Figure II.8. Les différentes familles des flavonoïdes	28
Figure III.1. La balance des systèmes antioxydants et pro-oxydants	35
Figure III.3. Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène	37
Figure III.4. Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques	39
Figure IV.1. Appareil d'extraction assistée par micro-ondes	44
Figure IV.2. Diagramme de phase du supercritique	44
Figure IV.3. Représentation schématique du phénomène de cavitation acoustique	45
Carte V.1. Situation géographique de la zone de récolte des plantes étudiées	47
Figure V.1. Mécanisme d'action de DPPH	53
Figure V.2. Processus de remplissage de l'échantillon sur la plaque	53
Figure V.3. Formation et piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup> par un antioxydant donneur de H <sup>+</sup>	54
Figure V.5. Mécanisme d'action du CUPRAC	55
Figure V.7. Mécanisme chimique de l'action de l'alpha-glucosidase	57
Figure V.8. Technique d'Ellman : mécanisme chimique	58
Figure V.10. Principe de la méthode de diffusion sur disque	60
Figure V.11. Pouvoir anti-microbien évalué <i>in vitro</i>	61

Figure VI.1 : Rendement d'extraction (A), teneurs phénoliques totales (B), teneurs totales en flavonoïdes (C) et teneurs totales en flavonols (D) de différents extraits de <i>Linaria pinifolia</i> .	69
Figure VI.2. Chromatogramme total d'huile essentielle de <i>C. suffruticosa boissier</i> .	74
Figure VI.3 : Capacité antioxydante de différents extraits de <i>Linaria pinifolia</i> exprimée en IC <sub>50</sub> et A <sub>0.50</sub> selon les tests DPPH (A) ; ABTS (B) ; Pouvoir réducteur (C) ; CUPRAC (D) et bêta-carotène (E).	77
Figure VI.4 : Activité d'inhibition enzymatique de différentes parties de <i>Linaria pinifolia</i> : (A) AChE ; (B) BChE ; (C) $\alpha$ -Amylase (D) $\alpha$ -Glucosidase	81
Photo 1 : <i>C. suffruticosa boissieri</i>	8
Photo 2 : <i>Linaria pinifolia</i>	15
Photo 3 : Les deux espèces : <i>Rumex crispus</i> (A) et <i>Rumex alpinus</i> (B).	17
Photo 4 : <i>Rumex aristidis</i>	18

<b>Liste des tableaux</b>	<b>Page</b>
Tableau I.1. Classification botanique de la famille des <i>Asteraceae</i>	5
Tableau I.2. Classification botanique de la famille des <i>Plantaginaceae</i>	9
Tableau I.3. Quelques iridoïdes isolés du genre <i>Linaria</i>	11
Tableau I.4. Quelques flavonoïdes isolés du genre <i>Linaria</i>	13
Tableau I.5. Quelques diterpènes isolés du genre <i>Linaria</i>	14
Tableau I.6. Classification botanique de la famille <i>Polygonaceae</i>	16
Tableau II.1. Quelques types de métabolites secondaires distincts	22
Tableau V.1. Organisation de microplaque dans le test de $\alpha$ -amylase	57
Tableau V.2 : Répartition des souches testées	59
Tableau VI.1 : Screening phytochimique de la partie aérienne des plantes étudiées.	66
Tableau VI.2. Effets du changement de la méthode d'extraction et du solvant sur le rendement, les TPC, les TFC et les TFlaC dans les différents extraits de <i>Linaria pinifolia</i> .	68
Tableau VI.3. : Profils phénoliques (TPC, TFC et TFlaC) et rendement de différentes parties de <i>Rumex aristidis</i> Coss.	70
Tableau VI.4. : Résultats de l'étude chromatographique GS/MS de de l'huile essentielle de la partie aérienne de <i>C. suffruticosa boissieri</i> .	72
Tableau VI.5 : Profils phénoliques (TPC, TFC et TFlaC) et rendement de différentes parties de <i>Rumex aristidis</i> Coss.	75
Tableau VI.6 : Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité antioxydante de <i>Linaria pinifolia</i> .	76
Tableau VI.7 : Capacités antioxydantes de l'huile essentielle et des extraits de <i>C. suffruticosa boissieri</i> .	78
Tableau VI.8 : Capacités antioxydantes des extraits de <i>Rumex aristidis</i> .	79
Tableau VI.9 : Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité d'inhibition enzymatique des différents organes de <i>Linaria pinifolia</i> .	80
Tableau VI.10 : Propriétés inhibitrices enzymatiques de l'huile essentielle et des extraits de <i>C. suffruticosa. Boissieri</i>	82
Tableau VI.11 : Propriétés inhibitrices enzymatiques des extraits de <i>Rumex aristidis</i> Coss.	83
Tableau VI.12 : Valeurs de l'activité antimicrobienne de différents extraits de <i>Linaria pinifolia</i> (Poir.)	84

Tableau VI.14 : Valeurs mesure antimicrobienne des extraits de <i>Rumex aristidis</i> .	85
---	----

# INTRODUCTION



## INTRODUCTION

À l'heure actuelle, plusieurs questions sont soulevées au sujet de l'innocuité des substances chimiques synthétiques utilisées dans l'industrie pharmaceutique [1]. En effet, les antioxydants synthétiques utilisés pour retarder l'oxydation des lipides causent des effets indésirables et une utilisation excessive d'agents antimicrobiens chimiques dans les médicaments humains et l'élevage, mène au développement de souches résistantes [2].

Étant donné les limites thérapeutiques des médicaments de synthèse, le développement de la recherche sur les plantes a été orienté vers la production de phyto-médicaments. Les plantes contiennent des molécules biochimiques très variées (terpènes, alcaloïdes, polyphénols) des propriétés physico-chimiques très différentes avec une vaste gamme d'activités biologiques (antioxydant, antivirale, antimicrobienne, antitumorale, ...). De plus, il est maintenant reconnu que les plantes sont une source importante de molécules bioactives [3].

La région méditerranéenne d'une manière générale et l'Algérie en particulier, avec son climat doux et ensoleillé, sont particulièrement favorables à la culture des plantes médicinales. Ces derniers, constituent une source économique énorme, pour cela la valorisation des molécules bioactives d'origine naturelle est d'une importance capitale [4].

Les composés bioactifs doivent d'abord être séparés de leur matrice végétale d'origine avant d'être valorisés. L'obtention de ces molécules nécessite de nombreuses étapes souvent longues et coûteuses, telles que l'extraction, l'isolement par des essais bioguidés et l'identification, ce qui retarde encore leur développement industriel. Ainsi, l'avancement technologique et la création de nouvelles méthodologies d'extraction, de séparation rapide, de miniaturisation, de couplage, etc., sont l'un des défis majeurs de la chimie analytique. tout en adoptant une approche de "chimie verte" et de respect environnemental [5].

L'étude présentée se subdivise en deux grands chapitres. :

### ❖ **Partie bibliographique**

Consacrée à :

- Un aperçu bibliographique sur les plantes étudiées à savoir : *Calendula. suffruticosa*. boiserie, *Linaria pinifolia* (Poir.) Thell et *Rumex aristidis* Coss ;

- Présentation de quelques métabolismes secondaires des plantes
- Généralités sur le stress oxydant et les antioxydants
- Rappels sur quelques méthodes d'extraction.

#### ❖ **Partie expérimentale**

Réservée aux :

- Matériels et méthodes.

Et on termine par une conclusion.

## **Bibliographie**

- [1] A. Goossens, L. Geusens, T. Decraene, Les industries pharmaceutiques et cosmétiques, (1999) 81-98.
- [2] Z. Farshad, A. Shahedi, F. Fesahat, A. Hassanpour, M. Anvari, Effect of Formaldehyde and Curcumin on Histomorphological Indices, Gene Expression Associated with Ovarian Follicular Development, and Total Antioxidant to Oxidant Levels in Wistar Rats, 2023 (2023).
- [3] N. Ortiz-Mendoza, M.J. Martínez-Gordillo, E. Martínez-Ambrioz, F.A. Basurto-Peña, M.E. González-Trujano, E. Aguirre-Hernández, Ethnobotanical, Phytochemical, and Pharmacological Properties of the Subfamily Nepetoideae (Lamiaceae) in Inflammatory Diseases, 12(21) (2023) 3752.
- [4] R.G. Degnon, C.T. Konfo, K. Aboudou, Y.M. Bagbonon, A. Studies, Influence de la variété sur les caractéristiques microbiologiques, physico-chimiques et sensorielles du afitin, un condiment produit à base de graines de soja au Bénin, 29(4) (2020) 1153-1160.
- [5] K.P. Kannaiah, A. Sugumaran, H.K. Chanduluru, Simultaneous estimation of crotamiton and hydrocortisone by RP-UPLC using green analytical principles embedded analytical quality by design (AQbD) method, 184 (2023) 108166.

# **PREMIERE PARTIE**

SYNTHÈSE

**BIBLIOGRAPHIQUE**

# **CHPITRE –I–**

Aperçu bibliographique sur les  
plantes étudiées

## I.1. Introduction

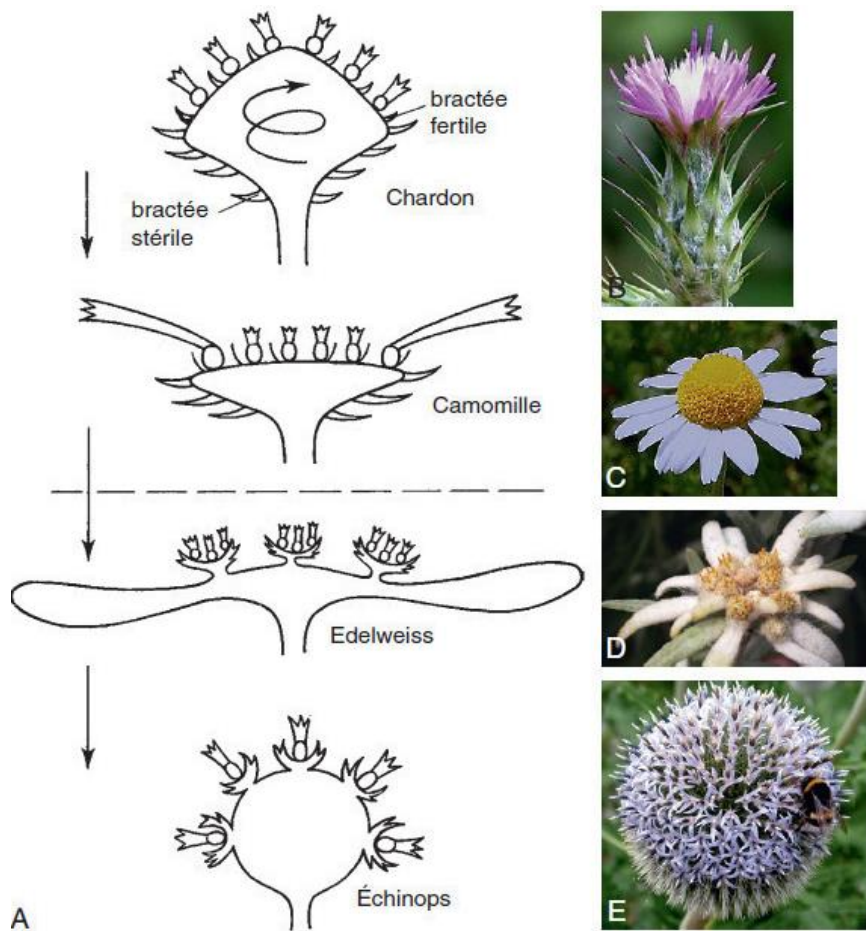
On estime que les plantes algériennes comptent des milliers d'espèces appartenant à diverses familles [1], on trouve les Apiacées et les Frankeniacees qui contiennent un nombre important d'espèces médicinales. Ces espèces sont connues de leur richesse en métabolites secondaires biologiquement actifs, c'est principalement cette caractéristique qui justifie la sélection des trois espèces suivantes pour notre étude : *Calendula suffruticosa* Vahl subsp. *boissieri* Lanza, *Linaria pinifolia* (Poir.) Thell. et *Rumex aristidis* Coss. On a essayé de rechercher de nouvelles molécules qui présentant des activités biologique intéressantes.

## I.2. La famille des Asteraceae

La famille des *Asteraceae*, également appelées Composées, est une très grande famille de plantes dont font partie les marguerites, les pâquerettes, les tournesols et les dents-de-lion. C'est la plus grande famille de plantes, avec celle des Orchidées, représentée par 913 espèces réparties en 1911 genres. Les *Astéracées* sont des arbustes ou des arbres, mais principalement des plantes herbacées qui poussent partout dans le monde. Ce sont des plantes importantes économiquement, puisqu'elles permettent de produire des huiles, des graines et des tisanes. Certaines espèces sont également importantes pour des raisons ornementales.

Les Asteracees sont caractérisées par :

- L'inflorescence capitulaire est constituée d'un réceptacle sur lequel se forme une fleur composée (**Figure I.1**).
- Les feuilles contiennent de la résine ou du latex. Elles sont parfois simples, parfois incisées ou lobées [2].
- Le fruit, un achène habituellement surmonté par un Pappus [3].



**Figure I.1.** Les Astéracées [4].

### I.2.1. Classement botanique

D'après le Classement Cronquist effectuée en 1998 (**Tableau I-1**),

**Tableau I.1.** Classement botanique des *Asteraceae*

Classement	
Règne	Plantae
Sous- règne	Tracheophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	<i>Asteraceae</i>

### I.2.2. Activités biologiques

Plus de 10 000 espèces appartiennent à la famille des *Asteraceae*, la plupart étant comestibles et servant de plantes alimentaires. La famille est dominée par la laitue [5].

*L'arnica montana* est une plante vivace qui pousse dans les montagnes d'Europe. Elle est mentionnée dans les pharmacopées européennes pour son utilisation dans le traitement de traumatismes mineurs tels que les hématomes. Cette plante est traditionnellement utilisée en phytothérapie pour soulager la douleur et/ou l'inflammation [6].

Le plus important pour nous, dans cette famille, est le genre *Calendula* qui occupe une place appréciable dans la médecine traditionnelle [7, 8].

### I.2.3. le genre *Calendula*

#### I.2.3.1. Description botanique du genre *Calendula*

Le nom latin *Calendula* aurait son origine aux « Calendes », parce que plusieurs espèces de ce genre fleurissent à toutes les calendes, qui étoilent le premier jour de chaque mois chez les Romains. Le genre *Calendula*. est connu aussi sous plusieurs dénominations : « Souci » en français, « *Marigold* » en anglais et par son nom vernaculaire « Djamir, Razehima » en arabe [9].

Le genre *Calendula* compte huit espèces et environ vingt-six variétés et sous-espèces en Algérie [10].

D'un point de vue botanique :

- Des feuilles hétérogènes, arborant plusieurs fleurs et éblouissantes, obtenues à partir de l'involucre, disposées en deux séries alternes, avec des scarifications étroites sur les bords. Le réceptacle est plan jusqu'à l'anthèse puis légèrement convexe.
- Les fleurs discrètes sont fructueuses, disposées en 2 rangs, avec une ligule entière.
- Les fleurs du disque tubuleuses à 5 dents sont hermaphrodites et stériles.
- Anthères simple avec une sagittée auriculée.
- Akène ont une forme particulière avec un prisme triangulaire avec deux faces latérales planes [10].



**Figure.I.2.** *C. arvensis* (Souci des champs) et illustrations de *C. officinalis* (Souci des jardins) [11].

### I.2.3.2. Activités biologiques du genre *Calendula*

Un effet antiradicalaire a été démontré par l'activité antioxydante *in vitro* de *Calendula officinalis* à l'aide de diverses méthodes [12].



Quatre types de bactéries ( *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* ) ont été testés sur l'effet antimicrobien des extraits hydroéthanoliques des fleurs dont une bonne efficacité antibactériens [13].

Le potentiel anti-inflammatoire important de ce type de plante a été démontré par plusieurs études, dont une étude où la prise orale d'extrait de calendula a inhibé l'œdème du pied induit par la carraghénane. Une autre étude a confirmé l'affirmation concluante selon laquelle cette plante a la capacité de détruire les cellules cancéreuses. Où l'extrait de *C. officinalis* a montré son efficacité dans la prévention de la prolifération des cellules cancéreuses[14]. Les résultats anti-VIH suggèrent également que l'extrait des fleurs a des caractéristiques anti-VIH qui pourraient être utiles en thérapie [15].

### **I.2.3.3. Recherches phytochimiques sur le genre *Calendula*.**

De nombreuses études phytochimiques et biologiques ont été menées sur les plantes du genre *Pituranthos*. La recherche phytochimique a permis d'identifier un nombre important de terpénoïdes, saponines et triterpènes[16, 17]. Les plantes de cette espèce sont connues pour leur synthèse d'huiles essentielles qui ont des propriétés biologiques telles que antioxydantes, antimicrobiennes, antigéniques et cytotoxiques[18, 19].

#### **➤ Position systématique :**

Classe : Equisetopsida

Sous classe : Magnoliidae

Ordre : Asterales

Famille : *Asteraceae*

Genre : *Calendula*

Genre Espèce : *Calendula suffruticosa*.

#### **➤ Description botanique**

L'espèce *Calendula suffruticosa* est une plante vivace et plante herbacée visqueuse, appartenant à la famille Asteraceae et atteignant environ 40 cm de hauteur ; la tige est droite. Il est généralement boisé à une certaine distance au-dessus de la base, simple ou peu ramifié. Les feuilles sont de couleur vert pâle et lancéolées, légèrement ondulées et denté. Les fleurs sont unies en capitules excédant 2 cm de diamètre et jaune ou orange couleur, les fleurs périphériques sont liées et unies en deux les rangées, tandis que celles du centre sont

tubulaires et dentées ; le fruit est un akène souvent courbé et équipé de pics. Le nom de genre du « *Calendula* » remonte à la Moyen Âge, il vient du latin « Calendrier » : le calendriers étant dans le calendrier romain le premier jour de le mois, probablement avec un sens analogue au calendrier, indicateur métrologique en raison de sa longue période de floraison car les têtes s'ouvrent et se ferment avec l'apparence du soleil [20]. Alors que *suffruticosa*, dérivé du latin "frutex" signifie buisson qui apporte cette espèce ligneuse plus près des sous-arbustes [21].



**Photo 1** : *C. suffruticosa boissieri*.

➤ **Recherches antérieures sur la variété *C. suffruticosa boissieri*.**

Selon la synthèse de la bibliographie, aucune recherche phytochimique ou biologique n'a été menée sur cette espèce.

### **I.3. La famille *Plantaginaceae***

#### **I.3.1. Introduction**

Les *Plantaginaceae* sont une famille de plantes herbacées, rarement ligneuses à la base, avec des feuilles en rosette basale opposées ou alternes et une inflorescence en épis denses plus ou moins allongés [9]. Elle est généralement divisée en trois genres, le premier étant *Plantago*, qui comprend plus de 260 espèces, 2<sup>ème</sup> *Littorella* qui compte trois espèces (dont *L. americana* et *Littorella uniflora*) et 3<sup>ème</sup> *Bougeria* qui est représenté par 1 seule espèce [22]. Le genre *Plantago* (Plantain) est la seule représentation saharienne de cette famille botanique [23]. Le sous-genre *Plantago* à feuilles alternes et le sous-genre *Psyllium* à feuilles opposées sont les deux sous-genres du genre *Plantago* étudié dans cette thèse. [24,

25]. Le genre *Plantago* (*Plantaginaceae*) est cosmopolite, concentré dans les régions tropicales tempérées et à haute altitude [26]. Les espèces de *Plantago* sont présentes dans toutes les zones phytogéographiques et sont utilisées soit comme mauvaises herbes pour la culture, soit comme fourrage pour les animaux dans les environnements plus arides, comme les déserts et les oasis. Ce genre comprend la majorité des plantes annuelles ou vivaces, ou plus rarement sous-arbustives [26].

### I.3.2. Classification botanique

Selon le Classement de *Plantaginaceae* effectuée en 2009 ( **Tableau I.2**), Basant sur nouvelles méthodes d'identification comme la microscopie électronique, cytologie, histologie...etc., [27].

**Tableau I.2.** Classement botanique de la famille des *Plantaginaceae*.

Classement	
<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous- règne</b>	Tracheophyta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	<i>Plantaginales</i>
<b>Famille</b>	<i>Plantaginaceae</i>

### I.3.3. Activités Biologiques

Les espèces de la famille *Plantaginaceae* sont utilisées en pharmacopée traditionnelle sous forme de poudres et de compresses pour traiter les inflammations, la constipation et la cicatrisation des blessures [28].

Les feuilles et les graines de *P. asiatica L.* et *P. depressa Willd.*, s'utilisent en pharmacopée chinoise comme des expectorants, des diurétiques, des agents antimicrobiens et anti-inflammatoires [29]. Certaines espèces de *Plantago* ont été utilisées par les industries nutraceutiques et pharmaceutiques. Pendant des siècles, *Plantago major L.*, un grand plantain, a été utilisé comme plante médicinale traditionnelle. C'est l'une des herbes médicinales les plus courantes au monde. Ses feuilles favorisent la cicatrisation des plaies. [30].

### **I.3.4. Le genre *Linaria***

#### **I.3.4.1. Description botanique du genre *Linaria***

À deux loges et à déhiscence porcidé. Les espèces *Linaria* sont réputées par leurs accumulations de métabolites secondaires de type iridoïdes, néoclérodanes, alcaloïdes et phénylétanoïdes [31,32]. Le centre de distribution du genre *Linaria* est le bassin méditerranéen [33], dont 20 espèces se trouvent en Italie, 20 en Turquie [34], et 39 espèces en Algérie [35].

#### **I.3.4.2. Activités Biologiques**

✓ *L. vulgaris* : utilisée particulièrement dans la Bulgarie pour ses propriétés laxative, traitement des inflammations de la vessie, éruptions cutanées ainsi que les hémorroïdes [36]. La population locale du Nord-Est de la Chine utilise la même espèce pour traiter la toux, l'asthme et l'expectorant [37].

✓ *L. japonica* : utilisé dans la médecine traditionnelle pour ses qualités diurétiques, purgatives et laxatives [38].

✓ *L. cymbalaria* : une plante thérapeutique aux effets diurétiques, toniques et antiscorbutiques [39].

✓ *L. reflexa*: une espèce appelée "Oum lajrah" en raison de son pouvoir cicatrisant. Elle est également utilisée à l'extérieur pour traiter certaines affections cutanées. [40].

Il est évident que la majorité des espèces de *Linaria* sont utilisées dans la médecine traditionnelle en raison de leurs propriétés biologiques variées, telles que toniques, antiscorbutiques, laxatives, antidiabétiques et diurétiques. De plus, elles sont également utilisées pour traiter les blessures, les hémorroïdes et les problèmes vasculaires [41], spasmolytique, anti-inflammatoire, cholagogue [42].

#### **I.3.4.3. Investigations phytochimiques du genre *Linaria***

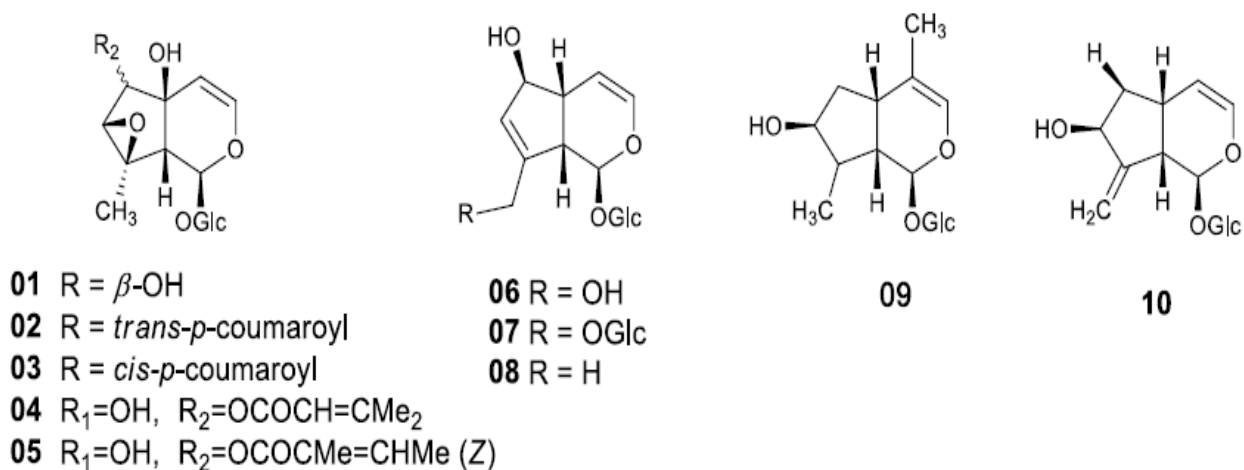
Les iridoïdes, les diterpénoïdes et les alcaloïdes font partie des métabolites secondaires riches du genre *Linaria*, selon des études menées sur ces espèces. Ces produits visent à protéger la plante et sont également connus pour leurs effets biologiques anti-inflammatoires, antidiabétiques.

## a) Les iridoïdes

Les iridoïdes peuvent être trouvés dans les végétaux supérieurs, en particulier dans les angiospermes dicotylédones, en particulier dans les gamopétales des ordres gentianales, lamiales et scrophulariales. Les genres de la tribu *Plantaginaceae-Antirrhineaede* (Plantaginaceae) comprennent *Linaria*, *Antirrhinum*, *Asarina*, *Kickxia*, *Cymbalaria* et *Maurandia*, ainsi que Antirrhinoside (1) et ses dérivés [43]. Les iridoïdes les plus fréquents sont les dérivés de 6-acyl antirrhinoside et de 5-deoxyantirrhinoside. **Figure.I.3** et **Tableau I.3** suivants présente quelque iridoïdes déjà isolés du genre *Linaria*.

**Tableau I.3.** Quelques iridoïdes isolés du genre *Linaria*

Composé	Espèce	Référence
<b>Antirrhinoside (1)</b>	<i>L. vulgaris</i>	(Ilieva E . 1993).
	<i>L. japonica</i>	(Otsuka H . 2005).
	<i>L. reflexa</i>	
<b>6-O-cis-p-coumaroylantirrhinoside (2)</b>	<i>L. vulgaris</i>	(Ilieva E .1992).
<b>6-O-trans-pcoumaroylantirrhinoside (3)</b>		
<b>6-O-senecioylantirrhinoside (4)</b>	<i>L. tingitana</i>	(Esposito P . 1970).
<b>6-O-angeloylantirrhinoside (5)</b>		
<b>Aucubine (6)</b>	<i>L. vulgaris</i>	(Guiso M . 2007).
<b>10-O-β-glucosylaucubine (7)</b>	<i>L. vulgaris</i>	(Cheriet T. 2016).
<b>Linaride (8)</b>	<i>L. japonica</i>	(Bianco A . 1977).
<b>7-3-hydroxy-8-epi-iridodial glucoside (9)</b>	<i>L. japonica</i>	
<b>Antirrhide (10)</b>	<i>L. reflexa</i>	

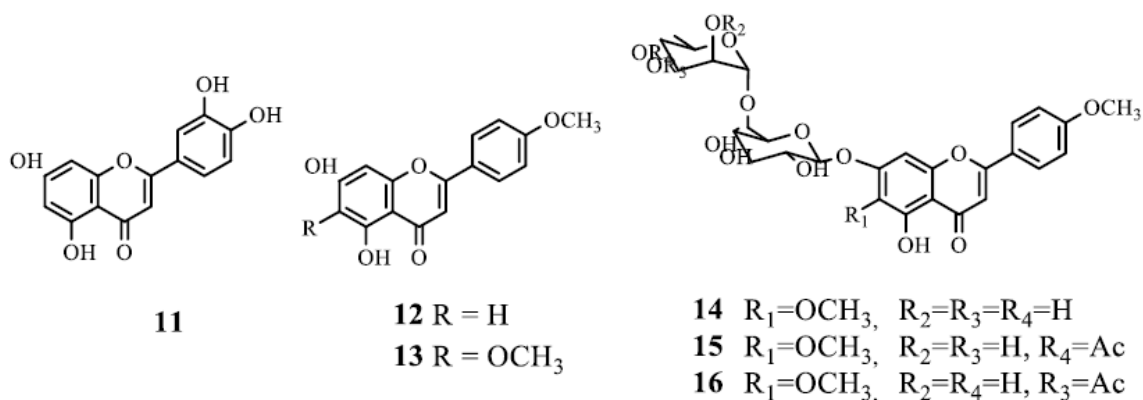


**Figure.I.3.** Quelques iridoïdes isolés à partir du genre *Linaria*.

## b) Les flavonoïdes

Ce sont des pigments végétaux presque universels. On attribue à ces flavonoïdes divers effets biologiques tels que l'antitumoral, l'anti-cancérigène, l'anti-inflammatoire, l'hypotenseur et l'antioxydante [44].

Différents flavonoïdes sont isolés du genre *Linaria* dont la majorité est de type flavone glycosylés. La présence de groupement méthoxyle en position C-4' et C-6 est spécifique pour le genre *Linaria*.



**Figure.I.4.** Les flavonoïdes isolés à partir du genre *Linaria*.

**Tableau I.4.** Quelques flavonoïdes isolés du genre *Linaria*

Composé	Espèce	Référence
<b>Lutéoline</b> (11)	<i>L. vulgaris</i>	(Hua H . 1999).
	<i>L. japonica</i>	
<b>Acacétine</b> (12)	<i>L. vulgaris</i>	(Widyowati R. 2016).
<b>Pectolarigenine</b> (13)	<i>L. vulgaris</i>	(Kouichi M . 2011).
	<i>L. japonica</i>	
<b>Pectolarine</b> (14)	<i>L. vulgaris</i>	(Morita N . 1974).
	<i>L. japonica</i>	(Mun GS . 1979).
	<i>L. reflexa</i>	
<b>Linariine</b> (15)	<i>L. vulgaris</i>	(Otsuka H . 1992).
	<i>L. japonica</i>	
	<i>L. reflexa</i>	
<b>Isolinariin B</b> (16)	<i>L. reflexa</i>	(Tundis R . 2005).

### c) Les diterpènes

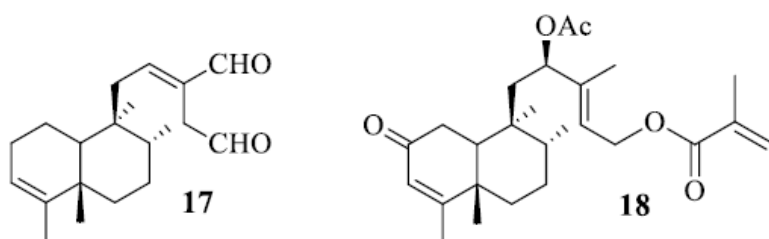
Le précurseur des diterpènes, le géranyl géranyl pyrophosphate (GGPP), est responsable de leur formation. Les diterpènes sont des substances avec 20 atomes de carbone (C<sub>20</sub>) élaborées à partir de 4 unités d'isoprène [45]. Ils sont largement présents chez les végétaux supérieurs, [46]. Ils peuvent être :

- ✓ Acycliques comme le phytol ; dont il est le représentant le plus connu dans les vitamines E et K ou dans la chlorophylle.
- ✓ bicycliques comme le sclaréol.
- ✓ Monocycliques comme la vitamine A.
- ✓ Tricycliques comme l'acide abiétique [47].

Seulement deux espèces du genre *Linaria* sont connus pour la présence de diterpénoïdes, il s'agit de *L. saxatilis* et *L. japonica*.

**Tableau I.5.** Quelques Diterpènes isolés du genre *Linaria*

Composé	Espèce	Référence
<b>Dialdéhyde linaridial (17)</b>	<i>L. japonica</i>	(Kitagawa, 1975).
<b>Linarienone (18)</b>		



**Figure I.5.** Les diterpènes isolés à partir du genre *Linaria*.

### I.3.5. *Linaria pinifolia*

#### I.3.5.1. Place dans la systématique

Classe : Equisetopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Plantaginaceae

Genre : *Linaria*

Genre Espèce : *Linaria pinifolia*

#### I.3.5.2. Description botanique

C'est une plante vivace rampante leur hauteur de 10 à 80 cm. Ces longues tiges ont en effet la capacité de s'enraciner de place en place, comme des stolons. Elles portent des petites feuilles persistantes qui évoquent celles du lierre à une forme légèrement déprimée en leur centre, qui peut effectivement faire penser à de petites embarcations. Ces derniers sont alternes luisantes et charnues, longuement pétiolées, réniformes ou arrondies, le plus souvent à cinq lobes, parfois plus [48].





**Photo 2 :** *Linaria pinifolia*

### **I.3.6. Travaux antérieurs sur l'espèce *Linaria pinifolia***

Aucune recherche phytochimique ou biologique n'a été menée, selon la synthèse de la bibliographie.

## **I.4. La famille *Polygonaceae***

### **I.4.1. Introduction**

Cette famille regroupe 43 genres et 1100 espèces dans le monde entier. Les principaux genres sont *Calligonum* (35 connues et 27 décrites), représenté par espèces, *Eriogonum* (240 espèces), *Rumex* (200 espèces), *Polygonum* (150 espèces), *Persicaria* (150 espèces) et *Coccoloba* (120 espèces) [49].

### **I.4.2. Description botanique**

Les *Polygonacées* peuvent être des plantes herbacées annuelles ou vivaces, arbustives ou grimpantes, elles sont sans latex [50]. Ce sont des plantes facilement reconnaissables par leurs gaines ou ochréas qui entourent la tige au-dessus des noeuds.

Les feuilles sont généralement alternes, isolées, simples et entières. On retrouve parfois des traces de plis persistant sur le limbe [51].

Les fleurs sont généralement hermaphrodites, mais il existe des fleurs unisexuées, actinomorphes, elles sont de couleur blanche à rouge [49].

Les filets sont libres ou légèrement soudés. Les grains de pollen sont tricolporés ou polyporés [49].

**Tableau I.6.** Classement botanique de la famille *Polygonaceae*

Classement	
<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous- règne</b>	Tracheophyta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Caryophyllidae
<b>Ordre</b>	Polygonales
<b>Famille</b>	<i>Polygonaceae</i>

### I.4.3. Activités Biologiques

La famille des *Polygonacées* est anciennement utilisée comme remède en médecine traditionnelle [52]. Au sein de cette famille, certaines espèces sont cultivées pour l'alimentation ; *Fagopyrum esculentum* (sarrasin) pour ses graines, *Coccoloba uvifera* (raisinier) pour ses fruits et *Rheum hybridum* (rhubarbe) pour ses pétioles. Quelques genres sont cultivés pour l'ornement, tels que *Antigonon* et *Polygonum*. *Fallopia japonica* (renouée du Japon) [52].

### I.4.4 Le genre *Rumex*

#### I.4.4.1. Caractéristiques botanique du genre *Rumex*

Ce sont des plantes herbacées qui sont généralement vivaces ou plus rarement annuelles, rarement arbustives et rarement dioïques. En règle générale, leurs racines sont solides. Les tiges sont érigées, ramifiées et rarement prostrées. Les feuilles sont simples, parfois dimorphes [53].



(A)



(B)

**Photo 3** : Les deux espèces : *Rumex crispus* (A) et *Rumex alpinus* (B).

#### **I.4.4.2. Activités Biologiques**

La médecine populaire d'Europe centrale et d'Europe de l'Est fait une grande place aux rumex depuis des siècles [54;55].

#### **I.4.4.3. Investigations phytochimiques du genre *Rumex***

Le *Rumex* peut produire diverses substances nocives dans le sol, telles que des térpénoïdes, des tanins, et des glycosides. Ces substances peuvent être utilisées pour empêcher la croissance ou la germination d'autres plantes de la rhizosphère ou même pour les tuer en leur donnant un espace vital propre.[56].

#### **I.4.5. *Rumex aristidis* Coss**

##### **I.4.5.1 Place dans la systématique**

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Caryophyllidae

Ordre : Polygonales

Famille : *Polygonaceae*

Genre : *Rumex*

Genre Espèce : *Rumex aristidis*

#### **I.4.5.2. Description botanique**

Cette plante haute de 50 cm à plus d'un mètre présente une tige robuste, dressée à terminaison rameuse et rameaux courts portant des verticilles à nombreuses fleurs alignées et rapprochés ; les pédicelles sont articulés vers le quart inférieur ; les valves fructifères sont ovoïdes ou en cœur, entières ou denticulées à la base, à granules inégaux [57].



**Photo 4 :** *Rumex aristidis*.

#### **I.4.5.3. Travaux antérieurs sur l'espèce *Rumex aristidis***

Aucune recherche phytochimique ou biologique n'a été menée, selon la synthèse de la bibliographie

## Bibliographie

- [1] B. Rondeau. (2023). Chapitre 2. La guerre sur terre : conditions matérielles et vie quotidienne au front. *Tempus*, 115-197.
- [2] J. Heywood, G. Fonarow, M. Costanzo, V. Mathur, J. Wigneswaran, J. Wynne, A. Committee, I. failure, High prevalence of renal dysfunction and its impact on outcome in 118,465 patients hospitalized with acute decompensated heart failure: a report from the ADHERE database, 13(6) (2007) 422-430.
- [3] B. Mouad, B. Ahlem, B. Mostefa, Diversité florale des astéracées de la région de Constantine (Algérie), 11(18) (2015).
- [4] N. Benhammou, Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien, Thèse de Doctorat, 2012.
- [5] D. Polsky, M. Richards, S. Basseyn, D. Wissoker, G. Kenney, S. Zuckerman, K. Rhodes, Appointment availability after increases in Medicaid payments for primary care, *New England Journal of Medicine*, 372(6) (2015) 537-545.
- [6] P. Khasa, V. Furlan, K. Lumande, F.d. Tropiques, Symbioses racinaires chez quelques essences forestières importantes au Zaïre, *Bois & Forêts des Tropiques*, 224 (1990) 27-33.
- [7] M. Öztürk, F. Aydoğmuş-Öztürk, M. Duru, G. Topçu, Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food chemistry*, 103(2) (2007) 623-630.
- [8] N. Benhammou, F. Bekkara, T. Panovska, pharmacology, Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts, *African journal of pharmacy and pharmacology*, 2(2) (2008) 022-028.
- [9] B. Bovei, ANNEXE : Plantes potentiellement dangereuses pour les ruminants en Algérie (nomenclature, répartition, habitat et abondance selon QUÉZEL et SANTA, 1962-1963).
- [10] H. Baillon, Histoire des plantes, Librairie Hachette 1886.
- [11] A. Masclef, Atlas des plantes de France utiles, nuisibles et ornementales: 400 planches coloriées représentant 450 plantes communes, avec de nombreuses fig. de détail et un texte explicatif des propriétés des plantes, de leurs usages et applications en médecine, agriculture, horticulture, dans l'industrie, l'économie domestique etc, Klincksieck 1891.
- [12] J. Walston, J. Robinson, E. Bennett, U. Breitenmoser, G.A. da Fonseca, J. Goodrich, M. Gumal, L. Hunter, A. Johnson, K. Karanth, Bringing the tiger back from the brink—the six percent solution, *PLoS biology*, 8(9) (2010) e1000485.
- [13] J. Hickmann, E. Fonseca, W. Soares, S. Chávez-Cerda, Unveiling a truncated optical lattice associated with a triangular aperture

- using light's orbital angular momentum, *Physical review letters*, 105(5) (2010) 053904.
- [14] J. Del Alamo, J. Jimenez, Linear energy amplification in turbulent channels, *Journal of Fluid Mechanics*, 559 (2006) 205-213.
- [15] Z. Kalvatchev, R. Walder, D. Garzaro, pharmacotherapy, Anti-HIV activity of extracts from *Calendula officinalis* flowers, *Biomedicine & pharmacotherapy*. 51(4) (1997) 176-180.
- [16] A. Abdel-Nasser, S. Abd El-Azim, E. Taal, S. El-Badawy, J. Rasker, H. Valkenburg, Depression and depressive symptoms in rheumatoid arthritis patients: an analysis of their occurrence and determinants, *British journal of rheumatology*, 37(4) (1998) 391-397.
- [17] T. Touil, D. Fitzgerald, G. Zhang, A. Rostami, B. Gran, Cutting edge: TLR3 stimulation suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis by inducing endogenous IFN- $\beta$ , *The Journal of Immunology*, 177(11) (2006) 7505-7509.
- [18] A. El Nakeeb, E. Hamdy, A. Sultan, T. Salah, W. Askr, H. Ezzat, M. Said, M.A. Zeied, T. Abdallah, Isolated Roux loop pancreaticojejunostomy versus pancreaticogastrostomy after pancreaticoduodenectomy: a prospective randomized study, *HPB*, 16(8) (2014) 713-722.
- [19] R. Ammar, W. Bhourri, M. Sghaier, J. Boubaker, I. Skandrani, A. Neffati, I. Bouhlel, S. Kilani, A. Mariotte, L. Chekir-Ghedira, Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study, *Physical review letters*, 116(1) (2009) 258-264.
- [20] F. Couplan, Les plantes et leurs noms : Histoires insolites, *Les plantes et leurs noms* (2012) 1-224.
- [21] N. Beniston, W. Beniston, *Fleurs d'Algérie*, Entreprise nationale du livre 1984.
- [22] K. Wolff, B. Schaal, Chloroplast DNA variation within and among five *Plantago* species, *Journal of evolutionary biology*, 5(2) (1992) 325-344.
- [23] P. Ozenda, Les relations biogéographiques des montagnes sahariennes avec la région méditerranéenne, *Revue de géographie alpine* 79(1) (1991) 43-53.
- [24] R. Taskova, L. Evstatieva, N. Handjieva, S. Popov, Iridoid patterns of genus *Plantago* L. and their systematic significance, *Zeitschrift für naturforschung C*, 57(1-2) (2002) 42-50.
- [25] B. TUTEL, I. Kandemir, S. Kuş, A. Kence, Classification of Turkish *Plantago* L. species using numerical taxonomy, *Turkish Journal of Botany*, 29(1) (2005) 51-61.
- [26] M. Gazer, L. Shalabi, The role of pollen morphology in the identification and classification of *Plantago* (Plantaginaceae), *Egypt J. Exp. Biol* 10(2) (2016) 125-132.
- [27] M. Blamey, C. Grey-Wilson, *La flore d'Europe occidentale : plus de 2.400 plantes*

- décrites et illustrées en couleurs, Flammarion 2003.
- [28] S. Gonçalves, A. Romano, Products, The medicinal potential of plants from the genus *Plantago* (Plantaginaceae), 83 (2016) Industrial Crops and Products 213-226.
- [29] H. Tan, Z. Zhao, W. Zhu, E. Coker, B. Li, M. Zheng, W. Yu, H. Fan, Z. Sun, interfaces, Oxygen vacancy enhanced photocatalytic activity of perovskite SrTiO<sub>3</sub>, ACS applied materials & interfaces, 6(21) (2014) 19184-19190.
- [30] A. Samuelsen, The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review, Journal of ethnopharmacology 71(1-2) (2000) 1-21.
- [31] P. Quezel, S. Santa, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, 1963.
- [32] P. Davis, G. Dulude, R. Griffin, W. Matson, E. Zink, Determination of total arsenic at the nanogram level by high-speed anodic stripping voltammetry, Analytical Chemistry, 50(1) (1978) 137-143.
- [33] Ö. Seçmen, Y. Gemici, G. Gork, L. Bekat, E. Leblebici, Faculty of Science Publications, Systematic of seed plants, Ege University, Faculty of Science Publications, 2000, p. 396s.
- [34] S. Pignatti, New species of *Limonium* from Italy and Tunisia, Webbia 36(1) (1982) 47-56.
- [35] G. Durán-Reyes, M. del Rocío Gómez-Meléndez, G. Morali-De La Brena, E. Mercado-Pichardo, R. Medina-Navarro, J. Hicks-Gómez, Nitric oxide synthesis inhibition suppresses implantation and decreases cGMP concentration and protein peroxidation, Life sciences, 65(21) (1999) 2259-2268.
- [36] Y. Wong, Popular Unrest and the 1911 Revolution in Jiangsu, Modern China, 3(3) (1977) 321-344.
- [37] K. Araki, N. Hashimoto, H. Otsuka, S. Shinkai, Synthesis and ion selectivity of conformers derived from hexahomotrioxacalix [3] arene, The Journal of Organic Chemistry, 58(22) (1993) 5958-5963.
- [38] K. Shibata, T. Kiyoura, J. Kitagawa, T. Sumiyoshi, K. Tanabe, Acidic properties of binary metal oxides, Bulletin of the Chemical Society of Japan, 46(10) (1973) 2985-2988.
- [39] D. Dobrescu, A. Cristea, M. Susanu, Experimental pharmacodynamic study of *Linaria vulgaris* used in folk medicine for the treatment of eczemas, Farmacia Bucharest, 33 (1985) 215-20.
- [40] M. Boukef, Medicinal plants used in Tunisia, (1986).
- [41] M. Hafner, M. Stepanek, J. Taylor, W. Troxel, C. Van Stolk, Why sleep matters—the economic costs of insufficient sleep: a cross-country comparative analysis, Rand health quarterly, 6(4) (2017).
- [42] R. Arslan, E. Dilek, E. Duygusal Zeka Örgütsel BAĞLILIK Arasındaki İlişki:

- Sağlık Çalışanları Üzerinde Bir Araştırma, Uluslararası Alanya İşletme Fakültesi Dergisi,5(3) (2013) 169-180.
- [43] M. Serafini, D. Del Rio, Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? Redox report, 9(3) (2004) 145-152.
- [44] W. Ren, Z. Qiao, H. Wang, L. Zhu, L. Zhang, Flavonoids: promising anticancer agents, Medicinal research reviews, 23(4) (2003) 519-534.
- [45] A. San Feliciano, M. Gordaliza, M.A Salinero, J. del Corral, Abietane acids: sources, biological activities, and therapeutic uses, Planta medica, 59(06) (1993) 485-490.
- [46] E. Ilieva, N. Handjieva, S. Popov, Iridoid glucosides from *Linaria vulgaris*, Phytochemistry 31(3) (1992) 1040-1041.
- [47] R. Chopra, S. Nayar, I. Chopra, New Delhi, Glossary of Indian medicinal plants, 4th reprint, National Institute of Science Communication, New Delhi, (1996).
- [48] A. Bougandoura, B. D'Abrosca, S. Ameddah, M. Scognamiglio, R. Mekkiou, A. Fiorentino, S. Benayache, F. Benayache, Chemical constituents and in vitro anti-inflammatory activity of *Cistanche violacea* Desf. (Orobanchaceae) extract, Fitoterapia, 109 (2016) 248-253.
- [49] N. Cowan, An embedded-processes model of working memory, Mechanisms of active maintenance and executive control, (1999).
- [50] H. Tahri, A. Benatya, C. Chefchaoui, M. El Bakkali, A. Berraho, Eucleations: enquete epidemiologique marocaine. A propos de 183 cas, Bulletin de la Société belge d'ophtalmologie, 292 (2004) 31-36.
- [51] R. Trivers, A. Burt, B. Palestis, B chromosomes and genome size in flowering plants, Genome.47(1) (2004) 1-8.
- [52] B. Lange, T. Rujan, W. Martin, R. Croteau, Isoprenoid biosynthesis: the evolution of two ancient and distinct pathways across genomes, 97(24) (2000) 13172-13177.
- [53] P. Lieutaghi, The helpful plant, Musée d'histoire de Neuchâtel 1991.
- [54] L. Hartwell, Genetic control of the cell division cycle in yeast: IV. Genes controlling bud emergence and cytokinesis, Experimental cell research, 69(2) (1971) 265-276.
- [55] P. Babulka, Les rumex, de l'ethnobotanique à la phytothérapie moderne (Rumex spp.), Phytothérapie, 2 (2004) 153-156.
- [56] J. Zaller, horticulture, Foliar spraying of vermicornpost extracts: effects on fruit quality and indications of late-blight suppression of field-grown tomatoes, Biological agriculture & horticulture, 24(2) (2006) 165-180.
- [57] C. Brühl, J. Zaller, Biodiversity decline as a consequence of an inappropriate environmental risk assessment of pesticides, Frontiers in Environmental Science, (2019) 177.



# **CHPITRE –II–**

## **LES MÉTABOLITES SECONDAIRES**

## II-1 Introduction

Bien que le secteur pharmaceutique ait connu des progrès remarquables, les plantes reviennent à la vie et à nos utilisations. Elles deviennent nécessaires : utilisation de divers produits végétaux (tisanes, phytothérapie, compléments alimentaires, huiles essentielles, etc.).

Les dernières décennies ont vu une grande évolution technologique des appareils de mesures et d'analyses, des recherches phytochimiques d'extraits végétaux et des recherches bioguidées ainsi que des techniques de séparation physicochimiques ce qui a renforcé la pharmacie contemporaine.

Il existe dans les plantes deux catégories de métabolites distinctes :

- Les métabolites primaires qui sont présents dans toutes les cellules : les protéines, les glucides et les lipides.
- Les métabolites secondaires, qui sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante et qui jouent un rôle important dans les relations entre les plantes et leur environnement.

## II.2. Familles des métabolites secondaires

Il existe de nombreuses familles de métabolites secondaires. En fonction de son squelette de base, chaque famille est divisée en sous-familles. Tableau **II.1**.

**Tableau II.1.** Quelques familles de métabolites secondaires.

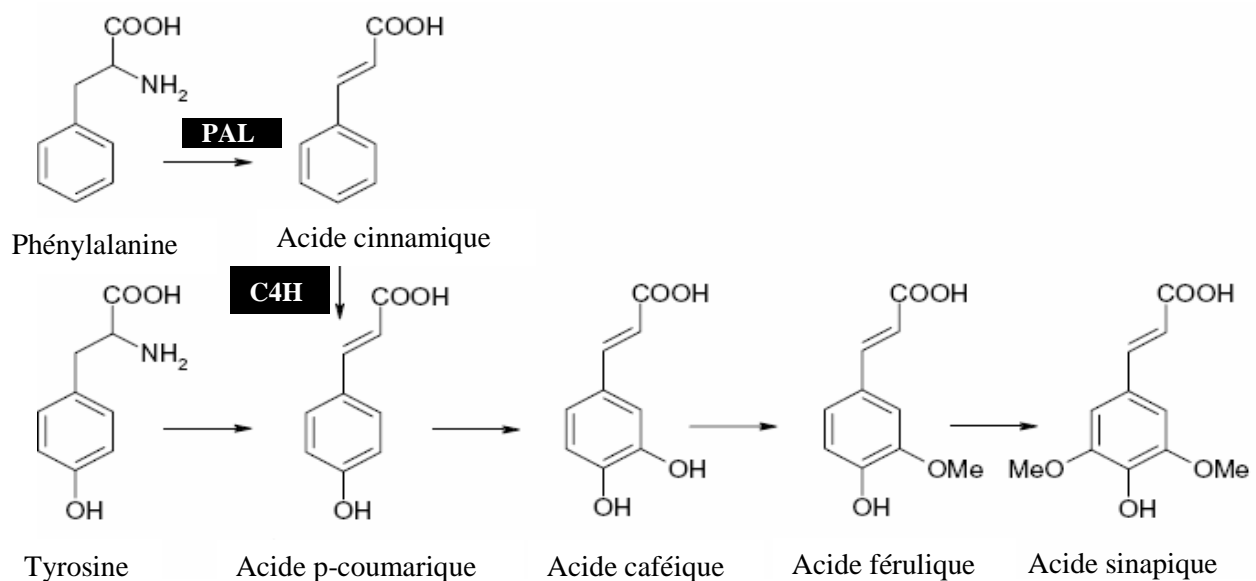
Familles	Sous-familles
<b>Composés phénoliques</b>	Anthroquinones, Coumarines, Tannins , Flavonoïdes.
<b>Terpénoides</b>	Polyterpènes, Sesquiterpènes, Monoterpènes, Triterpènes, Diterpènes.
<b>Composés azotés</b>	Alcaloïdes, Amines, Acides aminés non protéiques.

## II.3. Composés phénolique

Toutes les classes de composés phénoliques ont différents nombres et positions de groupements hydroxyles sur la structure de base. De plus, ces structures peuvent être substituées de diverses manières. [1].

### II.3.1. Biosynthèse

Les composés phénoliques des végétaux sont tous biosynthétiques et dérivés de composés shikimique (**Figure II.1**). La formation d'oses par la voie shikimate entraîne la création d'acides aminés aromatiques tels que la phénylalanine et la tyrosine, tandis que la désamination de ces derniers entraîne la création d'acides cinnamiques et de nombreux dérivés tels que les acides benzoïques, les acétophénonés, les lignanes et les lignines, les coumarines. [2].

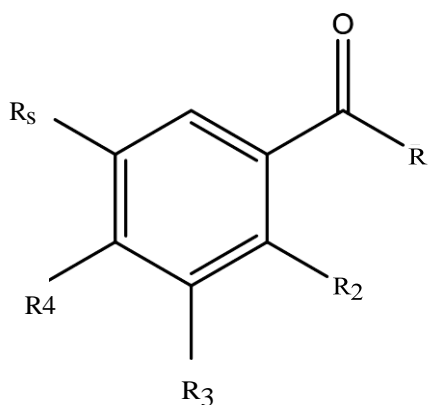


**Figure II.1.** Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate [3]. **PAL** : phénylalanine ammonia-lyase ; **C4H** : cinnamate 4-hydroxylase.

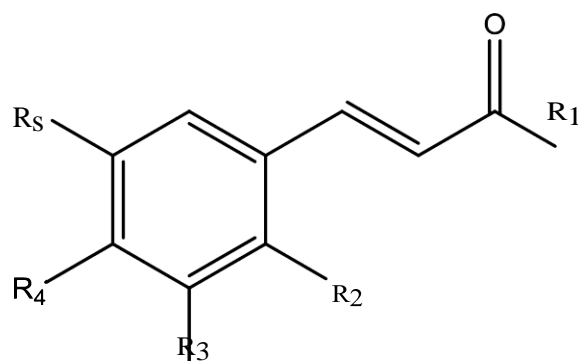
### II.3.2. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont constitués d'un squelette composé de sept et neuf atomes de carbone et sont classés en 2 catégories principales : des dérivés de l'acide benzoïque et des dérivés de l'acide cinnamique.

Les acides protocatéchiques, le vanillique, le gallique, le syringique, le salicilique et le gentsique sont tous constitués d'un seul acide benzoïque de structure en C-Ci (**Figure II.2**). L'acide p-coumarique, qui est créé par la cinnamate-4-hydroxylase à partir d'acide cinnamique, est la source des acides hydroxycinnamiques. Les squelettes sont présents en Ce-Ca [4, 5]. (**Figure II.3**).



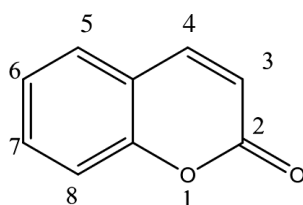
**Figure II.2.** Dérivés de l'acide benzoïque



**Figure II.3.** Dérivés de l'acide cinnamique

### II.3.3. Les Coumarines

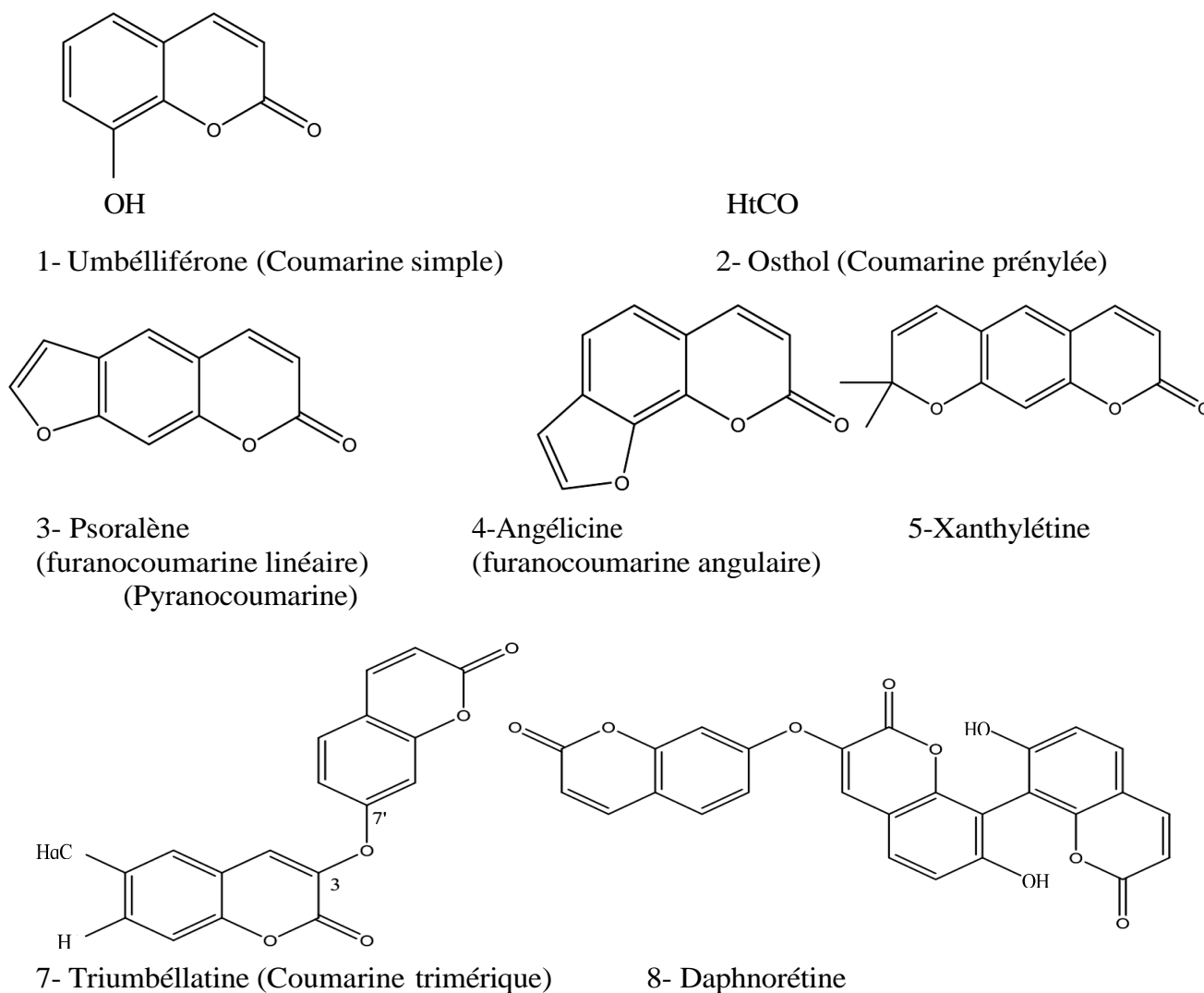
Les 2H-1-benzopyran-2-ones sont des molécules courantes dans toutes les plantes, appelées coumarines. On pense qu'elles sont les lactones. [2,6], (**Figure II.4**).



**Figure II.4.** Coumarine.

#### II.3.3.1. Classification

Une famille de composés se compose de coumarines, qui se une substitution dans un cycle aromatique. Les coumarines sont divisées en six catégories selon la nature des substitutions : les coumarines simples, les furanocoumarines (linéaires et angulaires), les pyranocoumarines, les coumarines dimériques (**Figure II.5**).



**Figure II.5.** Les structures chimiques des différentes catégories de coumarines.

### II.3.3.2. Activités pharmacologiques des coumarines

Les coumarines, comme les flavonoïdes, ont des activités biologiques importantes et variées qui varient selon leur substitution en le cycle benzopyrane. Par exemple, les coumarines ont des activités antifongiques, antitumorales, antiagrégation plaquettaire, inhibitrice de plusieurs enzymes, anti-inflammatoires, antivirales, cytotoxique contre les cellules cancéreuses et sanalgésiques. [7-9].

Les furanocoumarines sont présents dans de nombreux aliments végétaux courants et sont connus pour être rapidement absorbés dans le sang après leur consommation[10]. Certains furocoumarines ont également une forte capacité à proliférer contre diverses lignées de cellules cancéreuses chez l'homme[11].

### II.3.4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, qui sont des composés polyphénoliques, sont présents en quantités significatives dans une grande variété végétale que les gens consomment quotidiennement. Les flavonoïdes sont des substances phénoliques isolées de plus de 8000 plantes vasculaires [12]. (Figure II.6).

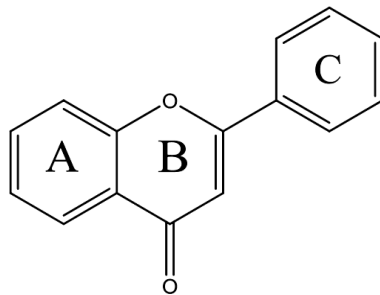


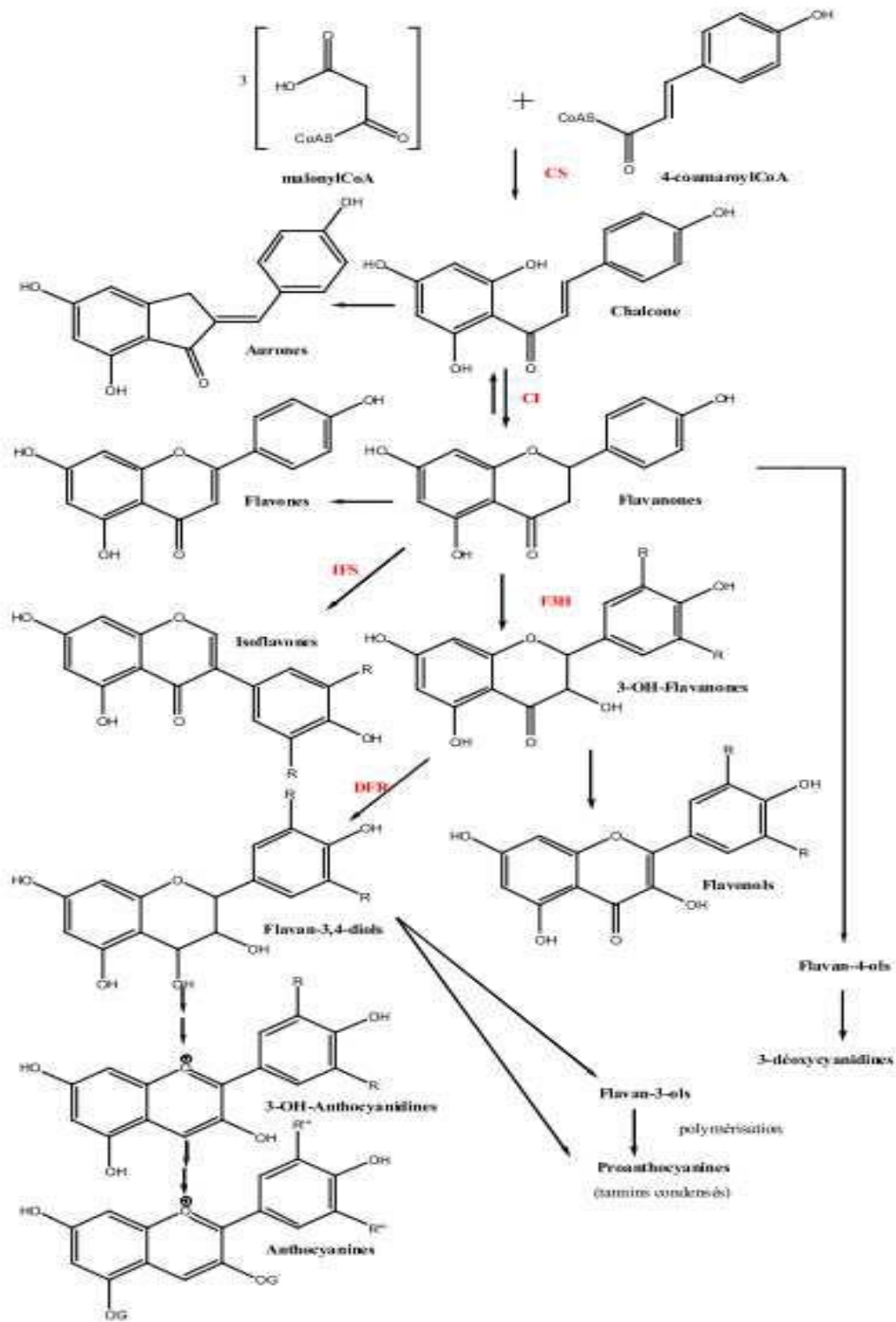
Figure II.6. Noyau flavone.

Ces substances différentes peuvent être trouvées en glycosides. Ils sont couramment présents dans toutes les plantes vasculaires et peuvent être trouvés dans divers organes tels que les racines, les tiges, le bois, les feuilles, les fleurs et les fruits.[2].

Les flavonoïdes appartiennent à plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavanones, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, et les tanins, en raison de leur structure structurale.

#### II.3.4.1. Biosynthèse des flavonoïdes

La condensation de trois molécules de malonyl-COA avec un coenzyme A et d'un acide hydroxycinamique, pour obtenir le 4,2,4',6' -tetrahydroxychalcone [2]. (Figure II.7)



**Figure II.7.** Biosynthèse des flavonoïdes.

CS représente la synthase de chalcone, CI représente l'isomérase de chalcone, F3H représente la 3-hydroxylase de la flavanone, IFS représente la synthase d'isoflavone, DRF représente la réduction de dihydroflavonol, FS représente la synthase de flavonol et AS représente la synthase d'anthocyanin. R est égal à -H, -OH ou -OCH<sub>3</sub>, et OG est égal à -O-sucre [2].

### II.3.4.2. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes existent sous différentes classes et ceci en fonction du degré d'oxydation du noyau pyranique central, qui pourrait être ouvert et recyclé en un motif furanique. Ils se répartissent en plusieurs familles de composés comme le montre la (Figure II.8) [13].

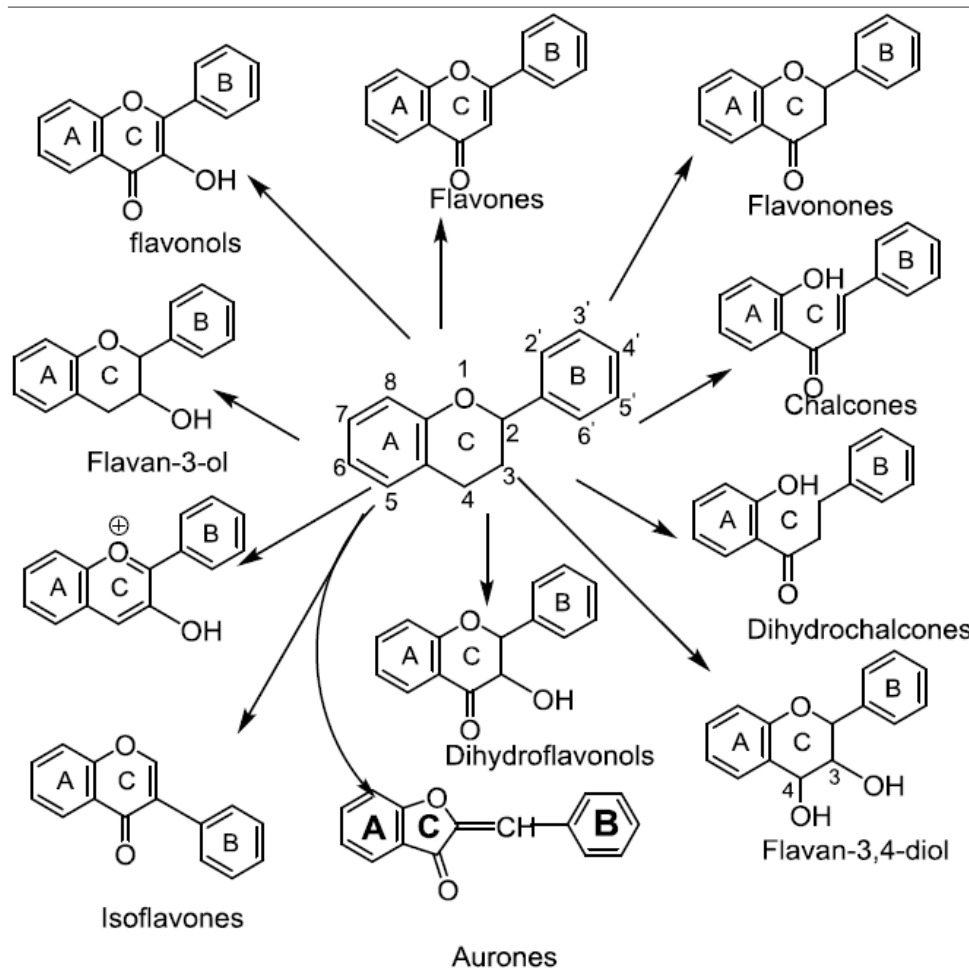


Figure II.8. Les différentes familles des flavonoïdes.

Les « flavonoïdes minoritaires » sont représentés par les chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les flavanones, les dihydroflavonols et les anthocyanidols (structures encadrées dans la Figure II.8 [14,15].

#### ➤ Intérêt des flavonoïdes

L'industrie, l'alimentation, la cosmétologie et la dermatopharmacie bénéficient de nombreux avantages des substances naturelles issues des végétaux. Les flavonoïdes sont nombreux parmi ces substances. Ils ont surtout fait preuve d'efficacité thérapeutique en tant qu'anti-cancérogènes, antiviraux, antioxydants, anti-inflammatoires et anti-tumoraux [16].

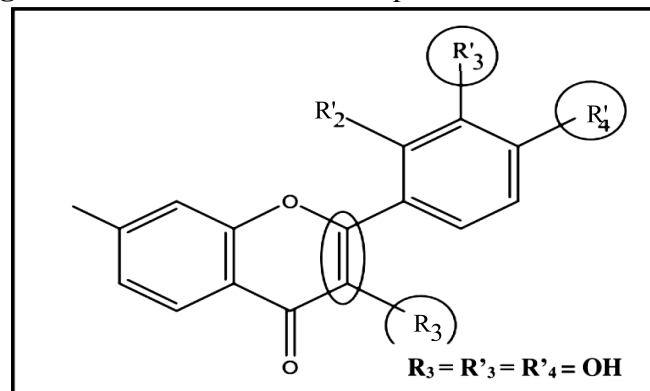


Les plantes produisent des flavonoïdes comme métabolites secondaires pour se protéger d'autres organismes. Les flavonoïdes sont intéressés pour deux raisons principales :

➤ **Rôle biologique et physiologique**

Les sites essentiels de l'activité antioxydante des flavonoïdes sont illustrés à la **Figure II.9**. Les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacité à piéger les radicaux libres sont les éléments clés de leur activité antioxydante [17, 20].

**Figure II.9.** Éléments essentiels pour l'activité antioxydante.



➤ **Rôle thérapeutique**

Nombreuses maladies dégénératives, selon des recherches récentes. En effet, il a été rapporté que les flavonoïdes sont plus efficaces dans leurs fonctions antioxydantes, antitumorales, antivirales, anti-inflammatoires, antiparasitaires, antimicrobiennes et anticancéreuses [21-26].

### II.3.5. Les polyphénols dans les plantes : Localisation et intérêt

Les vacuoles et la paroi sont les deux compartiments à l'échelle de la cellule dans lesquels les composés phénoliques sont principalement répartis [27].

La localisation des polyphénols au niveau tissulaire peut être très distinctive et est liée à leur fonction dans la plante. La distribution des composés au sein des feuilles varie, par exemple, la plupart des flavonoïdes sont présents dans l'épiderme.

Tous les types de composés phénoliques participent aux mécanismes de résistance [29,29].

### **II.3.6. Intérêts thérapeutiques des polyphénols**

La majorité des polyphénols sont des antioxydants très puissants. En effet, ils ont la capacité de capturer les radicaux libres et de provoquer la production d'autres antioxydants dans le corps [30].

#### **II.3.6.1. Polyphénols et cancer**

Les polyphénols ont la capacité de prévenir le cancer, l'une de leurs propriétés biologiques fascinantes. En effet, de nombreuses études in vitro ont démontré que les polyphénols peuvent être utilisés pour prévenir diverses maladies cancéreuses [31,32].

#### **II.3.6.2. Polyphénols et maladies neurodégénératives**

Les maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer représentent un problème croissant lié au vieillissement cérébral car leur prévalence augmente avec l'âge. La neuro-inflammation, le fer et/ou la déplétion des antioxydants endogènes semblent être les causes de ces maladies et d'autres maladies neurodégénératives. De plus, une consommation régulière d'aliments riches en flavonoïdes et/ou de boissons a été liée à une réduction de 50% du risque de démence, à la préservation des performances cognitives avec l'âge, à un retard dans l'apparition de la maladie d'Alzheimer et à une réduction du risque de développer la maladie de Parkinson. Les flavonoïdes protègent le cerveau en protégeant les neurones vulnérables, en augmentant la fonction neuronale existante ou en stimulant la régénération neuronale [33,34].

### **II.4. Huiles essentielles**

Ce sont des produits parfumés volatils extraits de diverses parties de plantes [35, 36], À quelques exceptions près, ont un indice de réfraction élevé et une densité inférieure à celle de l'eau. Ils se dissolvent également dans la plupart des solvants organiques [37].

Les huiles essentielles sont souvent composées d'une combinaison de terpènes, principalement des sesquiterpènes et de monoterpènes, de composés aromatiques et de composés aliphatiques [38]. L'action biologique des huiles essentielles est déterminée par leur composition chimique [39]. Auparavant, les huiles essentielles étaient principalement utilisées à des fins médicinales sur les personnes et les animaux [46]. Les qualités antibactériennes des huiles essentielles ont récemment été utilisées dans le secteur alimentaire pour améliorer la durée de conservation des produits alimentaires. Il est utilisé pour fabriquer des savons, des désinfectants, des antioxydants et d'autres produits connexes dans les industries des parfums et des cosmétiques [40].

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. Fournet, F. Roblot, A. Cavé, P. Richomme, Les chimanines, nouvelles quinoléines substituées en 2, isolées d'une plante bolivienne antiparasitaire : Galipea Longiflora, *Journal of natural products*, 56(9) (1993) 1547-1552.
- [2] P. Bruneton, Geological environment of the Cigar Lake uranium deposit, *Canadian Journal of Earth Sciences*, 30(4) (1993) 653-673.
- [3] G. Batiha, Z. Mulla, M. El-Hack, A. Taha, A. Algammal, Y. Elewa, The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: Quercetin, *Foods* 9(3) (2020) 374.
- [4] R. Yang, J. Mao, X. Wang, Q. Zhang, technology, A review of chemical composition and nutritional properties of minor vegetable oils in China, *Trends in food science & technology* 74 (2018) 26-32.
- [5] K Michaut, G. Roche, L'influence des usages numériques des étudiants sur la réussite universitaire, *Revue internationale de pédagogie de l'enseignement supérieur* 33(33 (1)) (2017).
- [6] J. Huret, J. Cigna, V. Leberre, Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology in 2013, *Nucleic acids research* 41(D1) (2012) D920-D924.
- [7] S. Soussan, S. Sibénil, Implication des lymphocytes B régulateurs dans la susceptibilité aux effets indésirables auto-immuns de l'immunothérapie anti-cancéreuse, *médecine/sciences*, 39(2) (2023) 101-104.
- [8] B. Costa-Silva, N. Aiello, S. Singh, H. Zhang, A. Becker, A. Hoshino, Pancreatic cancer exosomes initiate pre-metastatic niche formation in the liver, *Nature cell biology*. 17(6) (2015) 816-826.
- [9] S. Marumoto, M. Miyazawa, m. chemistry, Structure-activity relationships for naturally occurring coumarins as  $\beta$ -secretase inhibitor, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 20(2) (2012) 784-788.
- [10] K. Kim, H. Noh, S. Koo, O. Chun, Dietary cadmium intake and sources in the US, *Nutrients*, 11(1) (2018) 2.
- [11] C. Le Quéré, R. Andrew, P. Friedlingstein, Canadell, Global carbon budget. *Earth System Science Data Discussions*, 2018, 10(4) (2018) 2141-2194.
- [12] B. Zong, Q. Song, W. Cheng, C. Lumezanu, H. Chen, Deep autoencoding gaussian mixture model for unsupervised anomaly detection, *International conference on learning representations-international conference on learning representations*, 2018.
- [13] A. Khalili, Extraction et effet antibactérien d'extraits polyphénoliques bruts de *Limonium pruinatum*, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, 2005.
- [14] P. Leveau, M. Provansal, La crise environnementale de la fin de l'Antiquité et du Haut Moyen Age : définition d'un modèle et retour aux milieux réels, *ANNALES LITTÉRAIRES-UNIVERSITÉ DE BESANCON, DIALOGUES D'HISTOIRE ANCIENNE*, 2002, pp. 291-304.
- [15] J. Harborne, Advances in chemical ecology, *Natural Product Reports*, 10(4) (1993) 327-348.
- [16] H. Charrier, 7 microARNs pour prédire l'insuffisance cardiaque après un infarctus et

- caractériser les vésicules extracellulaires cardiaques impliquées dans leur transport.(2020).
- [17] D. Wang, Navarro, D. Clarke, M. Gu, P. Emani, Y. Yang, Comprehensive functional genomic resource. and integrative model for the human brain. *Science*, 362(6420) (2018) eaat8464.
- [18] W. Chen, H. Li, X. Zou, J. He, Cancer incidence and mortality in China, *Chinese journal of cancer research*, 2014, 30(1) (2018) 1.
- [19] M. Aaboud, Jet reconstruction and performance using particle flow with the ATLAS Detector, *The European Physical Journal*, 77 (2017) 1-47.
- [20] A. Naeimi, M. Alizadeh, Antioxidant properties of the flavonoid fisetin: An updated assessment of in vivo and in vitro studies, *Trends in food science & technology* 70 (2017) 34-44.
- [21] L. Cabrera, P. Herrasti, Magnetite nanoparticles: electrochemical synthesis and characterization, *Electrochimica Acta* 53(8) (2008) 3436-3441.
- [22] H. Buhaug, Geography, rebel capability, and the duration of civil conflict, *Journal of Conflict Resolution*, 53(4) (2009) 544-569.
- [23] I. Arts, Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies, *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 317S-325S.
- [24] S. Soussan, & S. Sibénil, . (2023). Implication des lymphocytes B régulateurs dans la susceptibilité aux effets indésirables auto-immuns de l'immunothérapie anti-cancéreuse. *médecine/sciences*, 39(2) (2023) 101-104.
- [25] M. Seleem, V.Pardi, . Review of flavonoids: A diverse group of natural compounds with anti-Candida albicans activity in vitro. *Archives of oral biology*, 76 (2017) 76-83.
- [26] P. Papapanou, F. Graziani, . Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri -Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89 (2018) S173-S182.
- [27] M. Dicko, & M., Sangaré. Les systèmes de production animale au Sahel. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 17(1) (2006) 83-97.
- [28] M. Ohayon, S. Smirne, R. Priest, A. Psychiatry, Prevalence and patterns of problematic sleep among older adolescents. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 39(12) (2000) 1549-1556.
- [29] P. Prinzie, P. Onghena, E. Legius, C. Van Lieshout, Personality profiles of children and adolescents with neurofibromatosis type 1, *American Journal of Medical Genetics Part A*, 118(1) (2003) 1-7.
- [30] S. Akroum, D. Bendjeddou, D. Satta, Antibacterial, antioxidant and acute toxicity tests on flavonoids extracted from some medicinal plants. *International Journal of Green Pharmacy*. 4(3) (2010).
- [31] D. Stagos, A. Tsatsakis, C. Toxicology, Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols, *Food and Chemical Toxicology*, 50(6) (2012) 2155-2170.
- [32] I. Walsh, S. Tosatto, Espritz: accurate and fast prediction of protein disorder, *Bioinformatics*, 28(4) (2012) 503-509.

- [33] E. Deer, S. Mulvihill, Phenotype and genotype of pancreatic cancer cell lines, *Pancreas*, 39(4) (2010) 425-435.
- [34] D. Vauzour, J. Spencer, Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action, *Nutrients*, 2(11) (2010) 1106-1131.
- [35] S. Bonnafous, A. Krieg-Planque, Sciences du langage et sciences de l'information et de la communication: entre reconnaissances et ignorances, entre distanciations et appropriations. *Sciences du langage et sciences de l'homme*, Limoges, Lambert-Lucas, 103-119.
- [36] P. Tongnuanchan, Extraction, bioactivities, and food preservation applications of essential oils, *Journal of food science*, 79(7) (2014) R1231-R1249.
- [37] J. Zhang, Behavior & K, Hashimoto. R (-)-ketamine shows greater potency and longer lasting antidepressant effects than S (+)-ketamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 116 (2014) 137-141.
- [38] S. Brown,. Study: Community Based Ecological Mangrove Rehabilitation (CBEMR) in Indonesia. From small (12-33 ha) to medium scales (400 ha) with pathways for adoption at larger scales (> 5000 ha) *SAPIEN. S. Surveys and Perspectives Integrating Environment and Society*, (7.2) (2014).
- [39] L. Jovanka, K. Ljiljana, In vitro antibacterial activity of essential oils from plant family Lamiaceae, *Rom Biotech Lett*, 16(2) (2011) 6034-6041.
- [40] S. Hesham, M. Abd El Ghany, D. Systems, Survey on real-time networks-on-chip, *Transactions on Parallel and Distributed Systems*, 28(5) (2016) 1500-1517.
-

# **CHPITRE –III–**

**LES ANTIOXYDANTS ET LE  
STRESS OXYDANT**

### III.1. Généralités

Un nouveau concept appelé « stress oxydatif » a été introduit dans les sciences biologiques et médicales il y a quelques années. Il s'agit d'une situation dans laquelle les cellules ne peuvent plus contrôler la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, ce qui est considéré comme la cause principale de la majorité des maladies [1].

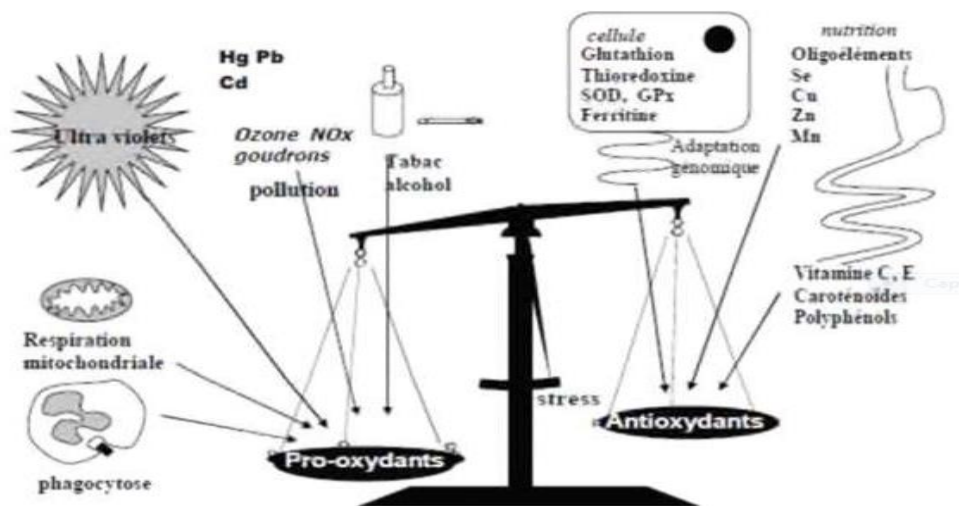
### III.2. Stress oxydatif

L'organisme doit faire face à la présence des antioxydants et des pro-oxydants et les contrôler. A doses raisonnables, ces derniers sont bénéfiques pour l'organisme. Le terme « stress oxydatif » fait référence au déséquilibre entre l'activité des défenses antioxydantes et la production d'oxydants, ce qui pourrait entraîner des dommages oxydants [2].

### III.3. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydatif

En agissant à faibles concentrations, les ROS régulent les réponses biologiques, la transduction du signal et d'autres voies de signalisation [3].

On dit que les oxydants et les antioxydants sont en équilibre. Cependant, une surproduction de radicaux libres (tabac, alcool, pollution, etc.) ou une diminution des capacités antioxydantes peuvent causer un déséquilibre entre la production de radicaux libres et le système de défense dans certaines circonstances [4,5].

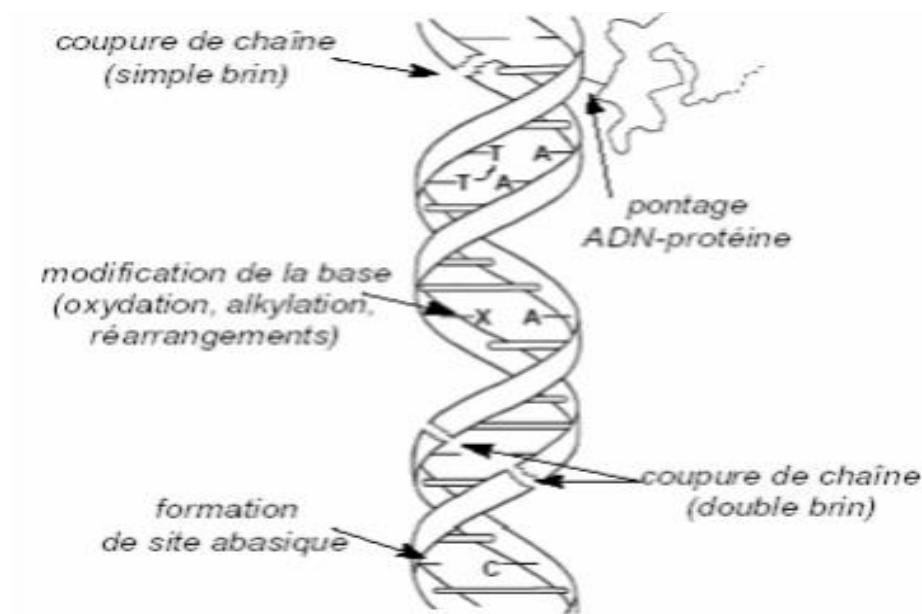


**Figure III.1.** La balance d'équilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants [6].

### III.3.1. Dommages de l'ADN

Bien que l'ADN soit la mémoire de la composition biochimique de tous les organismes vivants, il s'agit d'une molécule extrêmement vulnérable aux dommages causés par les radicaux oxygène [3], et ce de diverses manières (**Figure III.2**) [7]: L'oxydation a la capacité à impacter directement les nucléotides de l'ADN

Si les deux désoxyriboses sont oxydés au même niveau, les chaînes « simple brin » ou « double brin » peuvent être directement attaquées au sucre. Enfin, l'ajout d'un agent oxydant à une base peut modifier sa réactivité et provoquer le pontage des protéines (ou des adduits aldéhydiques) sur les nucléotides.

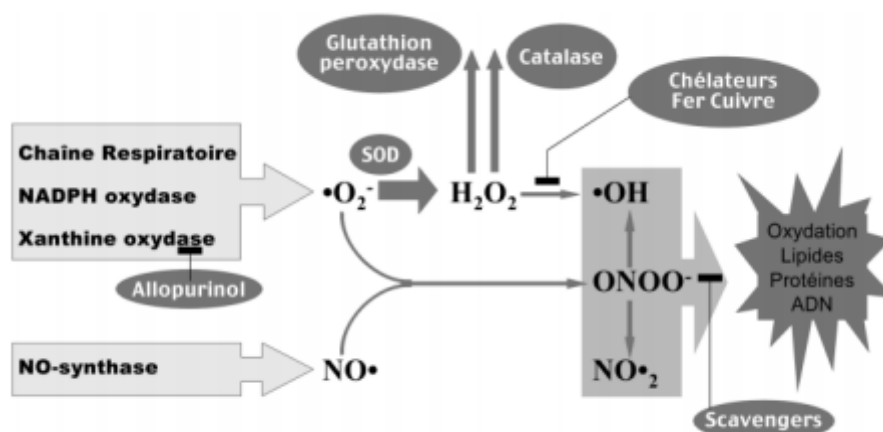


**Figure III.2.** L'attaque radicale du patrimoine génétique des cellules provoque des lésions de l'ADN.

### III.3.2. Mécanismes de défense contre le stress oxydant

Selon les types de radicaux générés ainsi que leurs zones de création et de diffusion (**Figure III.3**). Les antioxydants sont définis comme tout produit chimique capable de retarder ou d'empêcher l'oxydation d'un substrat lorsqu'il est présent à faible concentration par rapport au substrat oxydable. Des enzymes avec des capacités catalytiques spécialisées aux minuscules molécules hydrosolubles ou liposolubles, cette description fonctionnelle comprend un large éventail de composés [8].





**Figure III.3.** Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène

### III.4. Définition d'un radical libre

Les espèces radicalaires vont tenter de rattraper leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron. A des concentrations physiologiques, les RLs jouent des rôles dans la signalisation, la migration et la différenciation cellulaire [9], mais à des concentrations plus élevées, ils induisent la mort cellulaire et l'apoptose [10].

#### III.4.1. Formes des radicaux libres

Ces radicaux primaires réagissent aux composés biochimiques de la cellule pour créer les autres radicaux libres, également appelés radicaux secondaires. Ils appartiennent à deux groupes principaux : les radicaux dérivés de l'oxygène (ROS) ou d'autres atomes comme l'azote (RNS) [11].

#### III.4.2. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Pour que notre corps fonctionne correctement, il a besoin d'énergie. Les nutriments apportés par l'alimentation sont transformés par les cellules en énergie et en eau. Environ 2 % des molécules d'oxygène sont produites par cette transformation [12].

L'oxygène c'est à la base de la création d'espèces réactives d'oxygène, qui sont des dérivés plus réactifs, qui peuvent être dangereux en raison de son caractère oxydant. [13].

### III.4.2.1. Radical superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ )

Un électron peut être capté par une partie univalente et séquentielle de l'oxygène moléculaire d'un organisme, ce qui entraîne la formation d'un anion superoxyde.

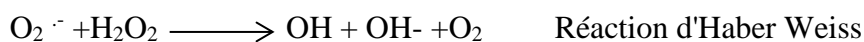
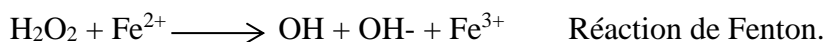
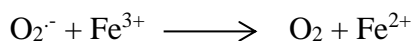
( $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot-}$ ), le chef de file des espèces oxygénées réactives [14].

### III.4.2.2. Peroxyde d'hydrogène

Un grand nombre de déshydrogénases, notamment l'acylCoA déshydrogénase, la NADH déshydrogénase, la xanthine oxydase, l'uricase, la monoamine oxydase, etc., peuvent produire du peroxyde d'hydrogène, qui n'est pas un radical libre [15,16].

### III.4.2.3. Radical hydroxyl

En présence d'ions ferriques, il est principalement produit par l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène dans la réaction d'Haber-Weiss :



Dans les milieux biologiques, Le radical hydroxyle a une grande réactivité et peut se « combiner » avec de nombreuses molécules. Il est capable de réagir avec presque tous les composants cellulaires par échange d'électrons, addition aux doubles liaisons ou arrachement d'un atome d'hydrogène. Par conséquent, le radical hydroxyle, un oxydant très puissant, est probablement le radical libre le plus nocif en biologie et est à l'origine de la production de radicaux libres « secondaires » suite à sa réaction avec divers composés cellulaires[17].

### III.4.2.4. Autres espèces d'oxygène qui sont réactives

Les radicaux libres dérivés d'autres espèces que l'oxygène et les radicaux libres oxygénés sont tous des espèces réactives de l'oxygène par exemple : l'acide hypochloreux, le monoxyde d'azote qui se combine aisément avec le  $O_2^{\cdot-}$  pour former le peroxyde d'azote, agent non radicalaire à la fois oxydant et nitrosant [63, 64].

## III.5. Définition de l'activité Antioxydante

Ce sont des substances qui sont capables de supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydation au stade de l'initiation ou de la propagation et qui protègent l'organisme

de l'oxydation.

### III.5.1. Classification des antioxydants

Les antioxydants sont classés dans deux catégories différentes :

- ❖ Les antioxydants enzymatiques.
- ❖ Les antioxydants non enzymatiques.

#### III.5.1.1. Antioxydants enzymatiques

1. A retiré l'oxygène et les catalyseurs de la formation des espèces réactives.

2. La production d'antioxydants doit être stimulée.

3. Améliore l'efficacité des systèmes d'élimination et de réparation des molécules endommagées.

- Les espèces réactives de l'oxygène sont détruites par trois types d'enzymes antioxydantes.
- L'anion superoxyde est transformé en peroxyde d'hydrogène par les superoxyde dismutases (SOD) [18].
- La catalase est la substance qui permet l'élimination en catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau [19].
- La glutathion peroxydase (GPX), qui utilise le glutathion comme donneur d'hydrogène, décompose également le peroxyde d'hydrogène [20].

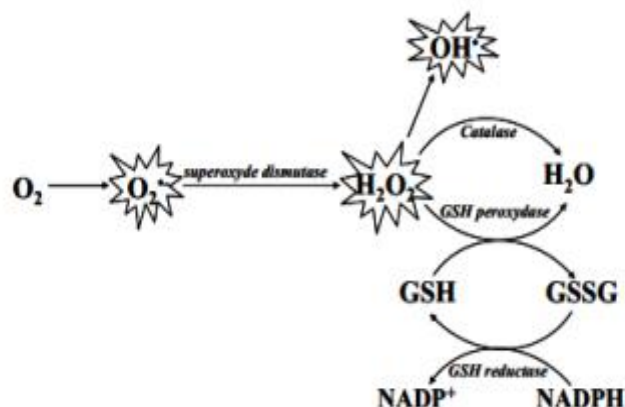


Figure III.4. Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques.

### III.5.1.2. Antioxydants non enzymatiques

Ces antioxydants naturels peuvent protéger contre le stress oxydatif. Ils peuvent agir comme piègeurs de radicaux libres en interagissant directement avec des molécules pro-oxydantes ou en chélatant les métaux de transition, bloquant le processus de Fenton. Ces antioxydants sont plus puissants que les antioxydants enzymatiques. En raison de leur petite taille, ils peuvent facilement pénétrer au centre des cellules et atteindre des cibles biologiques proches. Cette catégorie d'antioxydants couvre une large gamme de composés hydrophiles et lipophiles créés en partie par l'organisme au cours du processus de biosynthèses [21].

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. Favier, Le stress oxydant, L'actualité chimique, 2003, vol. 108, no 10, p. 863-832.
- [2] S. Palazzetti, M. Richard, ... Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage, Canadian journal of applied physiology 28(4) (2003) 588-604.
- [3] S. Le Jan, J. Philippe, M. Sibony, Angiotensin-like 4 is a proangiogenic factor produced during ischemia and in conventional renal cell carcinoma, The American journal of pathology, 162(5) (2003) 1521-1528.
- [4] M. Goudable, Radicaux libres oxygénés et antioxydants, Nutrition clinique et métabolisme, 11(2) (1997) 115-120.
- [5] L. Dow, J. Caddy. The tumour-suppressor Scribble dictates cell polarity during directed epithelial migration: regulation of Rho GTPase recruitment to the leading edge. Oncogene, 26(16) (2007) 2272-2282.
- [6] H. Peinado, A. Cano, Snail, actors in tumour progression: an alliance against the epithelial phenotype? Nature reviews cancer, 7(6) (2007) 415-428.
- [7] R. Marimon, J. Guarro, Sporothrix brasiliensis, S. globosa, and S. mexicana, three new Sporothrix species of clinical interest. Journal of clinical microbiology, 45(10) (2007) 3198-3206.
- [8] J. Hobart, K Thompson, Rating scales as outcome measures for clinical trials in neurology: problems, solutions, and recommendations. The Lancet Neurology, 6(12) (2007) 1094-1105.
- [9] C. Burek, Autoimmune thyroiditis and ROS. Autoimmunity reviews, 7(7) (2008) 530-537.
- [10] M. Gardès-Albert, Z. Abedinzadeh, Espèces réactives de l'oxygène. L'actualité chimique, 2003, p. 91.
- [11] S. Weniger, Étude du spectre de la molécule d'oxygène ionisée dans le proche infrarouge. Journal de Physique et le Radium, 1962, vol. 23, no 4, p. 225-237.
- [12] I. Fridovich, Superoxide radical and superoxide dismutases. Annual review of biochemistry, 64(1), 97-112.
- [13] P. Giguère, E. Secco, Étude spectroscopique d'un isomère du peroxyde d'hydrogène. Journal de Physique et le Radium, 15(6), 508-510.

- [14] S. Qourzal, Influence de certains ions inorganiques, de l'éthanol et du peroxyde d'hydrogène sur la photominéralisation du  $\beta$ -naphthol en présence de TiO<sub>2</sub>. *Comptes Rendus Chimie*, 10(12) (2007) 1187-1194.
- [15] A. Fleuriet, C. Uhel, Les composés phénoliques et la qualité des produits d'origine végétale consommés par l'homme. *Acta botanica gallica*, 143(6) (1996) 493-500.
- [16] T. Han, Etudes de la fonction de la frataxine: relations avec l'homéostasie métallique et le stress oxydant (Doctoral dissertation, Sorbonne Paris Cité). 2016.
- [17] P. Massion, Impact of harsh environmental conditions on nodule formation and dinitrogen fixation of legumes." *Advances in biology and ecology of nitrogen fixation* 9 (2014): 1 16(4).
- [18] E. Nozik-Grayck, H. Suliman, C. Piantadosi, Extracellular superoxide dismutase. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 37(12), 2466-2471
- [19] I. Nicole, Utilisation du rayonnement ultraviolet dans le traitement des eaux : mesure du flux photonique par actinometrie chimique au peroxyde d'hydrogene. *Water Research* 24(2) (1990) 157-168.
- [20] C. Santi, Selenium containing compounds from poison to drug candidates: a review on the GPx-like activity. *Current Chemical Biology*, 7(1) (2013) 25-36.
- [21] J. Neve, Antioxydants alimentaires : vitamines, oligoéléments et non-nutriments. *Aliments fonctionnels. Paris: Lavoisier*, (2008) 203-41.
-

# **CHPITRE –IV–**

LES MÉTHODES  
D'EXTRACTION

## **IV.1. Introduction**

L'extraction est nécessaire pour identifier et utiliser les composés phénoliques [1]. Cette étape très complexe est généralement influencée par la taille des particules de l'échantillon, le processus d'extraction, le temps d'extraction, les conditions de stockage et la présence de composés qui peuvent interférer[2].

L'obtention d'un rendement élevé est parfois difficile, et pour éviter la dégradation, des précautions doivent être prises pendant la manipulation [3,4].

## **IV.2. Méthodes d'extractions traditionnelles**

L'extraction est la séparation des éléments actifs des tissus végétaux des éléments inactifs ou inertes à l'aide d'un certain nombre de solvants, généralement de l'eau ou des huiles végétales. Les produits sont assez impurs et se présentent sous forme de poudres, de liquides ou de semi-solides. Des exemples de ces préparations sont les tisanes et les huiles thérapeutiques [5].

### **IV.2.1. Infusion**

C'est le type de préparation le plus basique ; il est fabriqué en versant de l'eau bouillante sur des morceaux de plantes séchées et en les trempant soigneusement pour en extraire les ingrédients thérapeutiques. Il est utile pour extraire des éléments volatils ou thermolabiles tels que les huiles essentielles de parties de plantes fragiles ou finement hachées telles que les feuilles, les fleurs, les graines [6].

### **IV.2.2. Décoction**

Il convient à l'extraction de matières végétales dures ou très dures telles que le bois, l'écorce, les racines ou les plantes avec des composants peu solubles (par exemple l'acide silicique). Pour bien extraire les ingrédients thérapeutiques, les plantes fraîches ou séchées sont bouillies dans l'eau pendant 10 à 30 minutes [6].

### **IV.2.3. Macération**

La macération est le processus de laisser un solide séjourner dans un liquide, comme de l'eau, des alcools ou des mélanges [7].

### **IV.3. Extraction à l'aide d'un soxhlet**

Une alternative à la méthode traditionnelle d'extraction solide-liquide est l'extraction au soxhlet [8]. Cette méthode est appréciée car elle permet de gagner du temps de manipulation et de faire des extractions en continu. De plus, pour une même efficacité d'extraction, nettement moins de solvant que la méthode de macération successive. Cependant, la dégradation thermique des substances cibles peut être causée par des manipulations séquentielles, des temps d'extraction prolongés et des températures d'ébullition des solvants [9].

### **IV.4. Extraction liquide-liquide**

La méthode d'extraction liquide-liquide repose sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases non miscibles. Les composés phénoliques sont extraits à l'aide de solvants tels que le méthanol, l'éthanol et leurs combinaisons. L'extraction se fait généralement à température 25 pour éviter la dégradation [10].

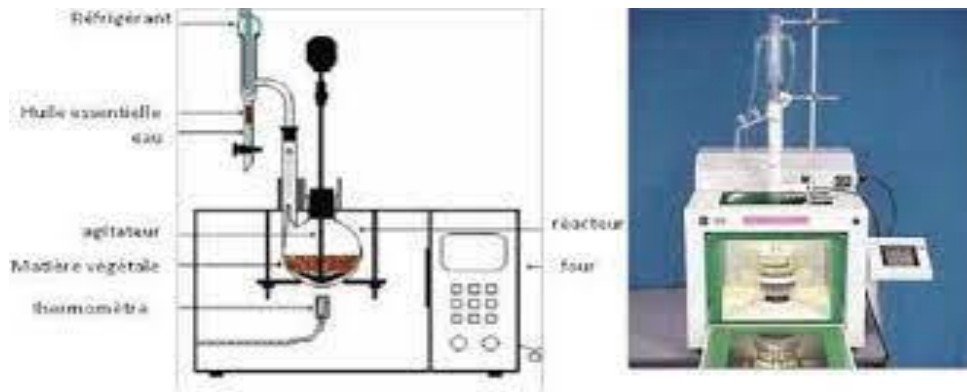
### **IV.5. Méthodes d'extractions modernes**

#### **IV.5.1. Extraction assistée par micro-ondes**

Une méthode intéressante pour extraire les composés phénoliques de la matière végétale est l'extraction assistée par micro-ondes.

Lors de l'utilisation des micro-ondes, cette méthode permet une réduction du temps d'extraction. La différence de performance entre le micro-ondes et les méthodes de chauffage traditionnelles est la principale cause de cela. Tandis que la solution est chauffée directement par des micro-ondes., le chauffage traditionnel prend temps nécessaire pour chauffer le récipient avant de devenir chaud ne soit transférée à la solution[11]. L'eau absorbe les micro-ondes dans la matière végétale et les transforme en chaleur. La température du matériau augmente soudainement [8]. De plus, l'extraction assistée par micro-onde réduit considérablement la quantité de solvants organiques utilisés [11].



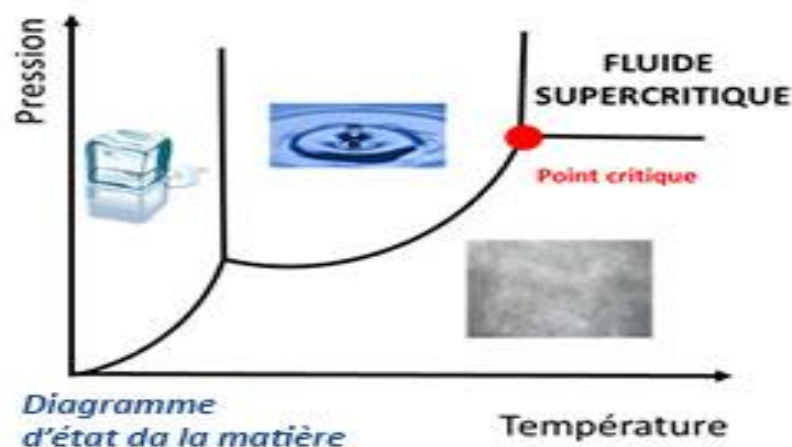


**Figure IV.1.** Appareil d'extraction assistée par micro-ondes.

#### IV.5.2. Extraction effectuée à l'aide d'un fluide supercritique

Une alternative aux extractions biologiques traditionnelles utilisant des solvants organiques est l'extraction par fluide supercritique. La combinaison des propriétés gazeuses et liquides pendant le processus d'extraction est l'avantage principal de cette méthode. La capacité élevée de diffusion des fluides supercritiques permet aux composés phénoliques liés aux parois cellulaires d'accéder au solvant [8].

Les solvants organiques sont de plus en plus remplacés par les fluides supercritiques comme les hydrocarbures comme l'hexane, le pentane et le butane, le protoxyde d'azote, l'hexafluorure de soufre et les hydrocarbures fluorés. Cependant, en raison de ses effets positifs sur l'environnement, de sa faible toxicité et de son inflammabilité, le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) est le plus utilisé. De plus, il a peu de conditions critiques, peut être facilement séparé des solutés et est peu coûteux.[12]. (Figure IV.2)

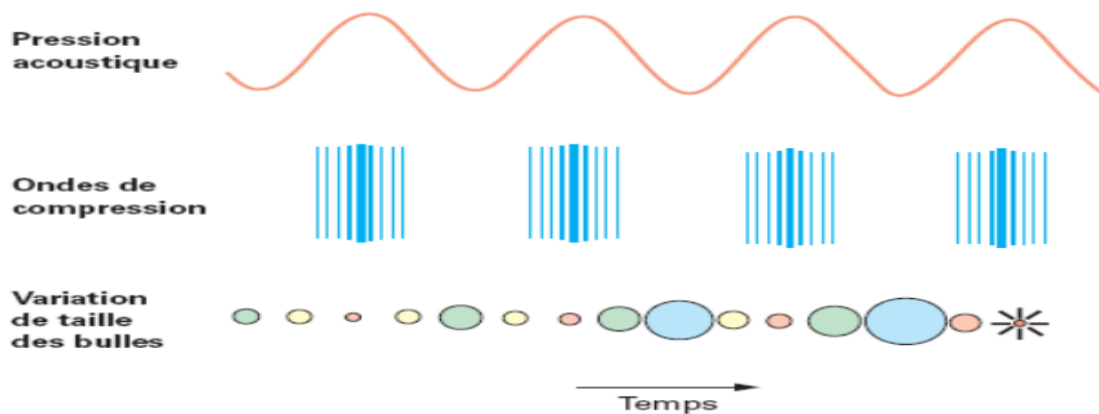


**Figure IV.2.** Diagramme de phase du supercritique.

### IV.5.3 Extraction assistée par ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons implique le traitement d'un solide en contact avec le solvant à l'aide d'irradiations ultrasoniques. Les ultrasons pénètrent dans la matière végétale par effet mécanique. Ils ont la capacité à travers la perturbation des parois cellulaires de la plante, ce qui facilite la libération de contenu [13].

Par rapport à une méthode d'extraction traditionnelle, Cette méthode est simple, efficace et peu coûteuse, et elle augmente le rendement d'extraction tout en accélérant la cinétique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses tout en évitant la thermolyse des matériaux. La mise en œuvre est simple. L'extraction assistée par ultrasons, comme le soxhlet, permet l'utilisation d'une variété de solvants pour obtenir divers composés naturels. Cependant, la nature de la matrice végétale détermine l'impact de la cinétique et du rendement de l'extraction par ultrasons. Les zones actives de l'extracteur sont toujours proches de l'émetteur d'ultrasons en raison de la présence d'une phase dispersée (**Figure VI.3**).



**Figure IV.3.** Représentation schématique du phénomène de cavitation acoustique.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] B. Herquel, K. Ouararhni, K. Khetchoumian, M. Mark, G. Béchade, A. Van Dorsselaer, cofactors TRIM24, TRIM28, associate to form regulatory complexes that suppress murine hepatocellular carcinoma, *Aliments fonctionnels*. Paris: Lavoisier 108(20) (2011) 8212-8217.
- [2] T. Madhujith, F. Shahidi, Antioxidant activity of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.), *Journal of Food Lipids*, 11(3) (2004) 220-233.
- [3] S. McDonald, P. Prenzler, M. Antolovich, Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food chemistry* 73(1) (2001) 73-84.
- [4] G. De Palma. P. Iovino, C. Catanzano, Unilateral versus bilateral endoscopic hepatic duct drainage in patients with malignant hilar biliary obstruction: results of a prospective, randomized, and controlled study. *Gastrointestinal endoscopy*, 53(6) (2001) 547-553.
- [5] C. Foradori, M. Weiser, R. Handa, Non-genomic actions of androgens, *Frontiers in neuroendocrinology* 29(2) (2008) 169-181.
- [6] K. Kraft, *Pocket guide to herbal medicine*, Georg Verlag 2004.
- [7] I. Ignat, V. Popa, Methods for characterizing polyphenolic chemicals in fruits and vegetables are being reviewed., *Food chemistry* 126(4) (2011) 1821-1835.
- [8] L. Wang, Technology, Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science* 17(6) (2006) 300-312.
- [9] M. De Castro, Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica chimica acta* 369(1-2) (1998) 1-10.
- [10] A. Morales-Soto, High-performance liquid chromatography coupled to diode array and electrospray time-of-flight mass spectrometry detectors for a comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in three pepper (*Capsicum annum* L.) samples. *Food Research International*, 51(2) (2013) 977-984.
- [11] C. Eskilsson, Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of chromatography A*, 902(1) (2000) 227-250.
- [12] E. Reverchon, I. De Marco, Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *The Journal of Supercritical Fluids* 38 (2) (2006) 146-166.
- [13] M. Esclapez, Ultrasound-assisted extraction of natural products. *Food Engineering Reviews*, 3 (2011) 108-120.
-

# **DEUXIÈME PARTIE**

PARTIE

**EXPÉRIMENTALE**

# **CHPITRE –V–**

**ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE  
ET BIOLOGIQUES**

## V.1. Étude biologique et phytochimique de l'espèce *Calendula. suffruticosa. boiserie*

### V.1.1. Choix des plantes

Notre choix dans cette étude a été influencé par divers critères, tels que :

Les résultats de la recherche phytochimiques effectuées sur d'autres espèces du même type, en particulier leur abondance en métabolites secondaires tels que les furanocoumarines, les polyacétyléniques et les flavonoïdes [1, 2].

- Les plantes de cette famille possèdent des propriétés biologiques telles que des antidiabétiques, des antioxydants, des antimicrobienne, des antifongiques, des antivirales, des anti-HIV, des antitumorales et des cytotoxiques [2].

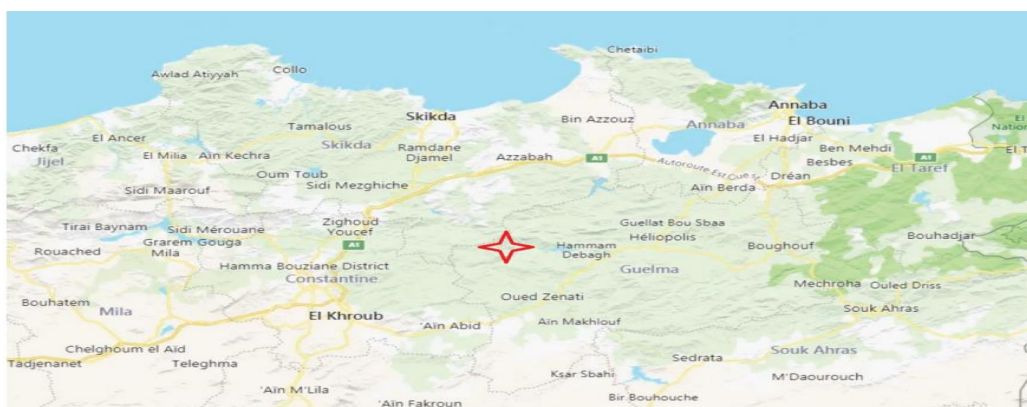
### V.1.2. Etude bibliographique

Aucune recherche phytochimique ou biologique n'a été menée sur cette espèce, selon la synthèse de la bibliographie.

### V.1.3. Protocole Expérimental

#### V.1.3.1. Récolte du matériel végétal

Annaba, Algérie : Les spécimens sont renvoyés à l'herbier de rium de Gérard DE BELAIR, numéro de plaque-ber (n°111\_13 et 117\_04), en mai 2021. Le nom de la plante a été confirmé par le professeur Tarek HAMEL,



Carte V.1. Situation géographique de la zone de récolte des plantes étudiées.

### V.1.3.2. Extraction

#### ➤ Pour les parties de la plante : fleurs, feuilles, racines :

Nous utilisons deux solvants de polarités différentes (méthanol-eau 70% et éthanol-eau 70%) à une température de 25°C, et ceci pour les deux méthodes : la macération et l'extraction par ondes de sonication, où le rapport de solvant au matériau est de 1/10 (p/v). Le temps d'extraction était de 30 minutes aux ultrasons et de 24 heures sous agitation magnétique. Ensuite, les extraits sont filtrés à travers un papier filtre, puis concentrés sous vide sur un évaporateur rotatif et stockés à -4 ° C pour des utilisations ultérieures.

#### ➤ Préparation de l'Huile Essentielle de *C. suffruticosa boissieri* :

(250 g) de parties aériennes de *C. suffruticosa boissieri* ont été distillé pendant 2 heures dans un appareil de type Clevenger.

## V.2. Étude phytochimique et biologique de l'espèce *Linaria pinifolia* (Poir.)

### V.2.1. Choix du matériel végétal

Le choix de *Linaria pinifolia* est basé sur les critères suivants :

- ❖ Le genre *Linaria* est bien répandu en Algérie (39 espèces [3]), dont plusieurs espèces sont distribuées à l'East Algérien.
- ❖ Dans la médecine folklorique, *L. cymbalaria* est utilisée comme remède populaire pour les effets laxatif, tonique, antiscorbutique et diurétique [4,5].
- ❖ Sa richesse en métabolites secondaires de type terpène et surtout iridoïde [5].

## V.3. Étude phytochimique et biologique de l'espèce *Rumex aristidis* Coss.

### V.3.1. Place dans la systématique

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Caryophyllidae

Ordre : Polygonales

Famille : *Polygonaceae*

Genre : *Rumex*

Genre Espèce : *Rumex aristidis*

### **V.3.2. Choix du matériel végétal**

Les activités antioxydantes et antimicrobiennes de *R. vesicarius* ont ensuite été examinées [6]. La richesse de *R. vesicarius* en pyrogallol, une teneur modérée en pyrocatéchine et une faible teneur en acide p-hydroxybenzoïque ; en acide férulique et en acide syringique sont tous des composés phénoliques analysés par CLHP. L'extrait d'acétate d'éthyle a démontré une activité antibactérienne efficace contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Streptococcus faecalis*, [1]. A la lecture de ces travaux, la plante *Rumex aristidis* Coss semble être un excellent sujet d'études phytochimiques et pharmacologiques.

### **V.3.3. Etude bibliographique**

Aucune recherche phytochimique ou biologique n'a été menée sur cette espèce, selon la synthèse de la bibliographie.

### **V.3.4. Récolte du matériel végétal**

Lac Sidi Freitis;Guerbes, Algérie: (GPS: 36°54'47.08"N; 7°17'25.52"E). Les spécimens sont renvoyés à l'herbier de rium de Gérard DE BELAIR, acro-nym : Herbar GdB <https://gdebelair.com/> ; numéro de plaque-ber (n°111\_13 et 117\_04), en mai 2021. Le nom de la plante a été confirmé par le professeur Tarek HAMEL.

Les extraits ont été obtenus à partir de 10 g de poudre de chaque partie de la plante avec des solvants de polarités différentes (70% méthanol-eau et 70% éthanol-eau) par la méthode assistée par ultrasons, où le rapport du solvant au matériau était de 1/10 (w/v), et le temps d'extraction était de 30 min. Utilisant un seul évaporateur rotatif, les extraits ont été filtrés. Après élimination des solvants, des extraits et Les huiles ont été conservées à 4 °C jusqu'à l'analyse.

### **V.4. Criblage phytochimique**

C'est l'ensemble de techniques qui permettent de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains composés actifs contenus dans l'organe végétal cible.

Les essais phytochimiques ont été réalisés selon les techniques classiques décrites par J. B. HARBORNE [7]. Les groupes phytochimiques majeurs qui ont été déterminés



sont les suivants : Les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tannins, saponines, stérols et les terpènes.

Les différents protocoles sont décrits ci-dessous :

#### **V.4.1. Test des Alcaloïdes**

Le test est réalisé par une réaction de précipitation avec le réactif de Mayer. Nous avons procédé à une macération sous agitation pendant 2h de 2 g de la poudre végétale dans 40 ml de HCl dilué à 1%, Ce mélange est ensuite filtré. L'apparition d'une turbidité ou d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes.

#### **V.4.2. Test des Flavonoïdes**

Acérer 2g poudre pulvérisée de la matière végétale dans 40ml de HCl dilué 1% pendant 24h. Après avoir filtré le mélange, prendre 2 ml du filtrat, le rendre basique par l'ajout  $\text{NH}_4\text{OH}$ . L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieur du tube indique la présence des flavonoïdes.

#### **V.4.3. Test des Tanins**

La présence des tanins est mise en évidence en prenant 2g de poudre végétal, les macérer dans 20 ml d'une solution hydro-alcoolique chaude de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  à 1% pendant 2 heures, le mélange est filtré sur papier filtre puis tester avec quelques gouttes d'une solution à 2% de  $\text{FeCl}_3$  (2g  $\text{FeCl}_3$  dans 100ml de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ). Une coloration verdâtre (tanins cathéchiques) ou bleu-noir (tanins galliques) se développe en présence de tanins.

#### **V.4.4. Test des Saponines**

Le test de la mousse consiste à placer 2 grammes de matériau végétal dans une fiole contenant 50 millilitres d'eau tiède, à laisser bouillir pendant 5 minutes, puis à filtrer le mélange et à le laisser refroidir. Un tube à essais contient quelques millilitres du filtrat. La solution est fortement agitée pendant environ 30 secondes et on laisse reposer quelques secondes. La présence de saponines est indiquée par l'apparition d'une mousse qui dure quelques secondes.

#### **V.4.5. Test des Stérols et des terpènes**

Pendant 24 heures, 1 gramme de drogue sèche est macérée dans un flacon bouché avec 20 millilitres d'éther de pétrole ou de toluène. Après filtration et évaporation, le

résidu est dissous dans l'anhydride acétique et 0,5 ml de  $\text{CHCl}_3$ . En présence de produits stéroliques ou terpéniques, l'addition d'une goutte de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pur développe un cercle violet ou marron, puis il devient gris.

#### **V.4.6. Test des Lipides**

On met 50 ml d'hexane avec 3g de poudre. On laisse le mélange au repos pendant 24 heures. Après filtration, Le solvant est évaporé sous pression réduite à  $40^\circ\text{C}$ . L'extrait obtenu est un extrait lipidique brut (huile).

### **V.5. Détermination de la teneur en composés phénoliques**

Évaluation des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux.

#### **V.5.1. Dosage des polyphénols totaux**

La teneur en composés phénoliques totaux des extraits hydrométhanolique et hydroéthanolique est estimée selon la méthode de Folin-Ciocalteu [8, 9].

Introduire dans une micro plaque,  $50\mu\text{l}$  d'extrait puis  $100\mu\text{l}$  de réactif de Folin (qui est un mélange d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique) et  $100\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}$  distillée sont ajoutés. Après agitation et repos pendant 2 minutes, on ajoute  $25\mu\text{l}$  de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). La micro plaque est placée dans l'obscurité et maintenu à la température de  $25^\circ\text{C}$  pendant une demi-heure. L'absorbance est mesurée à  $725\text{ nm}$ .

#### **V.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux**

La méthode du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) a été utilisée pour déterminer la teneur totale en flavonoïdes des extraits : hydrométhanolique et hydroéthanolique.[10]

Pour déterminer la quantité de flavonoïdes présents dans nos extraits,  $10\mu\text{l}$  de chaque extrait et mélangé à un volume égal d'une solution de  $\text{AlCl}_3$ . Après 10 minutes d'incubation, le mélange est vigoureusement agité et l'absorbance est mesurée à  $430\text{ nm}$ .

La quercétine est utilisée pour créer une courbe d'étalonnage

#### **V.5.3. Détermination des flavonols totaux**

Les contenus de TFlaCs ont été évalués selon la méthode rapportée par Kumaran et Karunakaran(2007) [11] et décrit par Arshad Mehmooda [12].

2 ml de chaque extrait ou d'étalon ont été mélangés avec un volume égal d' $\text{AlCl}_3$  et 3 ml d'acétate de sodium (50 g/L). Après 2 heures et 30 minutes d'incubation à 20°C, l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 440 nm. Les résultats évalués à l'aide de l'équation de régression de la quercétine sont exprimés en  $\mu\text{g}$  de QE / mg d'extrait.

## **V.6. Etude des activités biologiques des espèces étudiées**

### **V.6.1. Etude des activités anti-oxydantes**

Les antioxydants sont nécessaires pour conserver les corps gras dans les industries cosmétiques et agroalimentaires. Les radicaux libres sont un type d'intermédiaires à courte durée de vie qui doivent être neutralisés lors de l'oxydation d'un corps gras, qu'il soit dans une membrane biologique ou en contact avec l'oxygène de l'air. Pour cette raison, les substances antioxydantes sont souvent anti-radicalaires [13].

De par les dommages infligés à nos cellules, ces différents mécanismes semblent avoir un impact significatif sur les processus de vieillissement et provoquer des maladies comme les cancers et les troubles neuro-dégénératifs. Ainsi, l'apport d'antioxydants exogènes pourrait ralentir, voire prévenir, ces perturbations physiologiques [14].

### **V.6.2. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante**

- L'activité antioxydante peut être évaluée in vitro à l'aide d'une variété de méthodes, telles que :
  - les peroxydes  $\text{ROO}\cdot$  (ORAC) [11].
  - les ions ferriques (FRAP) [15].
  - les radicaux  $\text{ABTS}^{\cdot}$  [16].
  - la méthode utilisant le radical libre  $\text{DPPH}^{\cdot}$  [14].

### V.6.2.1. Piégeage du radical DPPH

La méthode décrite par Blois est utilisée pour déterminer l'activité antiradicalaire au DPPH [17]. Les antioxydants dans ce test transforment le diphenyl-picrylhydrazyl violet en un composé jaune (Figure V.1) [18].

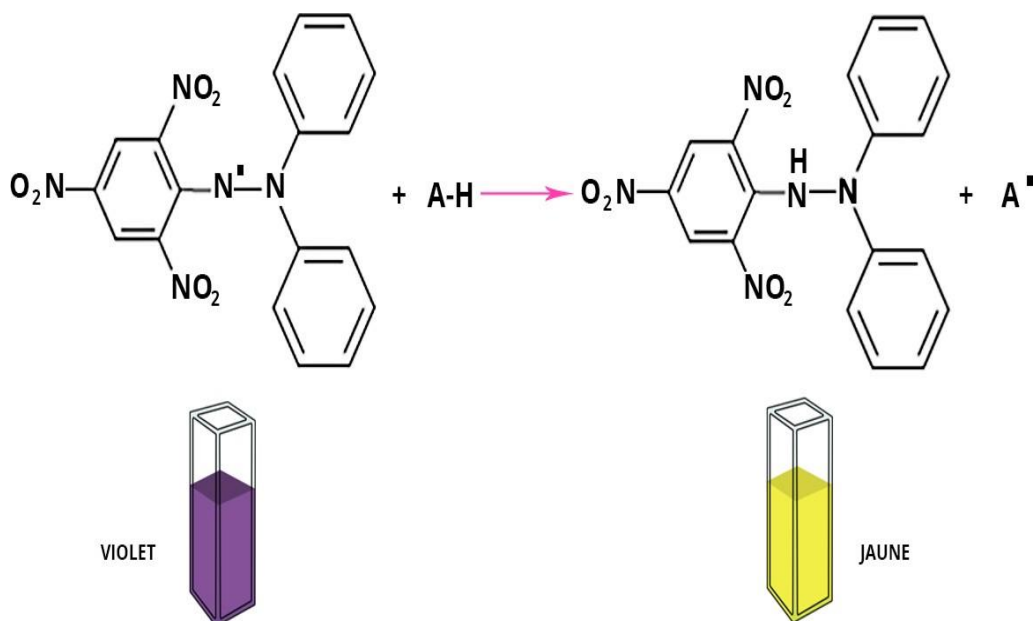


Figure V.1. Mécanisme d'action de DPPH.

Une solution de (160  $\mu$ l) de DPPH• a été brièvement mélangée avec (40  $\mu$ l) de différentes concentrations d'extrait sur une microplaque à 96. Pendant 30 minutes, le mélange a été conservé à une température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance était de 517 nm. L' $\alpha$ -tocophérol, le BHA et le BHT ont été utilisés comme normes.

Et pour calculer le pourcentage d'inhibition :

$$\text{inhibition} = \frac{A(\text{control}) - A(\text{extrait})}{A(\text{control})} \times 100$$



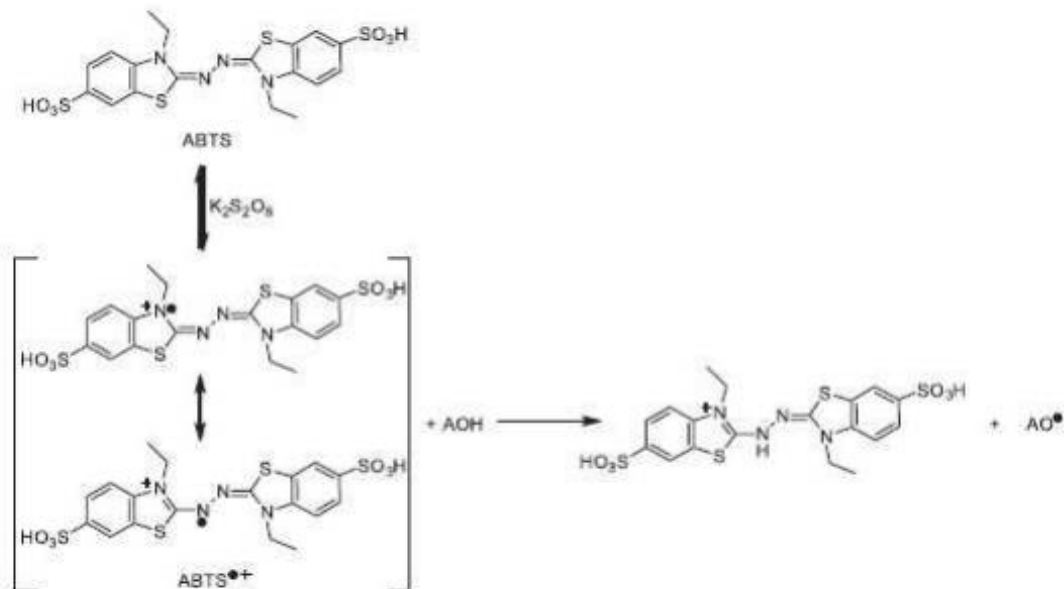
Figure V.2. Processus de remplissage de l'échantillon sur la plaque

### V.6.2.2. Piégeage du radical ABTS

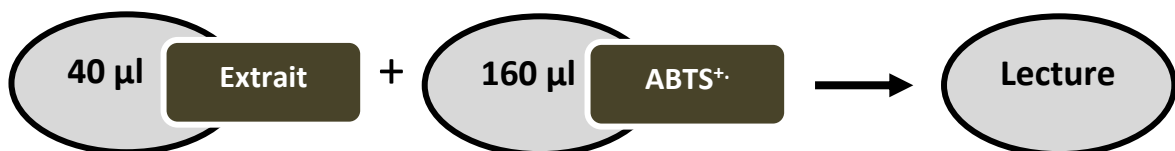
La méthode Re a été utilisée pour déterminer le processus de piégeage du radical ABTS [16]. (**Figure V.3**). Un volume de 160  $\mu\text{l}$  d'ABTS  $^{+\bullet}$  a été ajouté à 40  $\mu\text{l}$  de différentes concentrations d'extrait sur une microplaque à 96 puits. Pendant dix minutes, le mélange a été conservé à la température ambiante. 734 nm a été la mesure de l'absorbance. Les normes étaient leBHT , le BHA et l' $\alpha$ -tocophérol.

La formule suivante a été utilisée pour calculer le pourcentage :

$$\% \text{ inhibition} = \frac{A(\text{control}) - A(\text{extrait})}{A(\text{control})} \times 100$$



**Figure V.3.** Formation et piégeage du radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  par un antioxydant donneur de  $\text{H}^+$ .



**Figure V.4.** Le processus de remplissage de chaque échantillon sur la plaque

### V.6.2.3. Le CUPRAC ou l'activité de réduction du complexe Cu<sup>+2</sup>-Neocuproïne

La méthode d'Apak a été utilisée pour déterminer l'activité CUPRAC [19]. (Figure V.5).

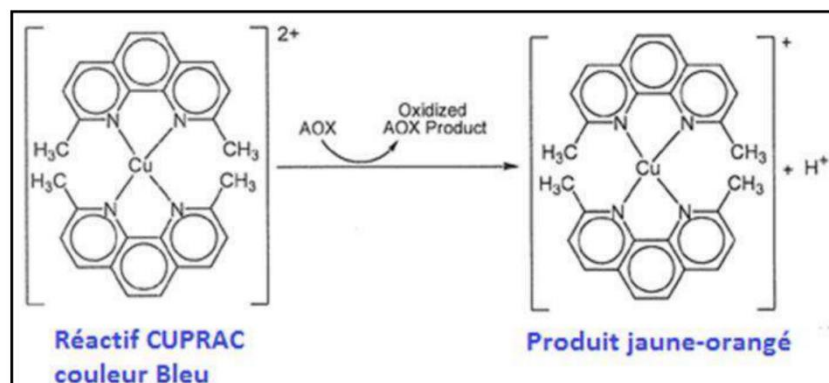


Figure V.5. Mécanisme d'action du CUPRAC.

Un mélange de (60 µl) d'acétate d'ammonium, 50 µl de chlorure de cuivre, 50µl de néocuproïne et 40µl d'extrait en différentes concentrations a été construit dans une microplaque. L'absorbance était de 450 nm après une heure d'incubation. Les standards sont le BHA et le BHT.

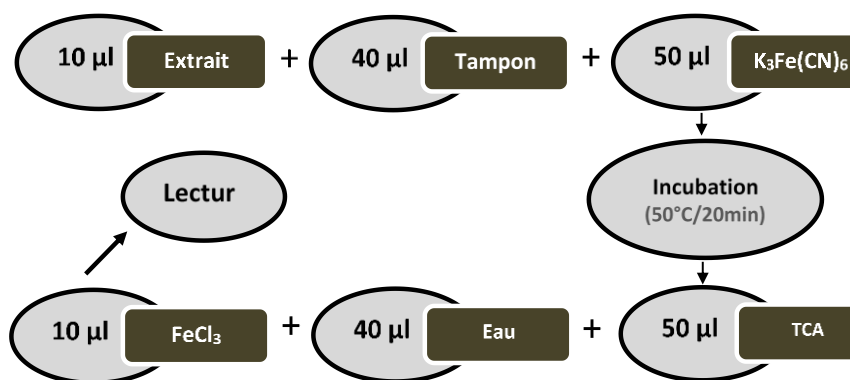


Figure V.6. Processus de remplissage de l'échantillon sur la plaque

### V.6.2.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

La méthode d'Oyaizu a été utilisée pour déterminer le pouvoir réducteur des extraits [6]. (10 µl) de l'extrait ont été mélangés à (40 µl) d'une solution phosphate et à (50 µl) d'une solution de ferricyanide de potassium. L'ensemble a été incubé pendant 20 minutes à 50°C dans une étuve. Pour arrêter la réaction, 50 µl d'acide trichloroacétique (10%) ont été

ajoutés. Enfin, 10µl de solution de chlorure de fer anhydre et 40µl d'eau distillée ont été ajoutés. En remplaçant l'extrait par le méthanol, l'absorbance a été mesurée à 700 nm contre un blanc préparé de la même manière. L'acide ascorbique, l'acide tocophérol et l'acide tannique ont servi de normes.

#### **V.6.2.5. Test β-carotène**

La méthode Krishnaiah a été utilisée pour évaluer le blanchiment du beta-carotène des extraits [20]. 0,5 µg de beta-carotène dans 1 µl de chloroforme, et 25 µl d'acide linoléique et 200 mg de tween 40 a été utilisée pour préparer l'émulsion beta-carotène/acide linoléique. Après que le chloroforme ait été complètement évaporé à 40°C et à une pression réduite. Il faut ajouter 100 µl d'eau distillée saturée en oxygène. La cinétique de décoloration de l'émulsion est suivie à 490 nm pendant 2 heures. Sachant que l'antioxydant de référence utilisé est l'α-Tocopherol.

### **V.6.3. Activité d'inhibition enzymatique**

#### **V.6.3.1. Activité antidiabétique via l'inhibition de α-Glucosidase et l'α-amylase**

L'activité inhibitrice contre l'α-glucosidase et l'α-amylase d'extraits et d'huiles essentielles a été déterminée en utilisant une version modifiée de l'approche décrite par Baessa [21] et Lordan, [22].

##### **➤ Protocole de l'activité : inhibition de l'amylase**

25 µl d'extrait ont été mélangés à 50 µl d'une solution d'alpha-amylase, puis ils ont été incubés durant 10 minutes à 37°C. Après cela, 50 µl d'amidon ont été ajoutés. Une autre incubation est effectuée pendant 10 minutes à 37°C. 25µl d'acide hypochlorique (1M) et 100 µl d'iodure de potassium iodé ont été ajoutés après l'incubation. L'absorbance a été mesurée à 630 nm. L'acarbose a servi de standard.

En déterminer le pourcentage d'inhibition de l'amylase :

$$\% \text{ inhibition} = 1 - \frac{(Ac - Ae) - (As - Ab)}{(Ac - Ae)}$$

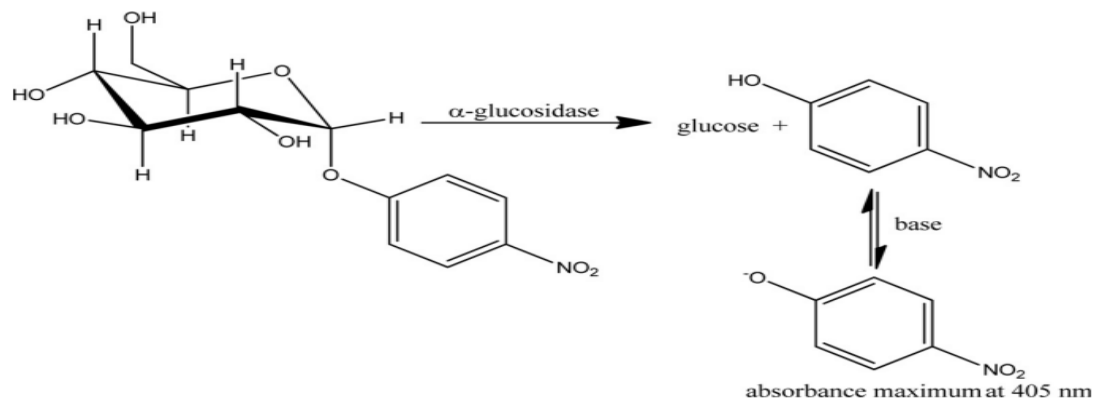
**Tableau V.1** Structure des microplaques dans le test de l'amylase

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
A	Extrait 01 (As)			Blanc extrait 01 (Ab)		Extrait 02 (As)			Blanc extrait 02 (Ab)		Extrait 03		Blanc extrait 03 (Ab)	
B														
C														
D														
E														
F	Ae			Ac			Ae			Ac				
G														
H														

➤ **Protocole de l'activité : inhibition de l'alpha-glucosidase**

Ajouter (50 µl) d'extrait à chaque puits et (100 µl) de solution d'enzyme ; Après cela, une solution de substrat (p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside) de 50 µl Après cela, utilisez un spectrophotomètre à 405 nm pendant 10 minutes et 30 minutes à 37 °C.

(Figure V.8).

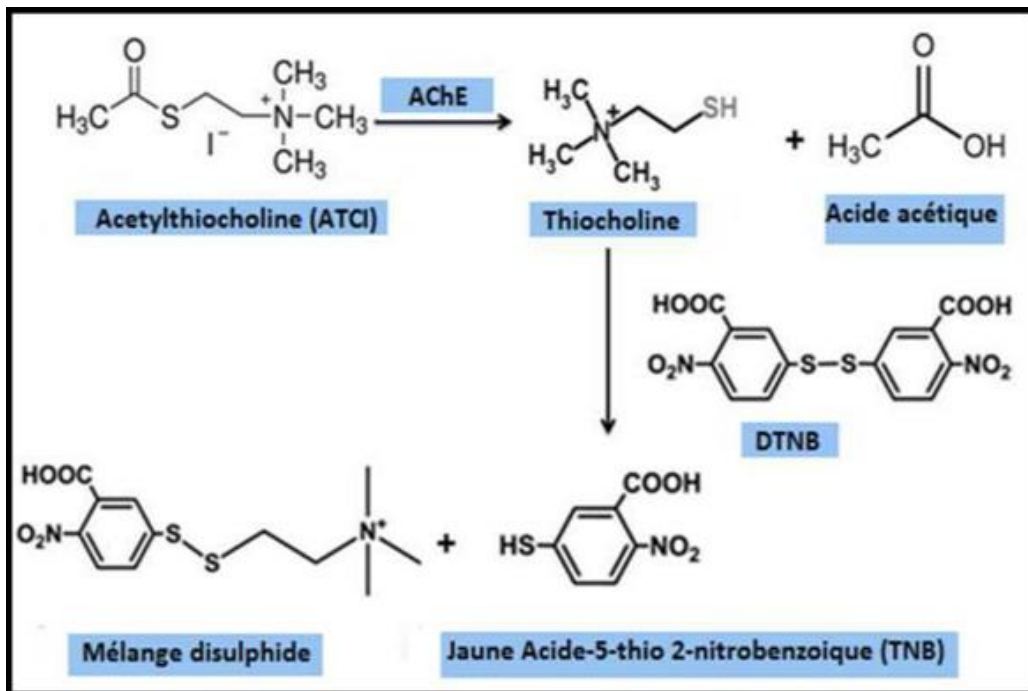


**Figure V.7.** Mécanisme chimique de l'action de l'alpha-glucosidase.

**V.6.3.2. Activité anti-Alzheimer via l'inhibition de butyrylcholinesterase et l'acétylcholinestérase**

La méthode d'Ellman a été utilisée pour déterminer l'activité inhibitrice de (AChE/BChE) [23].

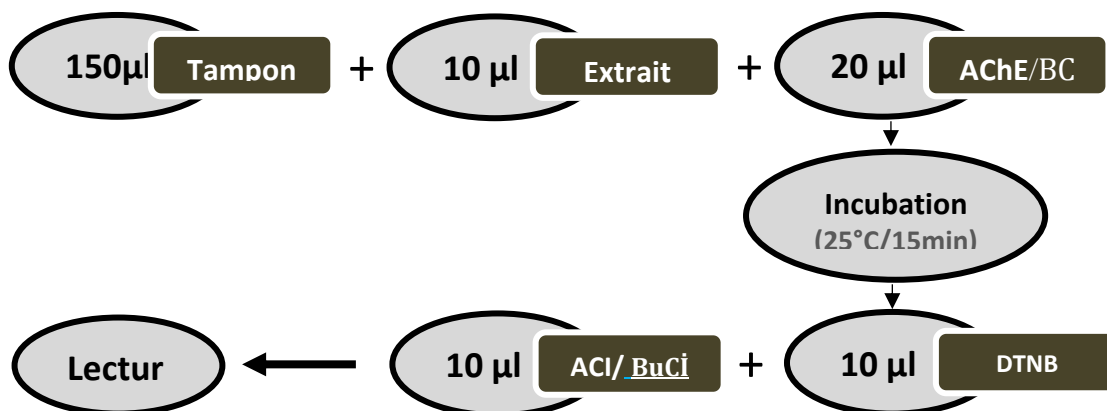




**Figure V.8.** La méthode d'Ellman : mécanisme chimique.

Brièvement, le buffer de sodium phosphate à 100 mM (pH 8,0) contient 20  $\mu\text{L}$  d'AChE ou BChE solution et est incubé à 25°C pendant 15 mn avec 10  $\mu\text{L}$  de DTNB (0,5 mM) + 10  $\mu\text{L}$  d'acetylthiocholineiodide ou S-Butyrylthiocholineiodide + lecture à 412 nm pendant 0 mn une (1) lecture, 5 mn (2) lecture, 10 mn (3) lecture, 15 mn (4) lecture.

La formule  $(E - S)/E * 100$  est utilisée pour calculer le pourcentage d'inhibition des enzymes AChE ou BChE par rapport au blanc (éthanol avec un phosphate buffer pH 8).



**Figure V.9.** Processus de remplissage de chaque échantillon sur la plaque

## V.7. Analyse des données

L'écart type moyen de trois mesures est utilisé pour calculer les résultats. Le  $A_{0.50}$  et Les valeurs  $IC_{50}$  ont été déterminées à l'aide de la ligne de régression et analyse de variance unidirectionnelle, avec ANOVA pour identifier variations significatives ( $p < 0,05$ ) avec la version XLSTAT 2014.

## V.8. Activité anti-microbienne des plantes

### V.8.1. Souches de bactéries et de levures étudiées

Les micro-organismes nuisibles suivants ont été testées : les souches bactériennes employées dans ce enquête étaient *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ATCC2592, *Salmonella thymhimurium* (Gram négatif), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* (Gram positif) et la levure *Candida albicans*. Il est à noter que l'hôpital universitaire Benflis Tohami-Batna est à l'origine de ces dangereux germes. (Tableau V.2).

Tableau V.2. Répartition des souches testées

Bactérie	Souche	Famille
<b>Gram -</b>		
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Enterobacteriaceae</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Pseudomonadaceae</i>
	<i>Salmonella thymhimurium</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<b>Gram +</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Staphylococcaceae</i>
<b>Champignon</b>	<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>

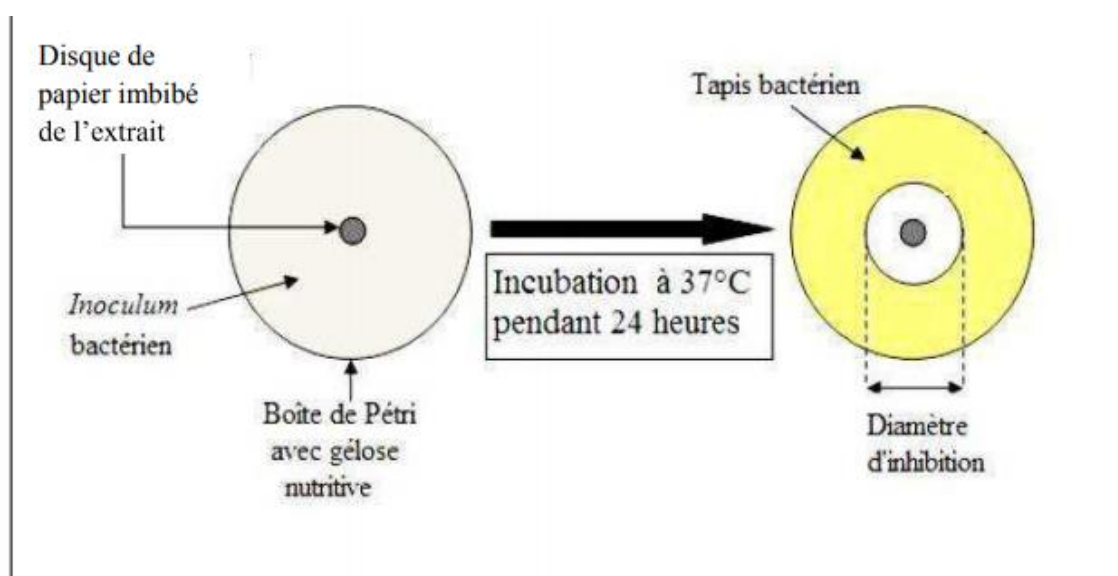
### V.8.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de disque « Aromatogramme »

Jacob et Tonei [24] décrivent la technique de l'aromatogramme, qui consiste à utiliser des disques de papier filtre stérile de 06 mm puis à les déposer à la surface des boîtesensemencées. Par la suite, les disques sont chargés avec 10  $\mu$ l de chaque extrait. Les boîtes sont laissées diffuser pendant 2 heures à 4 degrés Celsius, puis elles sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C. Chaque test comprend trois essais. Les mesures

des diamètres sont effectuées en millimètres et la résultante est la moyenne des trois essais (**Figure V.10**).

### V.8.2.1. Ensemencement

Des boîtes de Pétri contiennent 15 ml de gélose. Après le refroidissement et la solidification du milieu de culture sur la paillasse, la suspension bactérienne à tester est étalée sur la surface de gélose pour chaque boîte à l'aide d'un tapis, puis on laisse pendant 30 minutes sur la paillasse. Les disques imbibés par l'extrait sont placés sur le gélose dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, tandis que les disques imbibés par DMSO sont placés pour le témoin. Les boîtes sont ensuite fermées et incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.



**Figure V.10.** Principe de la méthode de diffusion sur disque.

### V.8.2.2. Détermination de MIC et MBC

Le principe de la méthode consiste à diluer l'extrait dans un milieu de culture solide ou liquide et à inoculer ce milieu avec les souches bactériennes à tester [25].

La technique de micro-dilution décrite par Mennai [26]. Cette technique a été utilisée pour calculer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CBM).

La (Gentamicine/Chloramphénicol) était le témoin utilisé.

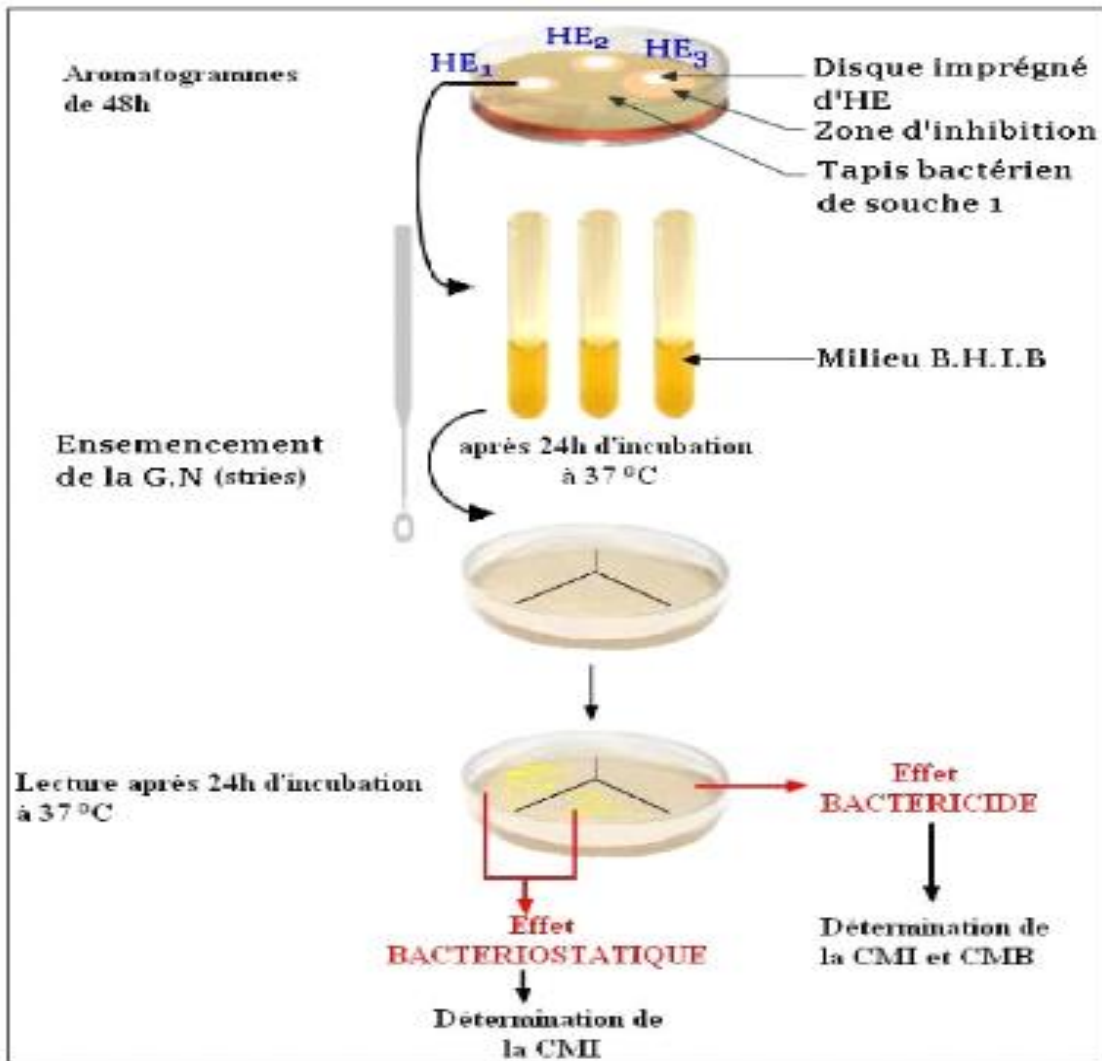


Figure V.11. Pouvoir anti-microbien évalué *in vitro*.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] G. Toul, Antioxidant activity and phenolic profile of different organs of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* from Algeria. *Natural product research* 31(6) (2017) 718-723.
- [2] T. Touil, Cutting edge: TLR3 stimulation suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis by inducing endogenous IFN- $\beta$ . *The Journal of Immunology* 177(11) (2006) 7505-7509.
- [3] T. Hamel, Ethnomedical knowledge and traditional uses of aromatic and medicinal plants of the Wetlands Complex of the Guerbes-Sanhadja Plain (Wilaya of Skikda in Northeastern Algeria). *Herbal medicine*, 4(1) (2018) 3.
- [4] M. Fernández-Mazuecos, Corolla morphology influences diversification rates in bifid toadflaxes (*Linaria* sect. *Versicolores*). *Annals of Botany*, 112(9) (2013) 1705-1722.
- [5] T. Hamel, Z. Azzouz, Découverte de *Gamochaeta antillana* (Asteraceae) en Numidie orientale (El Tarf-Algérie), 28 (2018) 155-164.
- [6] A. Kantarci, Neutrophil- Neutrophil-mediated tissue injury in periodontal disease pathogenesis: findings from localized aggressive periodontitis. *Journal of periodontology*, 74(1) (2003) 66-75..
- [7] J. Harborne, The flavonoids: advances in research since 1980, (2013).
- [8] G. Singleton, Z. Zhang, Ecologically based management of rodent pests—re-evaluating our approach to an old problem. *Ecologically-based Management of Rodent Pests. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), Canberra*, 31 (1999) 17-29.
- [9] D. Granato, Rocha, A. Cruz, B. Jarvis,, Trends in chemometrics: Food authentication, microbiology, and effects of processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3) (2018) 663-677.
- [10] M. Öztürk, G. Topçu, Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food chemistry*, 103(2) (2007) 623-630.
- [11] A. Kumaran, In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2) (2007) 344-352.
- [12] A. Mehmood Wang, Impact of ultrasound and conventional extraction techniques on bioactive compounds and biological activities of blue butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.). *Ultrasonics sonochemistry*, 51 (2019) 12-19.
- [13] É. Palé, Caractérisation Caractérisation et mesure des activités anti-radicalaires d'anthocyanes de plantes du Burkina Faso." *Comptes Rendus Chimie* 7(10-11) (2004) 973-980.

- [14] E. Culcasi, Vers la compréhension des modifications physiologiques et neuro-anatomiques induites par la pratique musicale. Apport des études scientifiques. *L'Atrium*. (2018).
- [15] R. Szöllösi, I. Varga, Total antioxidant power in some species of Labiatae: Adaptation of FRAP method. *Acta Biologica Szegediensis*, 46(3-4) (2002) 125-127.
- [16] R. Pellegrini, Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10) (1999) 1231-1237.
- [17] M. Blois, determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181 (1958) 1199-1200.
- [18] C. Sánchez-Moreno, Concepción. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3) (2002) 121-137.
- [19] R. Apak, S. Karademir, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method." *Journal of agricultural and food chemistry* 52(26) (2004) 7970-7981.
- [20] D. Krishnaiah, R. Nithyanandam, A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, 89(3) (2011) 217-233.
- [21] M. Baessa, da Rosa Neng, L. Barreira, , S. Asif, A comparative study of the in vitro enzyme inhibitory and antioxidant activities of *Butea monosperma* (Lam.) Taub. and *Sesbania grandiflora* (L.) Poiret from Pakistan: New sources of natural products for public health problems. *South African Journal of Botany*, 120 (2019) 146-156.
- [22] S. Lordan, C. Stanton, The  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts. *Food chemistry* 141(3) (2013) 2170-2176.
- [23] G. Ellman, Andres Jr, R. Featherstone, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology* 7(2) (1961) 88-95.
- [24] C. Gussenhoven, H. Jacobs, Haike. *Understanding phonology*. Routledge 2017.
- [25] B. Moulari, F. Pirot, Vectorization of *Harungana madagascariensis* Lam. ex Poir. (Hypericaceae) ethanolic leaf extract by using PLG-nanoparticles: antibacterial activity assessment. *Drug Development Research*, 65(1) (2005) 26-33.
- [26] I. Mennai, Chemical composition and antioxidant, antiparasitic, cytotoxicity and antimicrobial potential of the Algerian *Limonium oleifolium* mill. Essential oil and organic extracts. *Chemistry & Biodiversity* 18(9) (2021) e2100278.
-

# **CHPITRE –VI–**

**RÉSULTATS ET  
DISCUSSION**

## VI.1. Introduction

Ce chapitre renferme l'ensemble des résultats de dosage des flavonoïdes, flavonols, des et polyphénols totaux ainsi que les résultats des tests des activités biologiques de différents extraits de trois plantes endémiques du nord-est Algérie, à savoir: *Linaria pinifolia* (Poir.), *Calendula. suffruticosa. boiserie*, et *Rumex aristidis Coss.*

Les activités biologiques et pharmacologiques qui ont été évaluées (*in vitro*) sont les suivants :

- l'activité antioxydante, en utilisant cinq tests ;
- l'activité anti alzhmmer .
- l'activité antidiabétique .
- l'activité antimicrobienne.

Sachant que les extraits sont obtenus par deux méthodes différentes : extraction conventionnelle et extraction assistée par ultrasons (UEA). Enfin, l'analyse par GC-MS a été utilisée pour identifier la composition chimique de l'huile essentielle de *C. suffruticosa. boiserie*.

## VI.2. Mesures spectrales et produits chimiques utilisés

Les mesures des résultats d'activité ont été évalués en utilisant des mesures de bioactivité effectuées sur un lecteur de microplaques à 96 puits, au National Center of Biotechnology Research. Les réactifs utilisés sont les suivants :

- réactif de Folin-ciocalteu .
- (DPPH).
- Butylatedhydroxytoluene. (BHT)
- Butylatedhydroxylanisole. (BHA)
- $\alpha$ -Tocophérol,
- acide ascorbique,
- acide tannique,
- $\beta$ -carotène,
- acide linoléique,
- monopalmitate de polyoxyéthylènesorbitane ,
- néocuproïne,
- (ABTS),



- acide trichloroacétique (TCA),
- ferricyanure de potassium,
- bleu nitré tétrazolium (NTB),
- diméthylsulfoxyde (DMSO),
- acétylcholinestérase d'anguille électrique (Sigma),
- butyrylcholinestérase de sérum de cheval (Sigma),
- ,iodure de S-butyrylthiocholine
- ,iodure d'acétylthiocholine
- acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) (DTNB),
- , $\alpha$ -glucosidase de *Saccharomyces cerevisiae* (Type I,  $\geq 10$  un son/mg de protéine)
- 4-nitrophényl $\alpha$ -D-glucoopyranoside ( $\geq 99\%$ ),
- ,galantamine
- l'acarbose ( $\geq 95\%$ ). (Sigma-Aldrich GmbH).
- ,chlorure de fer (III) ( $\text{FeCl}_3$ )
- chlorure de cuivre (II)
- ,acétate de potassium, Biochem Chemopharma .
- bicarbonate de sodium
- persulfate de potassium,

### VI.3. Criblage phytochimique :

Le ce test est basé sur des réactions de précipitation ou changement de couleur. Les résultats sont classés comme suit

- Réaction fortement positive (+++).
- Réaction positive (++)
- Réaction faiblement positive (+).
- Réaction négative (-).

Nous regroupons dans le tableau suivant, les résultats du screening phytochimique des trois plantes :

**Tableau VI.1 :** Screening phytochimique des plantes étudiées.

Groupes chimiques	Présence		
	<i>Linaria pinifolia</i> (Poir.),	<i>C. suffruticosa.</i> <i>boiserie.</i>	<i>Rumex aristidis</i> <i>Coss</i>
Alcaloïdes	++	-	+
Coumarines	++	++	++
Composés réducteurs	+	+	+
Dérivés quinoniques	+	-	+
Flavonoïdes	++	+++	+++
Saponines	-	+	++
Tanins	+	+	++
Stérols et terpènes	+	+	+

Sur l'ensemble de ces résultats, on remarque que les plantes étudiées sont riche en métabolites secondaires : On constate une forte présence des flavonoïdes et des coumarines. Une présence en quantité minime des stérols et terpènes, on remarque également l'absence totale des saponines dans *Linaria pinifolia* et des alcaloïdes dans *C. suffruticosa*.

## **VI.4. Etude phytochimique et biologique**

### **VI.4.1. Préparation des extraits**

Pour les deux méthodes d'extraction appliquées : extraction conventionnelle ou macération et extraction par sonication, nous avons utilisé deux solvants de polarités différentes (méthanol-eau 70% et éthanol-eau 70%) à la température ambiante. Concernant la première méthode, 5 grammes de poudre végétale de chaque plantes, sont mélangé avec 50 ml de solvants pendant 24 heures sous agitation magnétique. Pour la seconde, le rapport drogue/solvant est de 1/10 (p/v) avec un temps d'extraction de 30 minutes.

Les extraits sont ensuite filtrés, puis concentrés sous vide sur un évaporateur rotatif et stockés à -4 ° C pour des utilisations ultérieures.

### **VI.4.2. Analyse colorimétrique (spectrophotométrie UV-visible)**

Les équations de régression linéaire sont utilisées pour calculer les analyses quantitatives des polyphénols totaux, des flavonols et des desflavonoïdes des différents extraits. Ils sont exprimés en milligrammes, qui sont équivalents à des milligrammes de matière végétale.

#### **VI.4.2.1. *Linaria pinifolia* (Poir.)**

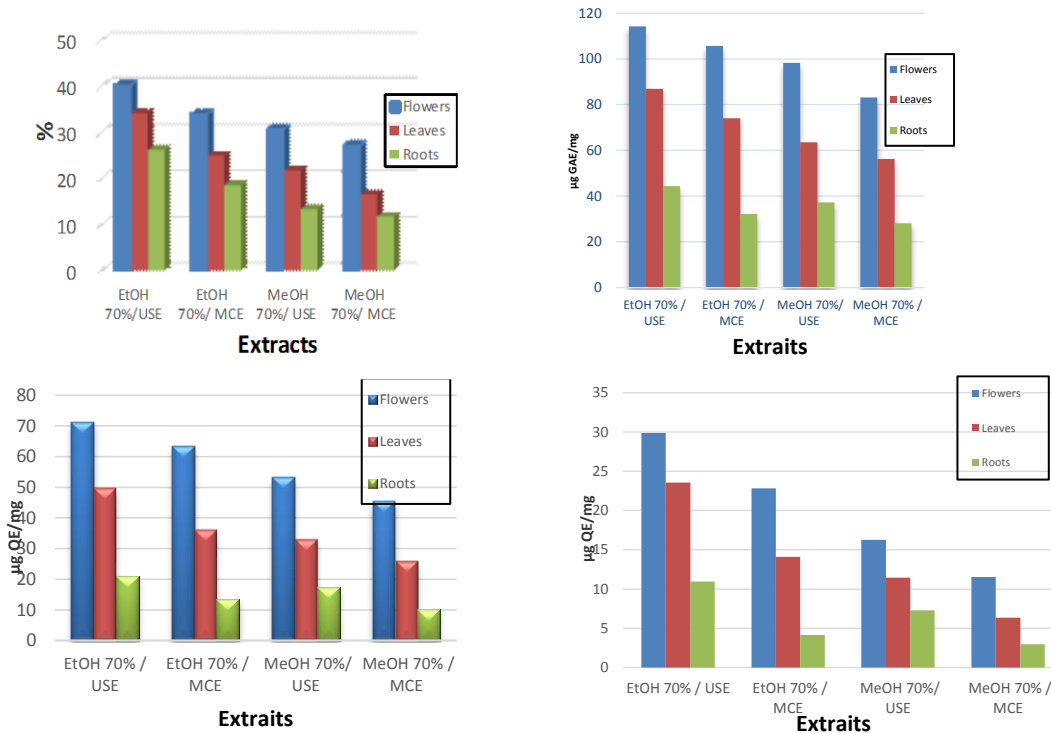
Les composés phénoliques constituent un type de métabolites secondaires, qui sont d'une grande importance en raison de leur effet pharmacologique étonnant sur l'être humain, notamment des antioxydants, des antidiabétiques et des agents anticancéreux, en plus de nombreuses autres activités biologiques [1].

Dans la présente étude, l'effet du changement de méthode d'extraction (ultrasons et macération) et de solvant a été évalué sur le rendement, le contenu phénolique total (polyphénols, flavonols et flavonoïdes) dans les différents extraits des différentes parties des plantes. Ceci est résumé dans le **tableau VI.2** et illustré par la **figure VI.1**.

**Tableau VI.2.** Effets du changement de la méthode d'extraction et du solvant sur le rendement, les TPC, les TFC et les TFlaC dans les différents extraits de *Linaria pinifolia*.

Parties/ Solvant / Méthode	Rendement %	TPCs (µgEAG/mg)	TFCs (µgEQ/mg)	TFlaCs (µgEQ/mg)
Fleur } EtOH (70%) / USE	39,85 <sup>a</sup>	116,19 ± 1,46 <sup>a</sup>	63,97 ± 0,25 <sup>a</sup>	28,97 ± 1,93 <sup>a</sup>
Feuille } EtOH (70%) / USE	31,00 <sup>b</sup>	70,35 ± 2,02 <sup>b</sup>	38,74 ± 1,18 <sup>c</sup>	21,78 ± 1,71 <sup>b</sup>
Racines } EtOH (70%) / USE	24,77 <sup>c</sup>	44,32 ± 1,07 <sup>e</sup>	17,23 ± 0,55 <sup>e</sup>	08,92 ± 0,88 <sup>e</sup>
Fleur } EtOH (70%) / MCE	34,00 <sup>b</sup>	105,71 ± 0,90 <sup>ab</sup>	51,27 ± 1,07 <sup>b</sup>	22,82 ± 1,66 <sup>b</sup>
Feuille } EtOH (70%) / MCE	25,00 <sup>c</sup>	74,01 ± 0,78 <sup>c</sup>	32,22 ± 0,72 <sup>d</sup>	14,09 ± 1,40 <sup>d</sup>
Racines } EtOH (70%) / MCE	18,60 <sup>d</sup>	32,23 ± 0,19 <sup>ef</sup>	13,56 ± 0,10 <sup>f</sup>	04,14 ± 0,47 <sup>f</sup>
Fleur } MeOH (70%) / USE	27,95 <sup>bc</sup>	93,88 ± 2,33 <sup>b</sup>	48,82 ± 1,35 <sup>bc</sup>	15,84 ± 2,09 <sup>c</sup>
Feuille } MeOH (70%) / USE	18,63 <sup>cd</sup>	58,77 ± 1,73 <sup>cd</sup>	33,07 ± 1,88 <sup>de</sup>	12,07 ± 2,21 <sup>e</sup>
Racines } MeOH (70%) / USE	11,76 <sup>ed</sup>	35,85 ± 1,60 <sup>e</sup>	11,77 ± 0,44 <sup>ef</sup>	08,10 ± 1,98 <sup>ef</sup>
Fleur } MeOH (70%) / MCE	27,20 <sup>c</sup>	83,21 ± 1,21 <sup>bc</sup>	45,27 ± 1,43 <sup>c</sup>	11,52 ± 1,33 <sup>e</sup>
Feuille } MeOH (70%) / MCE	16,60 <sup>d</sup>	56,22 ± 1,81 <sup>d</sup>	26,04 ± 1,07 <sup>e</sup>	06,36 ± 1,44 <sup>ef</sup>
Racines } MeOH (70%) / MCE	11,80 <sup>e</sup>	28,12 ± 1,14 <sup>f</sup>	09,94 ± 0,63 <sup>f</sup>	03,98 ± 0,88 <sup>g</sup>

Les valeurs représentent les moyennes de trois mesures ± SD (significative à  $p \leq 0,05$ ) ; TPC : teneurs phénoliques totales sont représentées en µg /d'acide gallique/mg ; TFCs et TFlaCs : teneurs totales en flavonoïdes et flavonols sont représentées en µg /de quercétine /mg ; EtOH : éthanol ; MeOH : méthanol ; MCE : extraction par macération ; USE : extraction assistée par ultrasons.



**Figure VI.1** : Rendement d'extraction (A), teneurs phénoliques totales (B), teneurs totales en flavonoïdes (C) et teneurs totales en flavonols (D) de différents extraits de *Linaria pinifolia*.

Comme on peut le voir d'après ces résultats, l'extraction assistée par ultrasons donne des rendements et des teneurs élevées en TPC, TFC et TFlaC par rapport à l'extraction conventionnelle et ceci pour les deux solvants (méthanol - eau 70% et éthanol - eau 70%).

En comparant la quantité de ces teneurs dans les différentes parties de la plante, on constate aussi qu'elles sont plus abondantes dans les fleurs et que le solvant (éthanol-eau) donne les plus grandes valeurs. De même, les quantités de ces composés phénoliques dans l'extrait hydrométhanolique des feuilles et des racines sont plus grandes que celles issues de l'extrait hydroéthanolique.

Cependant, il est à noter que le type de solvant utilisé pour l'extraction a un impact crucial dans la récupération des composés phénoliques, comme il a été mentionné précédemment dans plusieurs études [2, 3]. Il convient également de mentionner qu'il est connu que les solvants polaires sont les solvants les plus appropriés pour l'extraction des composés bioactifs [4], ce qui n'a pas été prouvé dans cette étude.

Pour conclure, on aperçoit que la sonication améliore le processus d'extraction (rendement et teneurs en polyphénols), cela peut être expliqué par le fait que lors du processus

d'extraction, des couches de solvant se forment autour de la périphérie des matières végétales et agissent comme un obstacle à la propagation de ces matériaux ; Ces couches ne peuvent pas être éliminées lors de l'extraction par macération, et seules les ondes ultrasonores peuvent briser cet obstacle [5]. Un autre facteur qui justifie ces résultats est la force physique résultant de la cavité acoustique, qui conduit à un transfert de masse accru [6]. Cette étude est soutenue par le fait que de nombreux travaux de recherche démontrent la supériorité de l'extraction par ultrasons Par rapport l'extraction par macération des composés bioactifs [7, 8].

#### VI.4.2.2. *Calendula suffruticosa boiserie*

##### VI.4.2.2.1. Quantification des polyphénols

L'impact du changement du solvant d'extraction sur le rendement et la teneur en composés phénoliques des différents organes de la plante a été évalué. Nos extraits sont obtenus par extraction assistée par ultrasons en utilisant deux solvants de polarité différente (70% méthanol-eau et 70% éthanol-eau).

Les résultats du contenu phénolique total (polyphénols, flavonoïdes et flavonols) sont organisés dans le **tableau VI.3**.

Les résultats représentent les moyennes des expériences en triple  $\pm$  SD ; Différents exposants (a–e) dans la même colonne indiquent des différences significatives entre les extraits testés ( $p \leq 0,05$ ) ; TPC : teneurs en composés phénoliques totaux représentent en  $\mu\text{g}$  / d'acide gallique/mg d'extrait ; TFC : teneurs en flavonoïdes totaux sont représentées en  $\mu\text{g}$  quercétine équivalents/mg d'extrait. TFlaCs : teneurs totales en flavonols exprimées en  $\mu\text{g}$  quercétine équivalents/mg d'extrait.

**Tableau VI.3.** : Profils phénoliques (TPC, TFC et TFlaC) et rendement de différentes parties de *C. suffruticosa. boissieri*.

Solvant	Parties	Rendement %	TPC	TFC	TFlaC
Ethanol (70%)	Fleurs	40,30 <sup>a</sup>	114,20 $\pm$ 0,71 <sup>a</sup>	71,15 $\pm$ 0,89 <sup>a</sup>	29,87 $\pm$ 1,10 <sup>a</sup>
	Feuilles	34,17 <sup>b</sup>	86,97 $\pm$ 0,74 <sup>b</sup>	49,60 $\pm$ 0,48 <sup>c</sup>	23,54 $\pm$ 0,31 <sup>b</sup>
	Racines	26,23 <sup>c</sup>	44,32 $\pm$ 0,50 <sup>d</sup>	21,11 $\pm$ 0,32 <sup>d</sup>	10,97 $\pm$ 0,61 <sup>c</sup>
Methanol (70%)	Fleurs	30,78 <sup>bc</sup>	98,21 $\pm$ 0,21 <sup>b</sup>	53,12 $\pm$ 1,70 <sup>c</sup>	16,24 $\pm$ 1,32 <sup>c</sup>
	Feuilles	21,80 <sup>cd</sup>	63,50 $\pm$ 1,65 <sup>c</sup>	33,07 $\pm$ 1,15 <sup>cd</sup>	11,44 $\pm$ 1,43 <sup>cd</sup>
	Racines	13,40 <sup>ed</sup>	37,19 $\pm$ 1,93 <sup>e</sup>	16,45 $\pm$ 0,85 <sup>e</sup>	07,29 $\pm$ 0,42 <sup>de</sup>

Les plus grandes valeurs des rendements et des teneurs en composés phénoliques (TPC, TFC et TFlaC) ont été observées dans les extraits éthanol-eau. Nous constatons aussi que les fleurs donnent des valeurs plus élevée que celles des feuilles et des racines.

#### **VI.2.2. Huiles essentielles de *C. suffruticosa* boiserie.**

##### **➤ Analyse GC/MS**

Un Shimadzu d'une colonne capillaire HP-5MS a été utilisé pour effectuer l'analyse chromatographique. Le mode d'ionisation du spectromètre de masse. La source d'ions et quadruple MS (*quadrupole mass spectrometer*) avait des températures de 230°C et 180°C, respectivement. Le mode scan a été utilisé pour obtenir les données spectrales de masse dans la région 33–450 m/z.

Les composants des huiles essentielles ont été déterminés par comparaison des spectres de masse et les indices de rétention trouvés à ceux de référence "substances d'archives". Le pourcentage de surface relatif à chaque pic est calculé à partir de la surface totale.

##### **➤ Composants chimiques de l'huile essentielle**

250 g de la partie aérienne de la plante ont été distillé pendant deux heures dans un appareil Clevenger, le rendement obtenu était 0,45% en masse. Nous regroupons dans le **tableau VI.4** les résultats de l'analyse chromatographique de l'huile essentielle de *C. suffruticosa. boissieri*.

**Tableau VI.4. :** Résultats de l'analyse chromatographique de l'huile essentielle de la partie aérienne de *C. suffruticosa boissieri*.

N° pic	RT	RI <sub>cal</sub>	RI <sub>lit</sub>	Area%	Composés
01	2,02	625	623	3,21	Methyl-cyclopentane
02	2,11	740	736	23,73	Methyl-cyclohexane
03	2,24	857	854	7,79	(E)-2-Hexenal
04	2,88	890	887	0,07	Tetrachloroethylene
05	11,78	905	902	0,48	$\alpha$ -Thujene
06	12,07	940	932	5,42	$\alpha$ -pinene
07	13,67	971	970	0,21	Sabinene
08	13,73	978	975	1,44	$\beta$ -pinene
09	14,33	991	993	0,34	$\beta$ -Myrcene
10	14,67	1009	1010	1,27	$\alpha$ -phellandrene
11	14,85	1013	1012	0,28	3-Carene
12	15,05	1015	1016	0,12	$\alpha$ -Terpinene
13	15,33	1020	1018	13,20	O-cymene
14	15,53	1031	1028	27,02	Limonene
15	15,69	1036	1034	1,21	cis- $\beta$ -Ocimene
16	15,94	1047	1044	0,39	trans- $\beta$ -Ocimene
17	16,20	1058	1056	2,31	$\gamma$ -terpinene
18	16,90	1086	1088	0,27	Isoterpinolene
19	17,14	1105	1101	0,20	Linalool
20	17,27	1117	1119	0,26	(E)-Pinocarveol
21	17,46	1125	1121	0,14	Fenchol
22	17,51	1145	1141	0,06	cis-verbenol
23	17,62	1166	1162	0,15	pinocarvone
24	17,77	1179	1180	0,11	terpinen-4-ol
25	18,00	1184	1182	0,28	Isopinocarveol
26	18,55	1188	1186	0,19	p-Cymen-8-ol
27	18,76	1192	1190	1,48	$\alpha$ -terpineol
28	18,87	1205	1211	0,25	Myrtenol
29	18,93	1215	1217	1,89	Verbenone
30	19,01	1222	1220	1,03	(E)-Carveol
31	19,12	1227	1229	0,17	Nerol
32	19,21	1230	1230	0,06	Myrtenyl acetate
33	19,89	1235	1232	0,81	Cuminal
34	20,05	1245	1243	0,04	Pulegone
35	20,13	1261	1266	0,07	cis-Myrtanol
36	20,50	1275	1273	0,43	Phellandral
37	20,70	1287	1284	0,18	p-Cymen-7-ol
38	20,84	1293	1290	0,12	Thymol
39	21,62	1333	1336	0,36	$\alpha$ -Terpinyl acetate
40	22,73	1362	1374	0,08	$\alpha$ -Copaene
41	23,40	1390	1389	0,05	$\beta$ -Bourbonene
42	24,69	1444	1435	0,19	$\beta$ -Copaene
43	25,18	1510	1507	0,44	Caryophyllene oxide
44	25,31	1540	1536	0,55	Spathulenol
45	53,33	2745	2731	1,66	$\gamma$ -Sitosterol



63,86	Monoterpènes
2,45	Sesquiterpènes
4,32	Monoterpènes oxygénés
0,44	Sesquiterpènes oxygénés
26,94	Autre
45	Nombre de composants identifiés
98,01	Total du composant identifié (%)

$RI_{lit}$  : indice de rétention des enregistrements spectraux de masse rapporté dans la littérature (NIST 20 et Wiley12 MS) ;  $RI_{cal}$  : indice de rétention ; RT : temps de rétention (minutes).

De plus, le chromatogramme suivant (**Figure VI.2**), montre la richesse de cette huile en métabolites secondaires :

Au total, 45 composants ont été discernés (ce qui représente 98,01% de la composition) dont 23 monoterpènes, 12 diterpènes, 6 sesquiterpènes, 1 coumarine et 3 alcanes. Le méthyl-cyclohexane (23,73%), le limonène (25,02%), l'O-cymène (13,20%), le (E)-2-hexéнал (7,79%), le méthyl-cyclopentane (3,21%), le pinène (1,44%) et la verbénone sont les principaux constituants de cette huile.

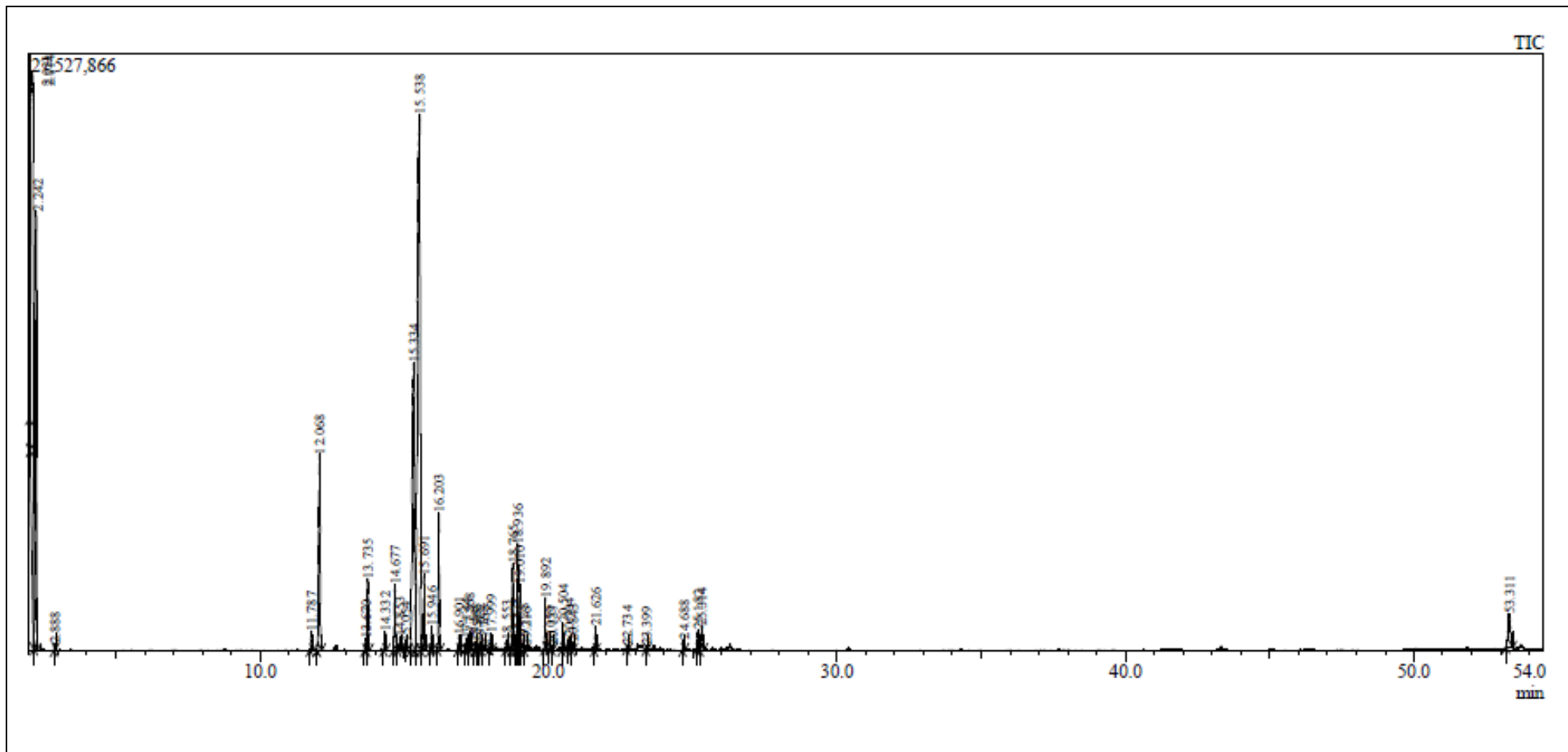


Figure VI.2. Chromatogramme total d'huile essentielle de *C. suffruticosa boissier*.

Il convient de noter que le profil chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne de *C. suffruticosa. boissieri* n'a été mentionné dans aucune autre étude auparavant.

La composition chimique de cette huile semble être plus élevée en métabolites secondaires (en particulier les monoterpénoïdes) par rapport à celle des autres espèces de *Calendula* [10, 11]. Trois des constituants trouvés dans les espèces de *Calendula* sont répandus (le méthyl-cyclopentane, limonène et le (E)-2-hexénal) mais en quantités variables. La méthode d'extraction, bien sûr, a un impact sur le résultat.

#### VI.4.2.3. *Rumex aristidis* Coss

L'ensemble des résultats du rendement et du contenu phénolique total (polyphénols, flavonoïdes et flavonols) des feuilles et des racines de *Rumex aristidis* sont résumés dans le (tableau VI.5).

**Tableau VI.5.** : Profils phénoliques (TPC, TFC et TFlaC) et rendement de différentes parties de *Rumex aristidis* Coss.

Solvant	Parties	Rendement %	TPC	TFC	TFlaC
Ethanol (70%)	Feuilles	37,18 <sup>b</sup>	186,92 ± 0,74 <sup>b</sup>	109,60 ± 0,48 <sup>c</sup>	54 ± 0,31 <sup>b</sup>
	Racines	33,21 <sup>c</sup>	43,32 ± 0,50 <sup>d</sup>	21,11 ± 0,32 <sup>d</sup>	39,92 ± 0,61 <sup>c</sup>
Methanol (70%)	Feuilles	31,80 <sup>cd</sup>	169,52 ± 1,65 <sup>c</sup>	93,15 ± 1,15 <sup>cd</sup>	49,48 ± 1,43 <sup>cd</sup>
	Racines	18,45 <sup>ed</sup>	39,18 ± 1,93 <sup>e</sup>	24,22 ± 0,85 <sup>e</sup>	35,22 ± 0,42 <sup>de</sup>

Pour les deux extraits et pour les deux organes (feuilles et racines), nous avons trouvé des différences statistiquement significatives ( $P < 0,05$ ).

Les valeurs maximales du rendement et du contenu phénolique total ont été observés dans l'extrait éthanol-eau 70%. On voit aussi que les feuilles ont des valeurs supérieures à celles des racines.

#### VI.4.3. Activité antioxydante

L'évaluation de la capacité antioxydante des trois plantes, nous avons utilisé cinq méthodes différentes à savoir : ABTS, CUPRAC, DPPH, pouvoir réducteur et essai de la bêta-carotène.

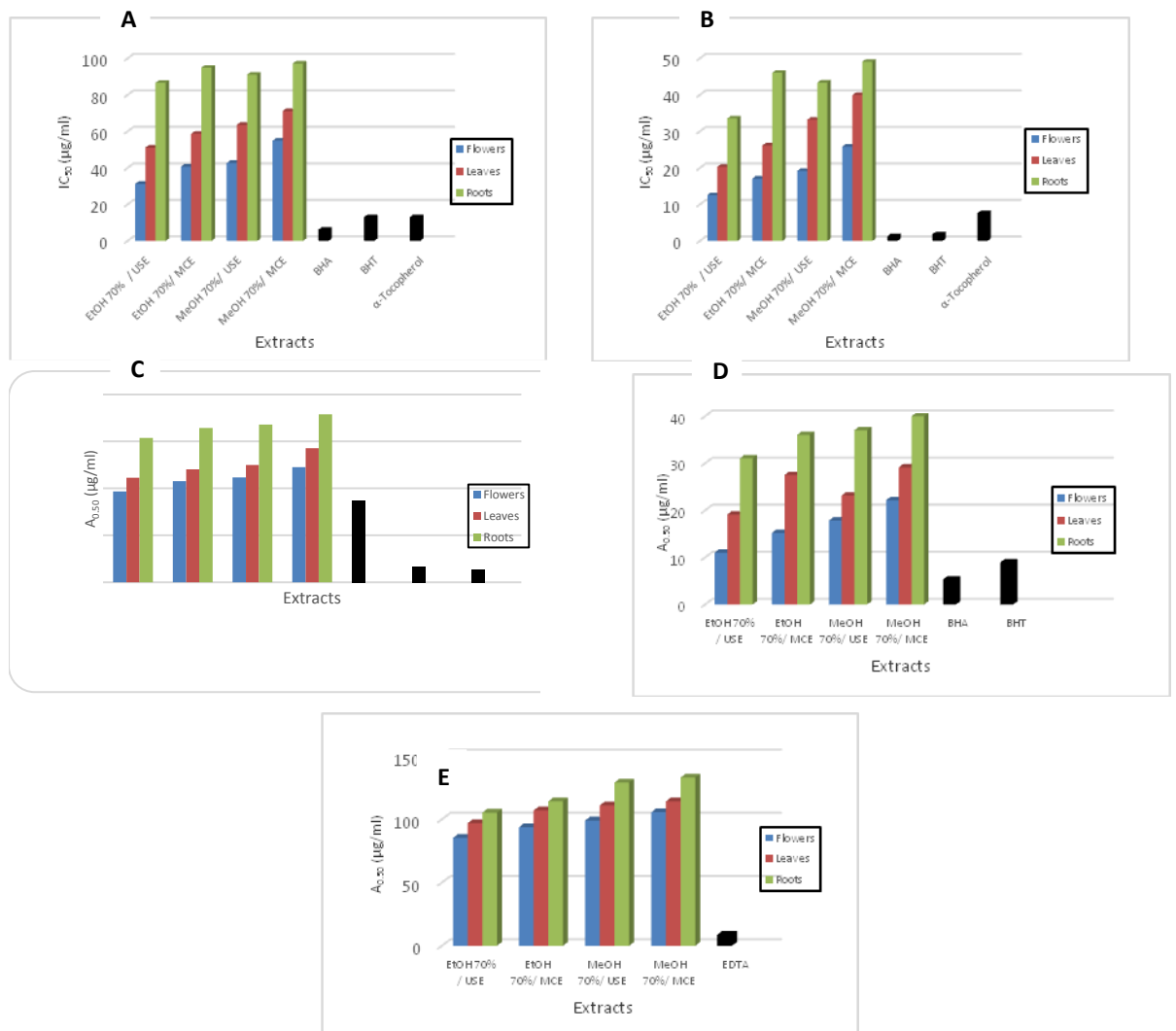
### VI.4.3.1. Extraits de *Linaria pinifolia* (Poir.)

L'impact de la méthode d'extraction et du solvant(extraction assistée par ultrasons et extraction conventionnelle ou macération) sur l'activité antioxydante a été déterminé. Les résultats de cette dernière (IC<sub>50</sub> et A<sub>0.50</sub>) sont rassemblés à (**tableau VI.6**) et représentés par la (**figure VI.3**).

**Tableau VI.6 :** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité antioxydante de *Linaria pinifolia*.

Parties / Solvant / Méthode		DPPH	ABTS	pouvoir réducteur	CUPRAC	bêta-carotène
Fleurs Feuilles Racines	EtOH (70%)/USE	27.55 ± 0.19 <sup>de</sup>	09.23 ± 1.17 <sup>de</sup>	28.79 ± 1.23 <sup>e</sup>	06.87 ± 1.22 <sup>f</sup>	85.34 ± 1.15 <sup>d</sup>
		47.91 ± 1.29 <sup>cd</sup>	16.15 ± 0.15 <sup>cd</sup>	37.03 ± 0.74 <sup>dc</sup>	14.27 ± 1.66 <sup>de</sup>	97.014 ± 1.85 <sup>c</sup>
		79.61 ± 0.33 <sup>ab</sup>	29.89 ± 1.92 <sup>b</sup>	54.81 ± 1.02 <sup>b</sup>	25.13 ± 0.08 <sup>b</sup>	105.32 ± 0.70 <sup>bc</sup>
Fleurs Feuilles Racines	EtOH (70%)/MCE	40,70 ± 1,95 <sup>d</sup>	17,09 ± 1,44 <sup>d</sup>	43,13 ± 1,22 <sup>dc</sup>	15,20 ± 1,30 <sup>e</sup>	93,88 ± 1,08 <sup>cd</sup>
		58,74 ± 0,25 <sup>c</sup>	26,16 ± 1,80 <sup>c</sup>	48,09 ± 1,07 <sup>c</sup>	27,52 ± 0,71 <sup>cd</sup>	107,10 ± 1,11 <sup>bc</sup>
		94,88 ± 0,10 <sup>a</sup>	46,03 ± 1,32 <sup>a</sup>	65,79 ± 1,48 <sup>ab</sup>	36,05 ± 0,19 <sup>bc</sup>	114,33 ± 1,91 <sup>ab</sup>
Fleurs Feuilles Racines	MeOH (70%)/USE	43,16 ± 0,37 <sup>d</sup>	15,13 ± 1,51 <sup>cd</sup>	35,04 ± 0,97 <sup>c</sup>	11,21 ± 1,12 <sup>de</sup>	99,10 ± 2,03 <sup>c</sup>
		60,13 ± 0,57 <sup>bc</sup>	22,17 ± 1,44 <sup>b</sup>	45,19 ± 1,38 <sup>bc</sup>	18,22 ± 0,71 <sup>d</sup>	111,034 ± 1,77 <sup>b</sup>
		91,07 ± 0,17 <sup>a</sup>	40,19 ± 1,25 <sup>a</sup>	63,96 ± 1,11 <sup>a</sup>	29,98 ± 2,02 <sup>b</sup>	129,14 ± 1,68 <sup>ab</sup>
Fleurs Feuilles Racines	MeOH (70%)/MCE	54,95 ± 0,22 <sup>c</sup>	25,83 ± 1,67 <sup>c</sup>	49,07 ± 0,67 <sup>bc</sup>	22,16 ± 1,26 <sup>cd</sup>	105,66 ± 1,37 <sup>bc</sup>
		71,19 ± 0,91 <sup>b</sup>	39,96 ± 1,07 <sup>ab</sup>	57,12 ± 0,91 <sup>b</sup>	29,14 ± 1,13 <sup>c</sup>	114,28 ± 1,28 <sup>ab</sup>
		97,22 ± 1,02 <sup>a</sup>	49,08 ± 1,51 <sup>a</sup>	71,62 ± 0,39 <sup>a</sup>	40,00 ± 0,97 <sup>a</sup>	133,11 ± 1,16 <sup>a</sup>
	BHA	6,14 ± 0,41	1,29 ± 0,30	-	5,35 ± 0,71	0,90 ± 0,02
	BHT	12,99 ± 0,41	1,81 ± 0,10 <sup>f</sup>	-	8,97 ± 3,94	22,32 ± 1,19
Standards	α-Tocopherol	13,02 ± 5,17	7,59 ± 0,53 <sup>e</sup>	34,93 ± 2,38	-	01,79 ± 0,03
	Acide ascorbique	-	-	6,77 ± 1,15	-	52,59 ± 1,98
	Acide tannique	-	-	5,39 ± 0,91	-	07,46 ± 0,26

Une analyse de régression linéaire estimée pour IC<sub>50</sub> et A<sub>0.50</sub>, a été exprimée en moyenne ± ET (n = 3). Les valeurs dans les mêmes colonnes sont différences significatives (P < 0,05) ; BHA : hydroxyanisole butylé ; BHT : hydroxytoluène butylé ; Acide tannique..



**Figure VI.3 :** Capacité antioxydante de différents extraits de *Linaria pinifolia* exprimée en IC<sub>50</sub> et A<sub>0.50</sub> selon les tests DPPH (A) ; ABTS (B) ; Pouvoir réducteur (C) ; CUPRAC (D) et bêta-carotène (E).

Les résultats ont montré que l'extraction assistée par ultrasons est encore dominante par rapport à la méthode d'extraction par macération. Cela est valable au niveau de tous les organes de la plante (présence de différences importantes ( $p < 0,05$ )). Ces derniers (feuilles, fleurs, racines) ont une activité antioxydante conséquente par rapport aux standards antioxydants testés (Acide ascorbique, Acide tannique; BHA,  $\alpha$ -tocophérol, BHT ).

L'étude de l'activité antioxydante par des différents tests (ABTS, DPPH, CUPRAC, pouvoir réducteur et essai de blanchiment  $\beta$ -carotène essai) nous a permis de constater l'existence d'une corrélation linéaire entre la teneur en polyphénols et en flavonoïdes avec l'activité antioxydante, cette observation a été déjà signalée dans plusieurs travaux [12, 13]. On voit aussi que les valeurs les plus élevés ont été enregistré dans les extraits issus de l'extraction assistée par ultrasons [14]. Par conséquent, on peut dire que la méthode d'extraction contrôle bien la valeur de l'activité antioxydante.

#### VI.4.3.2. Extraits de *C. suffruticosa boissieri*

Cinq approches ont été utilisées pour étudier l'activité antioxydante de l'huile essentielle (HE) et des extraits de diverses sections de *C. suffruticosa boissieri* à savoir : ABTS, CUPRAC, DPPH, pouvoir réducteur et essai de la bêta-carotène. Les résultats des valeurs IC<sub>50</sub> et A<sub>0,50</sub> sont regroupés dans le (tableau VI.7).

**Table VI.7** : Capacités antioxydantes de l'huile essentielle et des extraits de *C. suffruticosa boissieri*.

Solvant	Parties	DPPH	ABTS	Reducing power	CUPRAC	bêta-carotène
	H.E	13,28 ± 1,31	22,25 ± 1,01	17,41 ± 2,06	7,11 ± 0,08	27,51 ± 1,08
EtOH (70%)	Fleurs	31,25 ± 0,89 <sup>a</sup>	12,55 ± 0,85 <sup>a</sup>	38,74 ± 1,95 <sup>a</sup>	11,02 ± 0,88 <sup>a</sup>	28,34 ± 1,15 <sup>a</sup>
	Feuilles	51,11 ± 1,79 <sup>bc</sup>	20,30 ± 0,69 <sup>b</sup>	44,60 ± 0,06 <sup>ab</sup>	19,13 ± 1,13 <sup>b</sup>	47,014 ± 1,85 <sup>bc</sup>
	Racines	86,68 ± 0,39 <sup>d</sup>	33,55 ± 1,05 <sup>bc</sup>	61,53 ± 2,52 <sup>d</sup>	31,07 ± 0,54 <sup>d</sup>	65,32 ± 0,70 <sup>cd</sup>
MeOH (70%)	Fleurs	42,76 ± 0,87 <sup>b</sup>	19,22 ± 1,16 <sup>b</sup>	44,63 ± 0,52 <sup>ab</sup>	17,86 ± 1,07 <sup>b</sup>	37,10 ± 2,03 <sup>b</sup>
	Feuilles	63,65 ± 0,04 <sup>cd</sup>	33,21 ± 1,10 <sup>bc</sup>	50,03 ± 1,18 <sup>bc</sup>	23,18 ± 0,54 <sup>c</sup>	55,034 ± 1,77 <sup>bc</sup>
	Racines	91,13 ± 0,79 <sup>e</sup>	43,37 ± 2,10 <sup>c</sup>	67,19 ± 172 <sup>dc</sup>	37,04 ± 0,81 <sup>dc</sup>	73,14 ± 1,68 <sup>d</sup>
Standards	BHA	6,14 ± 0,41	1,29 ± 0,30	-	5,35 ± 0,71	0,90 ± 0,02
	BHT	12,99 ± 0,41	1,81 ± 0,10	-	8,97 ± 3,94	22,32 ± 1,19
	$\alpha$ -Tocopherol	13,02 ± 5,17	7,59 ± 0,53	34,93 ± 2,38	-	01,79 ± 0,03
	Acide ascorbique	-	-	6,77 ± 1,15	-	52,59 ± 1,98
	Acide tannique	-	-	5,39 ± 0,91	-	07,46 ± 0,26

Une analyse de régression linéaire estimée pour IC<sub>50</sub> et A<sub>0,50</sub> a été exprimée en moyenne ± Et (n = 3). Différents exposants (a–e) dans la même colonne indiquent des différences notables entre les extraits testés (p < 0,05). BHA : butylatedhydroxyanisole, BHT : butylatedhydroxytoluene ; Acide tannique.

On démontre que le type de solvant qui est utilisé pour l'extraction a un effet significatif sur l'activité antioxydante (évaluée par les cinq tests) des différentes parties de la plante. Sachant que les valeurs les plus importantes ont été observées dans l'extrait (éthanol-eau 70%).

Il est à signaler que l'huile essentielle de cette plante possède une forte activité antioxydante et réductrice qui dépasse celle des standards (acide ascorbique, BHA, BHT,  $\alpha$ -tocophérol, Acide tannique) [15].

#### VI.4.3.3. Extraits de *Rumex aristidis* Coss

Les valeurs IC<sub>50</sub> et A<sub>0.50</sub> sont consignées dans le (tableau VI.8).

**Table VI.8 :** Capacités antioxydantes des extraits de *Rumex aristidis*.

Solvant	Parties	DPPH	ABTS	Reducing power	CUPRAC	bêta-carotène
EtOH (70%)	Feuilles	101,11 ± 1,79 <sup>bc</sup>	80,30 ± 0,69 <sup>b</sup>	148,60 ± 0,06 <sup>ab</sup>	91,13 ± 1,13 <sup>b</sup>	77,014 ± 1,85 <sup>bc</sup>
	Racines	86,68 ± 0,39 <sup>d</sup>	53,55 ± 1,05 <sup>bc</sup>	101,53 ± 2,52 <sup>d</sup>	81,07 ± 0,54 <sup>d</sup>	62,32 ± 0,70 <sup>cd</sup>
MeOH (70%)	Feuilles	93,65 ± 0,04 <sup>cd</sup>	83,21 ± 1,10 <sup>bc</sup>	100,03 ± 1,18 <sup>bc</sup>	83,18 ± 0,54 <sup>c</sup>	65,034 ± 1,77 <sup>bc</sup>
	Racines	81,13 ± 0,79 <sup>e</sup>	73,37 ± 2,10 <sup>c</sup>	97,19 ± 172 <sup>dc</sup>	77,04 ± 0,81 <sup>dc</sup>	63,14 ± 1,68 <sup>d</sup>
Standards	BHA	6,14 ± 0,41	1,29 ± 0,30	-	5,35 ± 0,71	0,90 ± 0,02
	BHT	12,99 ± 0,41	1,81 ± 0,10	-	8,97 ± 3,94	22,32 ± 1,19
	$\alpha$ -Tocopherol	13,02 ± 5,17	7,59 ± 0,53	34,93 ± 2,38	-	01,79 ± 0,03
	Acide ascorbique	-	-	6,77 ± 1,15	-	52,59 ± 1,98
	Acide tannique	-	-	5,39 ± 0,91	-	07,46 ± 0,26

Comme on peut le voir d'après ces résultats, le type du solvant d'extraction a un effet significatif sur l'activité antioxydante déterminé par les différents tests. C'est dans l'extraction hydro-éthanolique que les valeurs ont été les plus élevés.

On trouve également que nos extraits donnent des valeurs plus grandes que celles des antioxydants standards utilisés pour le contrôle.

#### VI.4.4. Activité inhibitrice des enzymes

Les métabolites végétaux secondaires et les composés phénoliques en particulier sont l'une des sources les plus importantes d'inhibition de l'activité enzymatique, et cela a été décrit dans de nombreuses études [16, 17], car il promet l'activité intense des enzymes (AChE, BChE,  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glucosidase) qui est l'une des causes de la maladie d'Alzheimer et du diabète de type 2 respectivement [18, 19]. Dans ce contexte, nous avons étudié les effets du changement du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité d'inhibition enzymatique.

##### VI.4.4.1. Extraits de *Linaria pinifolia* (Poir.)

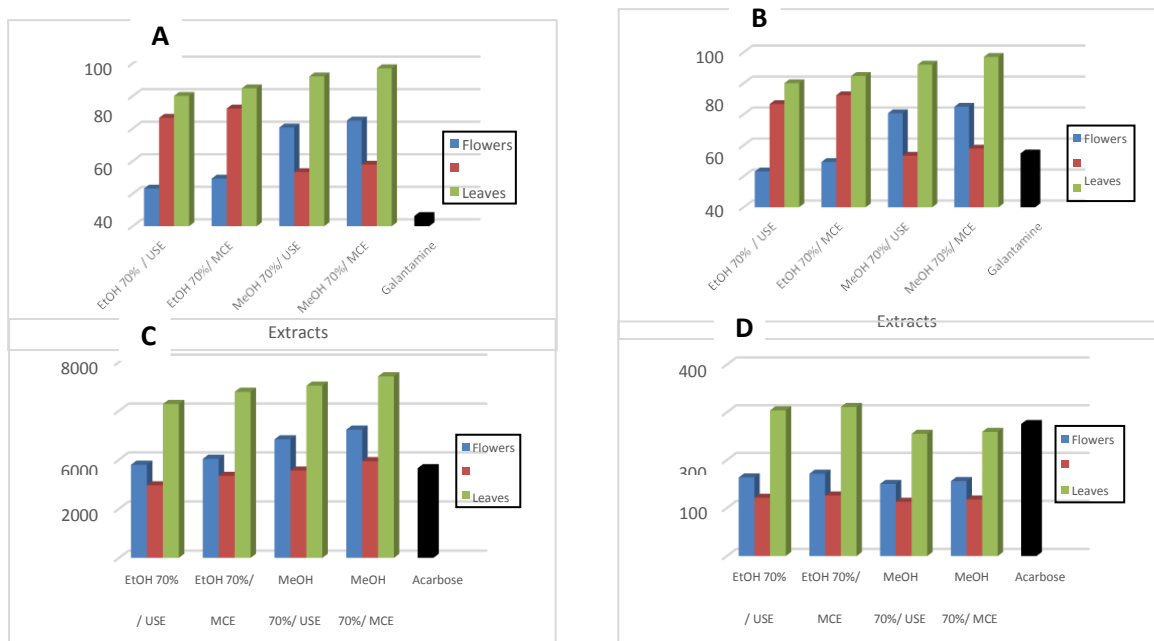
L'effet du solvant et de la méthode d'extraction (ultrasons et macération) sur l'activité d'inhibition enzymatique des différentes parties de la plante a été étudié. (tableau VI.9) présentées les valeurs des IC<sub>50</sub>, et illustrés par la (figure VI.4).

**Tableau VI.9 :** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité d'inhibition enzymatique des différents organes de *Linaria pinifolia*.

Parties / Solvant / Méthode		AChE	BChE	$\alpha$ -Amylase	$\alpha$ -Glucosidase
Fleurs	EtOH (70%) / USE	23,10 ± 0,06 <sup>e</sup>	38,50 ± 0,23 <sup>e</sup>	3790,62 ± 0,18 <sup>ef</sup>	163,64 ± 1,43 <sup>cd</sup>
Feuilles		66,57 ± 0,51 <sup>cd</sup>	71,41 ± 2,53 <sup>d</sup>	2950,01 ± 0,59 <sup>g</sup>	121,34 ± 1,32 <sup>e</sup>
Racines		80,04 ± 0,31 <sup>bc</sup>	109,32 ± 0,36 <sup>ab</sup>	6276,11 ± 0,42 <sup>cd</sup>	304,14 ± 0,47 <sup>ab</sup>
Fleurs	EtOH (70%) / MCE	29,22 ± 2,53 <sup>de</sup>	46,00 ± 1,18 <sup>de</sup>	4033,07 ± 0,65 <sup>e</sup>	171,36 ± 1,44 <sup>c</sup>
Feuilles		72,26 ± 0,25 <sup>c</sup>	79,04 ± 0,79 <sup>c</sup>	3337,51 ± 1,97 <sup>ef</sup>	126,12 ± 1,33 <sup>ed</sup>
Racines		84,69 ± 1,43 <sup>b</sup>	114,60 ± 0,66 <sup>a</sup>	6776,65 ± 0,88 <sup>d</sup>	311,09 ± 0,88 <sup>a</sup>
Fleurs	MeOH (70%) / USE	60,63 ± 1,07 <sup>d</sup>	87,28 ± 2,11 <sup>c</sup>	4830,24 ± 1,39 <sup>de</sup>	150,14 ± 0,31 <sup>d</sup>
Feuilles		33,21 ± 0,97 <sup>de</sup>	56,63 ± 1,00 <sup>de</sup>	3553,72 ± 0,72 <sup>fg</sup>	113,07 ± 1,10 <sup>f</sup>
Racines		92,03 ± 0,95 <sup>ab</sup>	98,61 ± 1,36 <sup>bc</sup>	7026,40 ± 2,10 <sup>b</sup>	254,77 ± 0,61 <sup>bc</sup>
Flowers	MeOH (70%) / MCE	64,87 ± 1,00 <sup>cd</sup>	94,73 ± 1,42 <sup>bc</sup>	5226,34 ± 1,57 <sup>d</sup>	156,09 ± 1,40 <sup>cd</sup>
Feuilles		37,81 ± 0,01 <sup>d</sup>	61,05 ± 2,19 <sup>cd</sup>	3935,22 ± 1,13 <sup>e</sup>	117,82 ± 1,66 <sup>ef</sup>
Racines		97,02 ± 0,36 <sup>a</sup>	106,80 ± 0,23 <sup>ab</sup>	7410,29 ± 1,73 <sup>a</sup>	258,92 ± 0,42 <sup>b</sup>
Standards	Galantamine	6,27 ± 1,15	34,75 ± 1,99	-	-
	Acarbose	-	-	3650,93 ± 10,70	275,43 ± 1,59

Les valeurs sont représentées comme les moyennes ± SD de trois mesures parallèles. ; AChE : acétylcholinestérase ; BChE : butyrylcholinestérase. Différentes lettres (a - e) dans la même colonne Indique des différences statistiquement significatives entre les extraits testés (P < 0,05).





**Figure VI.4 :** Activité d'inhibition enzymatique de différentes parties de *Linaria pinifolia* : (A) AChE ; (B) BChE ; (C)  $\alpha$ -Amylase (D)  $\alpha$ -Glucosidase

On constate d'après ces résultats que l'activité anticholinestérase (AChE et BChE) des extraits traités par les ultrasons est beaucoup importante que celle qui a été traitée par macération. On note également que l'extrait (eau-méthanol 70%) des feuilles est meilleur que l'extrait (eau-éthanol 70%). Cette différence a été observée dans les deux méthodes d'extraction. De plus, les valeurs de l'activité anticholinestérasique des fleurs et des feuilles restent meilleures que celles des racines dans les deux extraits.

En termes d'activité anti-enzymatique (alpha-Amylase et alpha-Glucosidase), nous n'avons observé aucun changement dans les résultats de l'activité des anti- alpha-Amylase et alpha-Glucosidase mais dans les extraits obtenue par ultrasons, qui étaient les meilleures en termes d'activité biologique par rapport à leurs homologues traités par macération.

Cependant, ce qui est impressionnant, c'est que tous les extraits des différentes parties de la plante, qu'ils soient obtenus par ultrasons ou macération, ont donné une meilleure capacité inhibitrice à l'enzyme  $\alpha$ -Amylase que l'enzyme  $\alpha$ -Glucosidase. Ils ont aussi un pouvoir inhibiteur de l'alpha-glucosidase plus important que celui de l'alpha-amylase et l'acarbose.

On constate que l'extrait hydro-méthanolique des feuilles, obtenu par extraction assistée par ultrasons est l'extrait le plus fort, avec une valeur d'IC<sub>50</sub> égale à (113,07  $\mu$ g/ml).

Plusieurs chercheurs ont déjà utilisé les ultrasons afin d'augmenter l'efficacité de l'extraction des composés naturels végétaux [20, 21], et par conséquent obtenir une grande efficacité d'activité enzymatique inhibitrice, c'est ce qui a été confirmé par cette étude.

#### VI.4.4.2. Les extraits de *C. suffruticosa. boissieri*

Dans cette étude, l'activité cholinestérase des divers extraits et de l'huile essentielle de *C. suffruticosa. boissieri* a été classée comme suit : élevée (> 50%), moyenne (30–50%), faible ou inactive < 30% [22].

Le **tableau VI.10** suivant récapitule tous les résultats de l'évaluation de l'activité anti-enzymatique des divers extraits et de l'huile essentielle de *C. suffruticosa. boissieri*.

Les valeurs sont représentées comme les moyennes  $\pm$  SD de trois mesures parallèles. Différents exposants (a–e) dans la même colonne indiquent des différences notables entre les extraits testés ( $p < 0,05$ ). AChE : acétylcholinestérase ; BChE : butyrylcholinestérase.

**Tableau VI.10** : Propriétés inhibitrices enzymatiques de l'huile essentielle et des extraits de *C. suffruticosa. boissieri*.

Solvant	Parties	AChE	BChE	$\alpha$ -Amylase	$\alpha$ -Glucosidase
	Huile essentielle	1,25 $\pm$ 0,46	2,01 $\pm$ 0,38	33,15 $\pm$ 1,18	25,02 $\pm$ 1,73
	Fleurs	21,050 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	28,50 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	25,62 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	13,64 $\pm$ 1,43 <sup>a</sup>
EtOH (70%)	Feuilles	36,57 $\pm$ 0,51 <sup>bc</sup>	31,41 $\pm$ 2,53 <sup>ab</sup>	29,01 $\pm$ 0,59 <sup>ab</sup>	17,34 $\pm$ 1,32 <sup>ab</sup>
	Racines	77,04 $\pm$ 0,31 <sup>d</sup>	69,32 $\pm$ 0,36 <sup>d</sup>	52,11 $\pm$ 0,42 <sup>d</sup>	36,14 $\pm$ 0,47 <sup>c</sup>
	Fleurs	30,63 $\pm$ 1,07 <sup>b</sup>	37,28 $\pm$ 2,11 <sup>b</sup>	38,24 $\pm$ 1,39 <sup>c</sup>	21,14 $\pm$ 0,31 <sup>b</sup>
MeOH (70%)	Feuilles	47,21 $\pm$ 0,97 <sup>c</sup>	46,63 $\pm$ 1,00 <sup>c</sup>	35,72 $\pm$ 0,72 <sup>bc</sup>	29,07 $\pm$ 1,10 <sup>bc</sup>
	Racines	81,05 $\pm$ 0,95 <sup>e</sup>	78,61 $\pm$ 1,36 <sup>e</sup>	67,40 $\pm$ 2,10 <sup>e</sup>	44,77 $\pm$ 0,61 <sup>d</sup>
Standards	Galantamine	6,27 $\pm$ 1,15	34,75 $\pm$ 1,99	-	-
	Acarbose			36,50 $\pm$ 0,10	27,54 $\pm$ 1,59

L'huile essentielle à la plus grande action anticholinergique (1,25  $\mu$ g/ml pour l'AChE et 2,01  $\mu$ g/ml pour l'BChE), mieux que le contrôle positif glutamine (6,25  $\mu$ g/ml et 34,75  $\mu$ g/ml respectivement). Cela est dû certainement à la présence des monoterpènes, des sesquiterpènes, des diterpènes,... etc. qui sont les composants responsables de cette activité.

On s'aperçoit que les extraits (éthanol-eau 70%) ont une capacité à inhiber les enzymes cholinestérases beaucoup supérieure que les extraits (méthanol-eau 70%). Cela a déjà été signalé dans d'autres plantes de la même famille de calendula [16].

D'autre part, les résultats de cette enquête ont révélé que l'extrait hydrométhanolique des fleurs possède une inhibition substantielle, similaire à celle de l'huile essentielle. De plus, l'extrait hydro-éthanolique des feuilles officinales ont une action inhibitrice de l'amylase [23, 24]. Sachant aussi que l'extrait des fleurs a inhibé l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase à des concentrations de 13,64  $\mu$ g/ml et 25,62  $\mu$ g/ml, respectivement.

#### VI.4.4.3. Les extraits de *Rumex aristidis* Coss

Nous avons évalué l'anti-activité des enzymes suivantes (AChE, BuChE,  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase) déterminée pour différents extraits de *Rumex aristidis*. Le tableau VI.11 récapitule les résultats de cette étude.

Les valeurs sont représentées comme les moyennes  $\pm$  SD de trois mesures parallèles. Différents exposants (a–e) dans la même colonne indiquent des différences notables entre les extraits testés ( $p < 0,05$ ). AChE : acétylcholinestérase ; BChE : butyrylcholinestérase.

**Tableau VI.11** : Propriétés inhibitrices enzymatiques des extraits de *Rumex aristidis* Coss.

solvant	parties	AChE	BChE	$\alpha$ -Amylase	$\alpha$ -Glucosidase
EtOH (70%)	Feuilles	136,52 $\pm$ 0,51 <sup>bc</sup>	131,41 $\pm$ 2,53 <sup>ab</sup>	109,01 $\pm$ 0,59 <sup>ab</sup>	146,34 $\pm$ 1,32 <sup>ab</sup>
	Racines	17,14 $\pm$ 0,31 <sup>d</sup>	10,32 $\pm$ 0,36 <sup>d</sup>	12,11 $\pm$ 0,42 <sup>d</sup>	39,14 $\pm$ 0,47 <sup>c</sup>
MeOH (70%)	Feuilles	147,21 $\pm$ 0,97 <sup>c</sup>	142,63 $\pm$ 1,00 <sup>c</sup>	115,41 $\pm$ 0,72 <sup>bc</sup>	152,07 $\pm$ 1,10 <sup>bc</sup>
	Racines	81,05 $\pm$ 0,95 <sup>e</sup>	78,61 $\pm$ 1,36 <sup>e</sup>	17,40 $\pm$ 2,10 <sup>e</sup>	44,77 $\pm$ 0,61 <sup>d</sup>
Standards	Galantamine	6,27 $\pm$ 1,15	34,75 $\pm$ 1,99	-	-
	Acarbose	-	-	36,50 $\pm$ 0,10	27,54 $\pm$ 1,59

L'extraction hydroéthanolique de la fraction racinaire a permis d'obtenir le meilleur effet, La capacité d'inhibition de cet extrait était meilleure que celle de l'acarbose, un médicament antidiabétique.. (La valeur IC<sub>50</sub> de cet extrait est beaucoup meilleure que celle de l'Acarbose). Nous constatons que les autres extraits étudiés sont généralement non inhibiteurs de l'AChE, BuChE et l' $\alpha$ -glucosidase.

## VI.4.5. Activité anti-microbienne des plantes

Dans cette partie de travail, On n'a évalué l'activité antimicrobienne que pour les extraits riches en polyphénols.

### VI.4.5.1. Les extraits de *Linaria pinifolia* (Poir.)

La capacité antibactérienne de *Linaria pinifolia* de différentes parties des extraits ont été étudiées à l'aide des valeurs de la concentration minimale inhibitrice et la concentration bactéricide minimale. Les résultats sont consignés dans le **tableau VI.12** suivant :

**Tableau VI.12 :** Valeurs de l'activité antimicrobienne de différents extraits de *Linaria pinifolia* (Poir.)

Souches de microbes	parties	EtOH (70%)	MeOH (70%)	Standards
				(Gentamycine/Chloramphénicol)
MIC / MBC				
<i>E. coli</i> ATCC 25922	F	8,5/12	6 / 10	0,5 / 1,5
	L	11 / 14	22 / 12	
<i>P. aeruginosa</i>	F	1,5 / 5	5,5 / 17	6 / 10
	L	09 / 10	10,5/15	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	F	1,5 / 2,5	3 / 4	8 / 12
	L	17 / 14	7 / 5	
<i>S. thyphimurium</i>	F	16 / 22	10,5 / 15	10 / 14
	L	7 / 13	6 / 9	
<i>S. aureus</i>	F	19 / 23	14 / 29	7 / 11
	L	18 / 25	13 / 24	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	F	6 / 3,5	4 / 2,5	3 / 7
	L	33 / 38	44 / 37	
<i>Candida albicans</i>	F	13/ 5	19/ 10	-
	L	8/6	3 / 5	

MBC signifie Concentration bactéricide minimale ( $\mu\text{g/mL}$ ), tandis que MIC signifie Concentration minimale inhibitrice ( $\mu\text{g/mL}$ ) ; F : Fleurs ; L : Feuilles.

Les résultats montrent l'activité antimicrobienne de *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella thyphimurium* (Gram négatif), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* (Gram positif), et *Candida albicans*. Les différents extraits inhibent la croissance des microbes en fonction de la sensibilité de la souche et de la concentration de l'échantillon. Sur la base des résultats, pour les souches bactériennes,  $8\mu\text{g/mL}$  pour *Candida albicans*, car elles sont

supérieure à la gentamicine (1 µg/mL dans MIB). D'autre part, les extraits d'éthanol-eau (70%) des différentes parties de la plante ont une bonne activité antibactérienne contre les germes *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et aussi la *Candida albicans*. Bien mieux que les extraits méthanol-eau (70%), nous soulignons que l'extrait des fleurs éthanol-eau (70%) a montré une activité plus élevée que le reste des extraits et la gentamicine dans les cas suivants : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa*.

#### VI.4.5.2. Les extraits de *C. suffruticosa boissieri*.

Nous regroupons les résultats de cette dans le **tableau VI.13** :

**Tableau VI.13** : Valeurs d'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits de *C. suffruticosa boissieri*.

Souches de microbes	Huile essentielle	parties	EtOH (70%)	MeOH (70%)	Standards (Gentamycine/Chloramphénicol)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1,5 / 4	F	4,5 / 8	6 / 10	0,5 / 1,5
		L	10 / 14	15 / 18	
		R	17 / 25	22 / 30	
<i>P. aeruginosa</i>	3 / 8	F	2,5 / 7	5,5 / 17	6 / 10
		L	19 / 27	20 / 33	
		R	33 / 42	55 / 71	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	2,5 / 7	F	14 / 21	28 / 31	8 / 12
		L	37 / 44	27 / 49	
		R	45 / 63	77 / 80	
<i>S. typhimurium</i>	2 / 6	F	6 / 10	10,5 / 15	10 / 14
		L	18 / 25	21 / 27	
		R	40 / 51	50 / 59	
<i>S. aureus</i>	0,5 / 2	F	3,5 / 8	4 / 11	7 / 11
		L	11 / 21	16 / 24	
		R	20 / 25	27 / 29	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1 / 3	F	14 / 19	17 / 22	3 / 7
		L	25 / 28	27 / 29	
		R	34 / 40	35 / 38	
<i>Candida albicans</i>	6 / 12	F	3 / 5	6 / 10	-
		L	15 / 17	16 / 18	
		R	20 / 23	25 / 28	

MBC signifie Concentration bactéricide minimale (µg/mL), tandis que MIC signifie Concentration minimale inhibitrice (µg/mL) ; F : Fleurs ; L : Feuilles ; R : Racines.

Comme le montre les résultats consignés dans le **tableau VI.13**, l'huile essentielle de cette plante inhibe bien le développement de toutes les souches testées, avec des valeurs de CMI de (1 à 3 µg /mL) pour la majorité des souches bactériennes (6 µg/mL pour *Candida albicans*) et des valeurs de MIB variant de (4 à 8 µg/mL), pour les souches bactériennes (12 µg/mL) pour (*Candida albicans*). On s'aperçoit également que nos extraits présentent des activités antibactériennes non négligeables et que les extraits éthanol-eau donnent toujours des résultats beaucoup meilleures que les extraits méthanol-eau. Signalant aussi que l'extrait éthanol-eau des fleurs dévoile une activité très élevée par rapport aux reste des extraits et même par rapport à la gentamycine vis-à-vis des souches suivantes : *Salmonella thymhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Staphylococcus aureus*.

Les différences majeures qui existent entre les activités antibactériennes de l'huile essentielle et les différents extraits de *C. suffruticosa. boissieri* provient probablement aux différences de la composition (quantité et type) des composés biologiquement actifs qui sont certainement concentrés dans l'huile essentielle comme il a été déjà rapporté dans des études antérieures [25, 26, 27].

#### VI.4.5.3. Extraits de *Rumex aristidis* Coss

**Tableau VI.14** : Valeurs d'activité antimicrobienne des extraits de *Rumex aristidis*

Souches de microbes	parties	EtOH	MeOH	Standards
		(70%)	(70%)	(Gentamicine/Chloramphénicol)
MIC / MBC				
<i>E. coli</i> ATCC 25922	L	1 / 3	2,5 / 2	0,5 / 1,5
	R	10 / 12	7 / 5	
<i>P. aeruginosa</i>	L	2,5 / 2,8	1 / 5	6 / 10
	R	12 / 14	55 / 71	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	L	4 / 8	0,5 / 1,5	8 / 12
	R	45 / 63	77 / 80	
<i>S. thyphimurium</i>	L	4 / 10	5 / 7	10 / 14
	R	13 / 9	14 / 10	
<i>S. aureus</i>	L	25 / 30	17 / 20	7 / 11
	R	37 / 40	47 / 67	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	L	3 / 7	2 / 5	3 / 7
	R	10 / 13	7 / 9	
<i>Candida albicans</i>	L	2 / 8	1 / 3	-
	R	25 / 30	18 / 28	

MBC signifie Concentration bactéricide minimale (µg/mL), tandis que MIC signifie Concentration minimale inhibitrice (µg/mL) ; L : Feuilles ; R : Racines.

L'extrait hydroéthanolique des feuilles exerce un effet antibactérien fort sur *P. aeruginosa* ATCC 27853 avec des valeurs de MIC et MBC égales à 4 et 8 µg / ml respectivement. En ce qui concerne l'extrait hydrométhanolique des feuilles, on s'aperçoit qu'il est plus actif sur cette même souche bactérienne avec des valeurs de MIC et MBC égales à 0.5 et 1.5 µg / ml respectivement.

26 espèces de plantes médicinales ont été testées contre les bactéries (N, Kazuhiko. 2022) [28], Par rapport aux extraits de *Rumex aristidis* Coss, ils ont découvert que l'*Escherichia coli* était la souche bactérienne la plus sensible. D'inhiber la croissance de *S. aureus* et *E. coli*. Les résultats obtenus indiquent que un grand effet bactericide l'extrait hydrométhanolique de feuilles sur *Staphylococcus aureus* ATCC 27 923 .Ceci explique la présence de différents métabolites secondaires, notamment ceux riches en groupements hydroxyyles [29].

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] S. Suwal, Technologies for the Extraction, Separation and Purification of polyphenols–A Review, 6(1) (2018) 74-91.
- [2] J. Kobus-Cisowska, Goryńska-Goldmann, M. Gazdecki, A. Telichowska, M.J.S. Ligaj, Variability of *Hordeum vulgare* L. cultivars , 12(5) (2020) 1938.
- [3] S. Saha, D. Sikdar, Phytochemical screening, phenolic content and antioxidant activity of wild date palm fruit extracted with different solvents, 24(6) (2017).
- [4] Q.D. Do, S. Ismadji, Y.-H. Ju, d. analysis, Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*, 22(3) (2014) 296-302.
- [5] I.A. Saleh, A possible general mechanism for ultrasound-assisted extraction (UAE) suggested from the results of UAE of chlorogenic acid from *Cynara scolymus* L. (artichoke) , 31 (2016) 330-336.
- [6] C. Wen, H. Ma, X. Luo, Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops–A review, 48 (2018) 538-549.
- [7] M. Abid, X. Zhang, X. Zeng, Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice, 20(5) (2013) 1182-1187.
- [8] M.N. Safdar, Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulata* L.) peel using ultrasound and maceration techniques, 25(3) (2017) 488-500.
- [9] S. Zazouli, A. Jouaiti, Effect of polar and nonpolar solvent on total phenolic and antioxidant activity of *Caralluma europaea*, 8(11) (2016) 191-196.
- [10] S. Basile, *incana* subsp. *maritima* and *Laserpitium siler* subsp. *siculum* essential oils against stored products pests, 27(3) (2022) 588.
- [11] G. Ak, A. Mollica, A.J.F. Stefanucci, F. Journal, Chemical composition and biological activities of essential oils from *Calendula officinalis* L. flowers and leaves, 36(5) (2021) 554-563.
- [12] N. Colak, Ayaz, Phenolic compounds and antioxidant capacity in different-colored and non-pigmented berries of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.), 20 (2017) 67-78.
- [13] P. Penpitcha, the anti-inflammatory activity, total phenolic content and antioxidant potential of Kalasin 2 cultivar peanut sprout crude extract, (2017).
- [14] Z. Pan, Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel, 18(5) (2011) 1249-1257.
- [15] R. Apak, S. Karademir, f. chemistry, and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, 52(26) (2004) 7970-7981.
- [16].A. Decker, f. Chemistry, Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food, 38(3) (1990) 674-677.
- [17].L. Ellman,V. Andres Jr, R. Featherstone, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, 7(2) (1961) 88-95.
- [18] Z. Samai. , Anti-Alzheimer, Anti-Diabetic, Anti-Tyrosinase, and Antimicrobial Properties of Essential Oils, 20(1) (2023) e202200620.



- [19] E. Deveci, M. Duru, Phenolic profile, antioxidant, anticholinesterase, and anti-tyrosinase activities of the various extracts of *Ferula elaeochytris* and *Sideritis stricta*, 21(1) (2018) 771-783.
- [20] S. Yadav, J. Bhatt, Antimicrobial activity of fresh garlic juice: An in vitro study, 36(2) (2015) 203.
- [21] A. Mehmood, Wang, Impact of ultrasound and conventional extraction techniques on bioactive compounds and biological activities of blue butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.), 51 (2019) 12-19.
- [22] H. Majid, F. Silva, B. Processing, Improvement of butyrylcholinesterase enzyme inhibition and medicinal properties of extracts of *Aristolelia serrata* leaves by ultrasound extraction, 124 (2020) 445-454.
- [23] B. Vinutha, M. Deepak, Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity, 109(2) (2007) 359-363.
- [24] G. Ak, A comparative bio-evaluation and chemical profiles of *Calendula officinalis* L. extracts prepared via different extraction techniques, 10(17) (2020) 5920.
- [25] H. Servi, V. Majeed, 'Antibacterial Activity of *Calendula arvensis* L', *Int. J. Second. Metab.* **2020**, 7, 229-236.
- [26] Z. Mennai, D. Pinto, 'Chemical ic, Cytotoxicity and Antimicrobial Potential o', *Chem. Biodiversity.* **2021**, 18, e2100278.
- [27] R. Belabbes, A. Muselli, 'Biodiversity, Chemical Variability, Antioxidant and Antifungal Activities of Essential Oils and Hydrosol Extract of *Calendula Arvensis* L. Algeria', *Chem. Biodiversity.* **2017**, 14, e1600482.
- [28] N. Kazuhiko, T. Gassinee, ALZOREKY, Najeeb S., *et mahanine*, isolated from *Micromelum minutum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, vol. 50, no 17, p. 4796-4802.
- [29] H. Falleh, C. Abdelly, Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, 331(5) (2008) 372[1] S. Suwal, Technologies for the Extraction, Separation and Purification of polyphenols—A Review. *Nepal Journal of Biotechnology*, 6(1) (2018) 74-91.
- [2] J. Kobus-Cisowska, Goryńska-Goldmann, M. Gazdecki, A. Telichowska, M.J.S. Ligaj, Variability of *Hordeum vulgare* L. cultivars in yield, antioxidant potential, and cholinesterase inhibitory activity. *Sustainability* 12(5) (2020) 1938.
- [3] S. Saha, D. Sikdar, Phytochemical screening, phenolic content and antioxidant activity of wild date palm (*Phoenix sylvestris* Roxb.) fruit extracted with different solvents. *International food research journal*, 24(6) (2017).
- [4] Q.D. Do, S. Ismadji, Y.-H. Ju, d. analysis, Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3) (2014) 296-302.
- [5] I.A. Saleh, A possible general mechanism for ultrasound-assisted extraction (UAE) suggested from the results of UAE of chlorogenic acid from *Cynara scolymus* L.(artichoke) leaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31 (2016) 330-336.

- [6] C. Wen, H. Ma, X. Luo, Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops—A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 48 (2018) 538-549.
- [7] M. Abid, X. Zhang, X. Zeng, Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(5) (2013) 1182-1187.
- [8] M.N. Safdar, , Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulata* L.) peel using ultrasound and maceration techniques. *Journal of food and drug analysis*, 25(3) (2017) 488-500.
- [9] S. Zazouli, A. Jouaiti, A. Effect of polar and nonpolar solvent on total phenolic and antioxidant activity of roots extracts of *Caralluma europaea*. *Der Pharma Chemica* 8(11) (2016) 191-196.
- [10] S. Basile, Chemical composition and evaluation of insecticidal activity of *Calendula incana* subsp. *maritima* and *Laserpitium siler* subsp. *siculum* essential oils against stored products pests. *Molecules*, 27(3) (2022) 588.
- [11] G. Ak, A. Mollica, A.J.F. Stefanucci, F. Chemical composition and biological activities of essential oils from *Calendula officinalis* L. flowers and leaves. *Flavour and Fragrance Journal*, 36(5) (2021) 554-563.
- [12] N. Colak, Ayaz, Phenolic compounds and antioxidant capacity in different-colored and non-pigmented berries of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). *Food Bioscience* 20 (2017) 67-78.
- [13] P. Penpitcha, LC-MS/MS profiles and interrelationships between the anti-inflammatory activity, total phenolic content and antioxidant potential of Kalasin 2 cultivar peanut sprout crude extract. *Food chemistry*, (2017).
- [14] Z. Pan, Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel." *Ultrasonics sonochemistry*, 18(5) (2011) 1249-1257.
- [15] R. Apak, S. Karademir, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry* 52(26) (2004) 7970-7981.
- [16].A. Decker, Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 38(3) (1990) 674-677.
- [17].L. Ellman,V. Andres Jr, R. Featherstone, Valentino, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2) (1961) 88-95.
- [18] Z. Samai. , Chemical Composition and in Vitro Antioxidant, Anti-Alzheimer, Anti-Diabetic, Anti-Tyrosinase, and Antimicrobial Properties of Essential Oils and Extracts Derived from Various Parts of the Algerian *Calendula Suffruticosa* Vahlsubsp. *boissieri* Lanza. *Chemistry & Biodiversity*, 20(1) (2023) e202200620.
- [19] E. Deveci, M. Duru, Phenolic profile, antioxidant, anticholinesterase, and anti-tyrosinase activities of the various extracts of *Ferula elaeochytris* and *Sideritis stricta*. *International journal of food properties*, 21(1) (2018) 771-783.

- [20] S. Yadav, J. Bhatt, Antimicrobial activity of fresh garlic juice: An in vitro study. *Ayu*, 36(2) (2015) 203.
- [21] A. Mehmood, . Wang, Impact of ultrasound and conventional extraction techniques on bioactive compounds and biological activities of blue butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.). *Ultrasonics sonochemistry*, 51 (2019) 12-19.
- [22] H. Majid, F. Silva, B. Improvement of butyrylcholinesterase enzyme inhibition and medicinal properties of extracts of *Aristolelia serrata* leaves by ultrasound extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 124 (2020) 445-454.
- [23] B. Vinutha, M. Deepak, Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2) (2007) 359-363.
- [24] G. Ak, comparative bio-evaluation and chemical profiles of *Calendula officinalis* L. extracts prepared via different extraction techniques. *Applied sciences*, 10(17) (2020) 5920.
- [25] H. Servi, V. Majeed, Antibacterial activity and essential oil composition of *Calendula arvensis* L. *International Journal of Secondary Metabolite*. **2020**, 7, 229–236.
- [26] I. Mennai, Chemical composition and antioxidant, antiparasitic, cytotoxicity and antimicrobial potential of the Algerian *Limonium oleifolium* mill. Essential oil and organic extracts. *Chemistry & Biodiversity*, **2021**, 18, e2100278.
- [27] R. Belabbes, A. Muselli, Chemical variability, antioxidant and antifungal activities of essential oils and hydrosol extract of *Calendula arvensis* L. from western Algeria. *Chemistry & biodiversity* **2017**, 14, e1600482.
- [28] N, Kazuhiko, T, Gassinee, ALZOREKY, Najeeb S., *Antimutagenicity of some edible Thai plants, and a bioactive carbazole alkaloid, mahanine, isolated from *Micromelum minutum*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, vol. 50, no 17, p. 4796-4802.*
- [29] H. Falleh, C. Abdelly, Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus biologies*, 331(5) (2008) 372-379.



**CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES**

## CONCLUSION

Durant cette thèse, nous voulions mettre en valeur des plantes typiquement algériennes à savoir : *Calendula. suffruticosa. boiserie*, *Linaria pinifolia* (Poir.) Thell et *Rumex aristidis* Coss . Les travaux de recherche ont tourné autour de deux axes d'investigation.

- Axe chimique

- Axe biologique

Dans le premier axe, divers extraits ont été prélevés au moyen d'une extraction classique et d'une extraction assistée par ultrasons. Nous avons quantifié les composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et flavonols totaux) et procédé à l'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant cinq tests (DPPH, ABTS, CUPRAC, pouvoir réducteur et essai de la bêta-carotène). On constate que l'extraction assistée par ultrasons donne toujours des résultats beaucoup meilleurs que l'extraction par macération. On démontre également que le type de solvant utilisé dans l'extraction a un effet significatif sur l'activité antioxydante (les valeurs les plus importantes ont été observées dans l'extrait hydro-éthanolique).

Signalant aussi que cette étude nous a permis de confirmer la corrélation linéaire qui existe entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante.

On note également, que l'huile essentielle de *C. suffruticosa. Boiserie*, possède une forte activité antioxydante et réductrice qui dépasse celle des standards (acide ascorbique, BHA, BHT,  $\alpha$ -tocophérol, Acide tannique). D'autre part, l'analyse chromatographique (GC-MS) de cette huile a été effectuée. En tout, 45 composés ont été identifiés (ce qui représente 98,01% de la composition de l'huile essentielle) : Les principaux constituants sont le méthyl-cyclohexane (23,73%), le limonène (25,02%), l'O-cymène (13,20%), le (E)-2-hexéanal (7,79%), le méthyl-cyclopentane (3,21%), le  $\beta$ -pinène (1,44%) et la verbénone (1,89%).

Concernant le second axe, L'effet du solvant et de la méthode d'extraction (ultrasons et macération) sur l'activité d'inhibition enzymatique et de l'activité antimicrobienne des différentes parties de la plante a été étudié. Globalement, des résultats positifs ont été obtenus :

- L'activité anticholinestérase des extraits provenant des extractions aux ultrasons est beaucoup importante que leurs homologues conventionnels. Le solvant hydro-éthanolique à 70%, s'est avéré être le solvant le plus efficace.

- Il apparaît que la majorité des extraits sont actifs à différents degrés et démontrent une activité en inhibant la croissance *in-vitro* de la plupart des micro-organismes testés.

On conclusion et sur la base des résultats trouvés, on peut dire que les plantes étudiées ont des activités biologiques très importantes et elles possèdent des potentiels thérapeutiques considérables et pourrait jouer un rôle primordial dans le traitement de quelques pathologies (diabète, maladie d'Alzheimer, antibactérien, .....).

Ce travail ouvre la voie à des études plus approfondies sur ces plantes, non reconnues comme médicinales. Dans l'avenir, il serait intéressant d'isoler et de caractériser les différents métabolites secondaires tout en essayant d'identifier les molécules bioactives c'est-à-dire celles qui sont responsables des différentes activités constatés.