



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Hassiba BEN BOUALI - Chlef-
Faculté des Sciences
Département de Biologie

THESE DE DOCTORAT LMD

Présentée par

Mr Mohammed CHEURFA

Spécialité:

Sciences Alimentaires et Nutrition

Option:

Nutrition humaine

Sujet:

**Intérêt des biomolécules d'origine végétale sur
la santé**

Soutenue publiquement le 05/11/ 2015 devant la commission d'examen

Membres du jury:

Président	: Professeur DILMI BOURAS A.	Université H.B.B.Chlef
Directeur	: Professeur ALLEM R.	Université H.B.B.Chlef
Examineur	: Professeur MEHDADI Z.	Université Sidi-Bel-Abbes
Examineur	: Professeur LATRECHE A.	Université Sidi-Bel-Abbes
Examineur	: Docteur CHADLI R.	Université Mostaganem
Examineur	: Docteur AICHOUNI A.	Université H.B.B.Chlef

Année universitaire: 2015/2016

الملخص

أظهرت المنتجات الطبيعية والمركبات الثانوية للنباتات إمكانات كبيرة في علاج الأمراض التي تصيب الإنسان مثل السرطان والسكري والأمراض المعدية. من أجل هذا كان الهدف من هذا العمل هو لاختبار النشاط المضاد للبكتيريا. نشاط مضادات الأكسدة من خلال خمس طرق مع تحديد محتوى الفينولات الكلية، الفلافونويد؛ تحديد التركيب الكيميائي باستخدام HPLC ، وكذلك دراسة النشاط المضاد للإلتهابات و المضاد لنسبة الكوليستيرول العالية في الدم، و أجريت هذه الدراسة على المستخلصات المائية والهيدروكحولية لأوراق الزعر الشائع ، اللوزة، الضرو، الزيتون و بذور الحلبة. تم العثور على أعلى محتوى من الفينولات الإجمالية والفلافونيدات مع المستخلص الهيدروكحولي لأوراق الضرو 97.26 ± 0.003 ملغ معادلة للأسيد غاليك / غ و 8.21 ± 0.008 ملغ معادلة للكارسيتين / غ، على التوالي. وأظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا على وجود نشاط معتدل ضد البكتيريا المدروسة حيث لم تتجاوز أقطار المناطق المثبطة 16.00 ملم. فيما يخص لنشاط المضاد للأكسدة أظهرت المستخلصات الهيدروكحولية نشاطا عاليا ($P < 0.05$) بالمقارنة مع المستخلصات المائية وهذا في اختبار DPPH ، تبييض β كاروتين، القدرة المضادة للأكسدة الإجمالية وطريقة FRAP. أما باستخدام أسلوب FTC، فإن المستخلصات المائية مارست أعلى نشاط ($P < 0.05$) ، حيث وجدت أعلى نسبة تثبيط للبيروكسيدات مع المستخلص المائي للزعر الشائع 0.00 ± 62.30 % *In vivo* ، فقد أثبتت المستخلصات من النباتات المختبرة نشاطا ضد الإلتهاب الناتج عن حقن الكاراجينان، وكذلك القدرة على خفض نسبة الكوليستيرول الكلي. الدهون الثلاثية و LDL من خلال إتباع نظام غذائي يحتوي على كمية مرتفعة من الكوليستيرول. في ضوء هذه النتائج، فإننا نقترح استخدام هذه النباتات أو مكوناتها في الوقاية من العديد من الأمراض.

مفاتيح البحث: المستخلصات النباتية، HPLC، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد

للإلتهابات، نشاط خفض الكوليستيرول.

Résumé

Les produits naturels et les métabolites secondaires ont montré un grand potentiel dans le traitement de maladies humaines telles que le cancer, le diabète et les maladies infectieuses. L'objectif de ce travail est de tester l'activité antibactérienne ; l'activité antioxydante par le biais de cinq méthodes avec la détermination de la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes ; la détermination de la composition chimique par HPLC et d'étudier l'activité anti-inflammatoire et hypocholestérolémiante (*in vivo*) des extraits aqueux et hydro-alcoolique des feuilles de *Thymus vulgaris*, d'*Aloysia triphylla*, de *Pistacia lentiscus*, d'*Olea europaea* et des graines de *Trigonella foenum-graecum*.

Les teneurs les plus élevées en phénols totaux (97.26 ± 0.003 mg Eq AG/ g) et en flavonoïdes (8.21 ± 0.008 mg Eq Q/ g) ont été trouvées avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *P. lentiscus*. Les résultats de l'activité antibactérienne ont montré des diamètres des zones d'inhibition ne dépassant pas 16.00 mm. Les extraits hydro-alcooliques montrent une activité antioxydante plus élevée ($P < 0,05$) par rapport aux extraits aqueux avec les quatre méthodes (test du DPPH, le blanchissement de la β -carotène, la capacité anti-oxydante totale et la méthode de FRAP). En revanche avec la méthode de FTC, les extraits aqueux exercent l'activité la plus élevée ($P < 0,05$) dont le pourcentage d'inhibition de la peroxydation le plus important a été trouvé avec l'extrait aqueux de *T. vulgaris* (62.30 ± 0.00 %). Les extraits des plantes testées ont montré *in vivo* une activité contre l'inflammation induite par l'injection de la carragénine, ainsi que la capacité de diminuer le cholestérol total, les triglycérides et les LDL dans le sang lors d'un régime riche en cholestérol. A la lumière de ces résultats, nous suggérons l'utilisation de ces plantes ou de leurs composants dans la prévention de plusieurs pathologies.

Mots clés : Extraits de plantes, HPLC, Activité antibactérienne, Activité antioxydante, Activité antiinflammatoire, Activité hypocholestérolémiante.

Abstract

Natural products and secondary metabolites showed great potential in the treatment of human diseases such as cancer, diabetes and infectious diseases. The objective of this work is to test the antibacterial activity; antioxidant activity through five methods to determine the content of total phenols, flavonoids; the determination of the chemical composition by HPLC and study the anti-inflammatory and hypocholesterolemic activity (*in vivo*) of aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Thymus vulgaris*, *Aloysia triphylla*, *Pistacia lentiscus*, *Olea europaea* leaves and *Trigonella foenum-graecum* seeds.

The highest levels of total phenols (97.26 ± 0.003 mg AG Eq / g) and flavonoids (8.21 ± 0.008 mg Q Eq / g) were found with the hydro-alcoholic extract of leaves of *P. lentiscus*. The results of antibacterial activity showed inhibition zone diameters of not more than 16.00 mm. The hydro-alcoholic extracts showed higher antioxidant activity ($P < 0.05$) compared to aqueous extracts with four methods (test of DPPH, bleaching of β -carotene, total antioxidant capacity and method of FRAP). In contrast with the FTC method, the aqueous extracts exert the highest activity ($P < 0.05$) the percentage of inhibition of the largest peroxidation was found with the aqueous extract of *T. vulgaris* ($62.30 \pm 0.00\%$). The extracts of the plants tested have showed *in vivo* an activity against inflammation induced by injection of carrageenan, and the ability to reduce total cholesterol, triglycerides and LDL in the blood at a high cholesterol diet. In light of these results, we suggest the use of these plants or their components in the prevention of several diseases.

Keywords: Plant extracts, HPLC, Antibacterial activity, Antioxidant activity, Anti-inflammatory activity, Hypocholesterolemic activity.

A mes parents qui ont béni mon désir d'apprendre et m'ont toujours encouragé, avec tout mon amour et ma reconnaissance pour être devenu ce que je suis.

A mes chers amis.

« Celui qui aura fait le bien de poids d'un atome, le verra »

Verset 7, Sourate « le tremblement de terre »

REMERCIEMENTS

Nous commençons par remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la volonté, l'amour du savoir et surtout le courage et la patience pour effectuer ce modeste travail.

Au cours des années passées à préparer ma thèse, j'ai eu la possibilité de vivre une expérience extrêmement enrichissante au niveau personnel et professionnel. Ceci, je le dois notamment aux nombreuses personnes qui m'ont entouré, encouragé et soutenu tout au long de cette épreuve, et pour lesquelles je tiens à exprimer toute ma gratitude.

Au professeur Rachida ALLEM, ma directrice de thèse, qui m'a permis de prendre part à cette collaboration et qui m'a guidé tout au long de cette aventure. Merci de votre confiance, patience, soutien, pour tous ces échanges enrichissants, et pour avoir partagé votre passion avec moi. Pour son soutien et sa grande générosité, qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude.

C'est un grand honneur pour moi de voir siéger dans mon jury de thèse le Professeur Abdelkader DILMI BOURAS. Je lui adresse mes respectueux remerciements pour avoir accepté de présider ce jury.

A Monsieur le professeur Zouheir MEHDADI, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et ma sincère reconnaissance pour l'honneur qu'il m'a fait de prendre de son temps précieux pour juger ce travail.

Mes remerciements vont aussi au membre du jury le Professeur Ali LATRECHE qui donnera à mon travail une valeur ajoutée à travers ses recommandations si importantes dont je serai très reconnaissant.

J'aimerais également remercier Docteur Rabah CHADLI pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, pour avoir accepté d'en être examinateur et surtout pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail.

Mes remerciements vont également au Docteur Ahmed AICHOUNI pour avoir accepté de se joindre à mon jury de thèse, je le remercie vivement pour son soutien et ses conseils précieux.

Je voudrais également exprimer ma gratitude à Monsieur Hacène MAHMOUDI, l'ex vice doyen chargé de la post-graduation et relations extérieures pour toute l'aide que vous m'avez apportée, les discussions fructueuses qu'on a eues, et votre grande gentillesse. Nul remerciement ne serait suffisant pour vous exprimer ma gratitude, mon amitié et mon profond respect.

J'adresse mes remerciements aux nombreuses personnes côtoyées dans les différentes équipes des laboratoires où j'ai réalisé les travaux de recherche de ma thèse. J'ai apprécié l'accueil, le soutien, l'amitié et/ou l'aide multiformes de chacun de vous. Je voudrais ici exprimer ma gratitude à toutes et à tous. A défaut de pouvoir adresser un mot à chacun, je remercie les membres de l'équipe «ANTIBIOTICAL-SAIDAL-MEDEA» : Mohamed BENOUNA, Imène NEGAB, Kheireddine BOUKHELKHAL.

J'adresse de sincères remerciements à Monsieur le Professeur Moulay Hassane GUERMOUCHE pour son aide, sa gentillesse et ses encouragements.

Mes chers amis, Merci d'être toujours là. Merci d'être des amis sincères, dévoués, soucieux des autres. Surtout, restez comme vous êtes. Très bonne continuation.

Enfin à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à ce travail ou étaient présentes lors de la thèse, je vous remercie du fond du cœur.

Tables des matières

Dédicaces

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

INTRODUCTION..... 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Pathologies infectieuses et chroniques..... 4

1/ Les maladies infectieuses..... 4

1-1/ Les infections urinaires..... 4

1-1-1/ Les germes responsables..... 4

1-2/ Les infections pulmonaires..... 5

1-2-1/ Les infections à *Pseudomonas aeruginosa*..... 5

1-2-2/ Abscess du poumon..... 5

1-3/ Les infections digestives..... 5

1-3-1/ L'infection à *Staphylococcus aureus*..... 5

1-3-2/ L'infection à *Salmonella typhi*..... 6

1-3-3/ L'infection à *Escherichia coli*..... 6

1-3-4/ L'intoxication à *Bacillus cereus*..... 7

1-3-5/ L'infection à *Helicobacter pylori*..... 8

1-3-5-1/ *Helicobacter pylori* et gastrite..... 8

1-3-5-2/ <i>Helicobacter pylori</i> et cancer gastrique.....	8
2/ Les maladies métaboliques.....	8
2-1/ Les maladies cardiovasculaires.....	8
2-1-1/ Les facteurs de risque.....	9
2-1-2/ Athérosclérose.....	9
2-1-3/ Formation de la plaque de l'athérosclérose.....	10
3/ Les maladies liées au stress oxydant.....	10
Chapitre II : Eléments bioactifs des plantes médicinales.....	12
1/ Les huiles essentielles.....	12
1-1/ Propriétés des huiles essentielles.....	12
1-1-1/Propriétés physiques.....	12
1-1-2/ Structure chimique des huiles essentielles.....	12
1-1-3/ Répartition des huiles essentielles dans la plante.....	12
1-2/ Facteurs de variation de la composition des huiles essentielles.....	13
1-3/ Différents procédés d'obtention.....	13
1-3-1/Huiles essentielles obtenues sans changement significatif de leur nature.....	14
1-3-2/Huiles essentielles obtenues avec changements significatifs de leur nature.....	14
2 / Les antioxydants.....	14
2-1/ Caractéristiques des antioxydants.....	14
2-2/ Les antioxydants naturels.....	15
2-2-1/ La vitamine C.....	15
2-2-2/ La vitamine E.....	15

2-2-3/ Le sélénium.....	16
2-2-4/ Le β -carotène.....	16
2-2-5/ Les flavonoïdes.....	16
2-2-6/ Les dérivés d'acides phénoliques.....	17
2-2-7/ Les tanins.....	18
2-2-8/ Les xanthones.....	18
2-2-9/ Les coumarines.....	18
3/ Description des plantes sélectionnées.....	19
3-1/ La plante <i>Thymus vulgaris</i> L.....	19
3-1-1/ La composition chimique.....	20
3-1-2/ Les propriétés pharmacologiques de <i>T. vulgaris</i>	20
3-2/ La plante <i>Aloysia triphylla</i> (L'Hérit.) Britton	21
3-2-1/ Les propriétés pharmacologiques d' <i>Aloysia triphylla</i> (L'Hérit.).....	22
3-3/ L'olivier (<i>Olea europaea</i>).....	22
3-3-1/ La composition chimique des feuilles d' <i>Olea europaea</i>	23
3-3-2/ Les propriétés pharmacologiques des feuilles d' <i>Olea europaea</i>	23
3-4/ La plante <i>Trigonella foenum-graecum</i>	23
3-4-1/ Les propriétés pharmacologiques de <i>Trigonella foenum-graecum</i>	24
3-5/ Pistachier lentisque (<i>Pistacia lentiscus</i> .L).....	25
3-5-1/ Les propriétés pharmacologiques de <i>P. lentiscus</i>	25
Chapitre III : Intérêt des biomolécules.....	27
1/ Activité antibactérienne.....	27

2/ Activité anti-oxydante.....	28
3/ Activité anti-inflammatoire.....	29
4/ Autres activités biologiques.....	30

PARTIE EXPERIMENTALE

I/ MATERIEL ET METHODES.....	32
1/MATERIEL.....	32
1-1/ Matériel biologique.....	32
1-1-1/ Matériel végétal.....	32
1-1-2/ Les bactéries pathogènes.....	33
1-1-3/ Les animaux.....	33
2/ METHODES.....	33
2-1/ Préparation des extraits aqueux.....	33
2-1-1/ Infusion.....	34
2-1-2/ Décoction.....	34
2-2/ Préparation des extraits hydro-alcooliques.....	35
2-3/ Screening phytochimique des extraits.....	35
2-3-1/ Les analyses qualitatives.....	35
2-3-1-1/ Recherche des polyphénols.....	35
2-3-1-2/ Recherche des flavonoïdes.....	36
2-3-1-3/ Recherche des tanins.....	36
2-3-1-4/ Recherche des alcaloïdes.....	36
2-3-1-5/ Recherche des stérols et triterpènes.....	36

2-3-1-6/ Recherche des saponines.....	36
2-3-1-7/ Recherche des glycosides.....	36
2-3-2/ Les analyses quantitatives.....	37
2-3-2-1/ Dosage des phénols totaux.....	37
2-3-2-2/ Dosage des flavonoïdes.....	38
2-3-3/ Chromatographie liquide à haute performance HPLC.....	38
2-4/ Etude des activités biologiques des extraits.....	40
2-4-1/ Etude de l'activité antibactérienne.....	40
2-4-1-1/ Repiquage et revivification des bactéries pathogènes.....	40
2-4-1-2/Préparation des suspensions des bactéries pathogènes.....	40
2-4-1-3/ Spectre antibactérien des extraits.....	40
2-4-1-4/ Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	41
2-4-1-5/ Détermination de la sensibilité aux antibiotiques	41
2-4-2/ Etude de l'activité anti-oxydante	43
2-4-2-1/ Test au DPPH.....	43
2-4-2-2/ Méthode de blanchissement de la β -carotène.....	44
2-4-2-3/Détermination de la capacité anti-oxydante totale par la méthode de phosphomolybdate.....	45
2-4-2-4/ Méthode de FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>).....	46
2-4-2-5/ Méthode de FTC (<i>Ferric thiocyanate method</i>).....	47
2-4-3/ Etude de l'activité anti-inflammatoire.....	48
2-4-4/ Etude de l'activité hypocholestérolémiant.....	50

II/ RESULTATS ET DISCUSSION.....	51
1/ Etude phytochimique des extraits.....	51
1-1/ Rendements et analyses qualitatives.....	51
1-2/ Analyses quantitatives.....	53
1-2-1/ Dosage des phénols totaux.....	53
1-2-2/ Dosage des flavonoïdes.....	54
1-3/ Analyse des composés phénoliques par HPLC	56
2/ Activités biologiques des extraits.....	64
2-1/ Activité antibactérienne des extraits	64
2-2/ Activité antioxydante des extraits.....	70
2-2-1/ Test au DPPH.....	70
2-2-2/ Méthode de blanchissement de la β -carotène.....	72
2-2-3/ La capacité anti-oxydante totale.....	74
2-2-4/ Méthode de FRAP.....	76
2-2-5/ Méthode de FTC.....	77
2-2-6/ Corrélation entre la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante.....	81
2-3/ Activité anti-inflammatoire.....	86
2-4/ Activité hypocholestérolémiant.....	93
CONCLUSION.....	102
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
PUBLICATIONS	
ANNEXES	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Bactéries responsables de l'infection urinaire. (Sobel et Kaye, 2000).....	4
Tableau 2 : Facteurs de risque des maladies cardiovasculaires. (Mozaffarian et <i>al.</i> , 2003).....	9
Tableau 3 : Screening phytochimique des extraits de plantes.....	52
Tableau 4 : Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes des différents extraits.....	55
Tableau 5 : Les quantités des composés phénoliques détectés dans les extraits analysés à 280 nm par HPLC.....	58
Tableau 6 : Résultats des diamètres des zones d'inhibition des extraits des plantes testés sur les bactéries pathogènes étudiées.....	65
Tableau 7 : Activité antioxydante des différents extraits par cinq méthodes.....	80
Tableau 8 : Résultats du dosage des différents paramètres lipidiques (TC, TG, LDL, VLDL et HDL)	97
Tableau 9 : Résultats de l'Antibiogramme.....(Annexe I)	

Liste des figures

Figure 1 : La structure chimique de la Morine. (Gamet-Payraastre <i>et al.</i> ,1999).....	17
Figure 2 : La structure chimique du Resvératrol. (Bharat <i>et al.</i> ,2004).....	17
Figure 3 : La structure chimique de la Coumarine. (Holden et Crouch ,1998).....	19
Figure 4 : la plante <i>Thymus vulgaris</i> (Celio et Martine, 2005).....	19
Figure 5 : la plante <i>Aloysia triphylla</i> (L'Hérit.).....	21
Figure 6 : L'olivier (<i>Olea europaea</i>)	22
Figure 7 : La plante et les graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i>	24
Figure 8 : Le Pistachier lentisque (<i>Pistacia lentiscus</i> . L.).....	25
Figure 9 : Les différentes parties de la Chromatographie liquide à haute performance...	39
Figure 10 : Forme libre et réduite du DPPH. (Molyneux, 2004).....	43
Figure 11 : Les rendements des différents extraits des plantes étudiés.....	51
Figure 12 : profil chromatographique de l'extrait aqueux des feuilles de <i>T. vulgaris</i>	57
Figure 13 : profil chromatographique de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de <i>T. vulgaris</i>	57
Figure 14 : profil chromatographique de l'extrait aqueux des feuilles d' <i>A. triphylla</i>	59
Figure 15 : profil chromatographique de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d' <i>A. triphylla</i>	59
Figure 16 : profil chromatographique de l'extrait aqueux des feuilles de <i>P. lentiscus</i>	60
Figure 17 : profil chromatographique de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de <i>P. lentiscus</i>	60
Figure 18 : profil chromatographique de l'extrait aqueux des feuilles d' <i>O. europaea</i>	61

Figure 19 : profil chromatographique de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d' <i>O. europaea</i>	61
Figure 20 : profil chromatographique de l'extrait aqueux des graines de <i>T. foenum-graecum</i>	62
Figure 21 : profil chromatographique de l'extrait hydro-alcoolique des graines de <i>T. foenum-graecum</i>	62
Figure 22 : Les valeurs d'IC50 (mg/ml) des différents extraits testés.....	71
Figure 23 : Le pourcentage de l'activité antioxydante des extrais.....	73
Figure 24 : La capacité antioxydante totale en mg EAA/g d'extrait.....	75
Figure 25 : Le potentiel antioxydant (moles de Fe^{2+} / g d'extrait).....	77
Figure 26 : Résultats de pourcentage d'inhibition de la peroxydation.....	79
Figure 27 : Corrélation entre l'activité antioxydante par la méthode de blanchissement du β - carotèneet la teneur en phénols totaux.....	81
Figure 28 : Corrélation entre l'activité antioxydante par la méthode de FRAP et la teneur en phénols totaux.....	82
Figure 29 : Corrélation entre la capacité anti-oxydante totale et la teneur en phénols totaux.....	82
Figure 30 : Corrélation entre l'activité antioxydante par la méthode de FTC et la teneur en phénols totaux.....	83
Figure 31 : Corrélation entre l'activité antioxydante par la méthode de DPPH et la teneur en phénols totaux.....	83
Figure 32 : Les pourcentages d'inhibition (moyenne) de l'inflammation par les différents extraits des plantes.....	88
Figure 33 : L'Index Athérogénique (IA) des différents lots.....	99

- Figure 34** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique à 765 nm.....(Annexe I)
- Figure 35** : Courbe d'étalonnage de la quercétine à 420 nm.....(Annexe I)
- Figure 36** : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique à 695 nm.....(Annexe I)
- Figure 37** : Courbe d'étalonnage de Sulfate de fer à 593 nm.....(Annexe I)
- Figure 38** : Effets des extraits aqueux sur *C. freundii*.....(Annexe I)
- Figure 39** : Effets des extraits aqueux sur *P. aeruginosa* ATCC 27853.....(Annexe I)
- Figure 40**: Effets des extraits hydro-alcooliques sur *E. coli*.....(Annexe I)
- Figure 41** : Effets des extraits hydro-alcooliques sur *P. vulgaris*.....(Annexe I)
- Figure 42** : Effets des extraits aqueux sur *P. mirabilis*.....(Annexe I)
- Figure 43**: Effets des extraits aqueux sur *S. typhimurium*.....(Annexe I)
- Figure 44** : Effets des extraits hydro-alcooliques sur *S. aureus* ATCC25923.(Annexe I)
- Figure 45** : Effets des extraits aqueux sur *E.coli* ATCC25922.....(Annexe I)
- Figure 46** : Effets des extraits hydro-alcooliques sur *P. mirabilis*.....(Annexe I)
- Figure 47** : Résultats de l'antibiogramme de *S. aureus*.....(Annexe I)
- Figure 48** : Résultats de l'antibiogramme de *P. aeruginosa* ATCC 27853....(Annexe I)
- Figure 49** : Résultats de l'antibiogramme d'*E. coli*.....(Annexe I)
- Figures 50** : Les courbes [% inhibition = f (concentration)] pour le calcul des IC50 (*Test au DPPH*)..... (Annexe I)
- Figure 51** : Les souris *swiss albino*.....(Annexe II)
- Figure 52** : L'injection de la carragénine.....(Annexe II)
- Figure 53** : L'administration orale des extraits des plantes.....(Annexe II)
- Figure 54** : Mesure du volume de la patte par le pied à coulisse.....(Annexe II)
- Figure 55** :Echantillons du sang des souris pour déterminer le bilan lipidique(AnnexeII)

Liste des abréviations

AFNOR	Association française de normalisation.
Akt	Protein kinase B.
AVC	Accident vasculaire cérébral.
BPCO	Broncho-pneumopathie chronique obstructive.
CMI	Concentration minimale inhibitrice.
COX	Cyclooxygénases.
DDB	Dilatation des bronches.
DPPH	1,1-diphényl- 2-pyrcil-hydrazyl.
FeCl ₃	Trichlorure de fer.
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power.
FTC	Ferric thiocyanate method.
HCL	Acide chlorhydrique concentré.
HDL	Lipoprotéine de haute densité.
i-NOS	Nitric oxide synthase.
LDL	Lipoprotéine de basse densité.
LOX	Lipoxygénase.
LPS	Lipopolysaccharide.
MAPK	Mitogen-activated protein kinase.
MCV	Maladie cardiovasculaire.
Mg	Magnésium.
mg	Milligramme.

mg Eq AA/g	Milligrammes d'équivalent d'acide ascorbique par gramme.
mg Eq AG/g	Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme.
mg Eq Q/g	Milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme.
ml	Millilitre.
NF-kB	Nuclear factor kB.
NOS	Oxyde nitrique synthase.
OMS	Organisation mondiale de la santé.
PLA2	Phospholipase A2.
ROS/RNS	Reactive oxygen species/ reactive nitrogen species.
SHU	Syndrome hémolytique et urémique.
TC	Total cholestérol.
TG	Triglycérides.
TNF	<i>Tumor necrosis factor.</i>
TPTZ	Tripyridyltriazine.
VLDL	Lipoprotéine de très basse densité.

INTRODUCTION

I. Introduction

Les infections gastro-intestinales sont fréquentes et à l'origine d'une mortalité non négligeable, notamment dans les pays en voie de développement (Tortora et *al.*, 2003). Selon l'OMS (2002), la situation est plus préoccupante à cause de l'apparition de souches de microorganismes antibioresistants et l'émergence des infections non communes. En Algérie, les maladies infectieuses et parasitaires constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité (Bendahou et *al.*, 2008).

Depuis une vingtaine d'années, on assiste à une prévalence plus importante des affections chroniques (Fares, 1997). Les niveaux élevés du cholestérol dans l'organisme sont devenus une réelle source de problèmes de santé. L'athérosclérose est un processus multicellulaire complexe impliquant l'oxydation du cholestérol et l'accumulation intracellulaire du cholestérol oxydé. Cette accumulation est la cause d'une cascade de processus inflammatoires, résultant en une plaque instable qui éclate finalement en provoquant un infarctus du myocarde (Herber, 2001).

D'autre part, l'une des caractéristiques communes dans la pathogenèse de la plupart des maladies chroniques est l'implication du stress oxydatif, liée à la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS). En raison de leur grande réactivité et leur faible stabilité, les ROS entrent en réactions avec les lipides, les protéines et l'acide désoxyribonucléique (DNA) en générant des métabolites oxydés (Kimura et *al.*, 2005). Ils provoquent une détérioration progressive de la fonction des cellules, tissus et systèmes de l'organisme (Valko et *al.*, 2007).

Le traitement des infections bactériennes est en général basé sur l'utilisation des antibiotiques. La très grande utilisation souvent inadaptée de ces molécules antibactériennes a entraîné la sélection de souches bactériennes multirésistantes (Archibalt et *al.*, 1997).

Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours tels que les maladies gastro-intestinales, l'inhibition de l'agrégation plaquettaire et la toxicité hépatique et urinaire (Gaziano et Gibson, 2006 ; Batlouni, 2010).

Le recours aux ressources naturelles en général et aux plantes médicinales en particulier devient alors une des plus importantes et intéressantes pistes à explorer pour la recherche de nouveaux produits antibactériens plus efficaces (Wright et Sutherland, 2007).

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection des aliments contre l'oxydation. Ils interviennent dans la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif tels que les cancers, la cataracte, l'athérosclérose, le diabète, l'hypertension artérielle, les maladies neurodégénératives et l'arthrite (Chun et *al.*, 2005).

Il est donc important d'orienter les recherches vers des nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours servi de base à des nouveaux médicaments (Oussou et *al.*, 2010). Les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, environ de 35 000 espèces sont employées par le monde à des fins médicinales (Elqaj et *al.*, 2007).

Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plus riches dans le monde, avec un nombre très élevé des plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques (Farombi, 2003).

La flore algérienne compte près de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% sont endémiques (Quezel et Santa, 1963). Ce potentiel floristique, constitué des plantes médicinales condimentaires, reste très peu exploré sur le plan phytochimique ainsi que sur le plan pharmacologique.

De nombreuses études ont démontré que les plantes contiennent différents composants qui possèdent une activité antioxydante responsable de leurs effets bénéfiques sur la santé. En plus de la vitamine C, la vitamine E et les caroténoïdes, les composés phénoliques ont montré une forte capacité antioxydante (Giovanelli et Buratti, 2009). En raison de leur origine naturelle, les antioxydants obtenus à partir de plantes ont plus un avantage par rapport aux antioxydants synthétiques (Ndhlala et *al.*, 2010). Le plus souvent, les antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie alimentaire à des doses élevées présentent des effets génotoxique et cancérogène.

Des études épidémiologiques ont montré une relation inverse entre le risque de maladies humaines chroniques et la consommation des diètes riches en composés phénoliques car les groupes phénoliques des polyphénols peuvent accepter un électron pour former des radicaux phénoxyles relativement stable (Arts et Hollman, 2005 ; Scalbert et *al.*, 2005).

Le présent travail s'insère dans le cadre du programme destiné à la valorisation de la flore algérienne, par la recherche de nouveaux composés ou principes actifs à débouchés thérapeutiques. La sélection des espèces est basée essentiellement sur l'endémisme et l'utilisation éventuelle en médecine traditionnelle en vue d'une investigation phytochimique et biologique.

Cette thèse est subdivisée en deux grandes parties : bibliographique et expérimentale ; la synthèse bibliographique comporte un rappel sur les pathologies infectieuses et chroniques, une description des caractéristiques, des propriétés des plantes étudiées et de l'intérêt des biomolécules.

Dans la partie expérimentale, nous nous sommes fixés plusieurs objectifs, à savoir :

- l'étude phytochimique basée principalement sur la préparation des extraits aqueux et hydro-alcooliques
- la quantification des composés phénoliques et les flavonoïdes à partir des feuilles de *Thymus vulgaris*, d'*Aloysia triphylla*, de *Pistacia lentiscus*, d'*Olea europaea* et les graines de *Trigonella foenum-graecum*
- la détermination de la composition chimique des extraits par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).
- l'étude de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis des bactéries pathogènes.
- l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits en utilisant cinq méthodes différentes.
- la détermination *in vivo* des activités biologiques: recherche de l'activité anti-inflammatoire et de l'effet de ces extraits sur le profil lipidique des souris sous un régime hypercholestérolémique.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Les pathologies infectieuses et chroniques

Plusieurs maladies menacent la santé de l'Homme, parmi lesquelles on cite les maladies infectieuses et métaboliques.

1/ Les maladies infectieuses

1-1/ Les infections urinaires

Le problème des infections urinaires est une préoccupation importante de santé, car ces affections sont très répandues. En effet, l'infection urinaire est par ordre de fréquence la première des maladies infectieuses non épidémiques (Berland et Dussol, 2000).

Les infections urinaires constituent une pathologie fréquente. Elles représentent le deuxième motif de consultation en pathologie infectieuse après les infections pulmonaires (Lobel, 1998). A l'état normal, les urines sont stériles. Les infections urinaires se traduisent par la présence de germes pathogènes dans l'urine à l'intérieur des voies excrétrices.

1-1-1/ Les germes responsables

Les infections urinaires sont généralement causées par un seul microorganisme.

Escherichia coli est l'agent responsable dans plus de 80 % des infections et le *Staphylococcus saprophyticus* dans 10 % à 15 % des infections (Stamm et Hooton ,1993). Occasionnellement, d'autres agents infectieux peuvent être impliqués tels que le *Klebsiella spp.*, le *Proteus mirabilis* et l'*Enterococcus faecalis* (Stamm et Hooton ,1993 ; Ronald , 2002). L'étiologie de l'infection urinaire varie selon les facteurs de risque et le type d'infection (tableau I).

Tableau 1 : Bactéries responsables de l'infection urinaire (Sobel et Kaye, 2000).

Infection urinaire non compliquée	Infection urinaire compliquée
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Klebsiella spp.</i>
<i>Klebsiella spp.</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Enterococcus faecalis</i>
	Streptocoques du groupe B

1-2/ Les infections pulmonaires

1-2-1/ Les infections à *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est rencontré lors des infections respiratoires chroniques telles que la mucoviscidose, la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) et la dilation des bronches (DDB) (Bertrand et Frizzell, 2003).

Le poumon mucoviscidosique est particulièrement susceptible aux infections occasionnées par *P. aeruginosa*. Cet organisme joue un rôle crucial dans le développement et la progression des maladies pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose (Wine, 1999).

1-2-2/ Absès du poumon

Les anaérobies sont présents dans 60 à 100 % des absès pulmonaires, le plus souvent associées à des aérobies (streptocoques, staphylocoques dorés, klebsielles, *Pseudomonas*) avec un rapport de 3,0 anaérobies pour 0,6 aérobie (Hammond et al., 1995). Dans 15 à 20 % des cas, les anaérobies sont les seules bactéries identifiées (Hammond et al., 1995).

Les bactéries isolées sont *Prevotella* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Fusobacterium nucleatum*. Plus de 50 % des bactéries anaérobies isolées sont productrices de β -lactamase (Dubreuil et Sédallian, 2000).

1-3/ Les infections digestives

1-3-1/ L'infection à *Staphylococcus aureus*

Les Staphylocoques appartiennent à la famille des Micrococacceae. Ce sont des cocci Gram positif, aéro-anaérobie facultatifs, non sporulés, immobiles et catalase positive. Parmi les Staphylocoques, *Staphylococcus aureus* est la principale espèce enterotoxinogène (Bourgeois et al., 1996).

Les intoxications alimentaires à *S. aureus* surviennent 3 à 6 heures après ingestion de l'aliment contaminé. Les entérocolites aiguës pseudo-membraneuses font partie de la pathologie nosocomiale et sont d'évolution sévère.

1-3-2/ L'infection à *Salmonella typhi*

Les bactéries du genre *Salmonella* appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles Gram négatif, anaérobie facultatif, habituellement mobile. Elles sont catalase positive et oxydase négative (Gledel, 1998).

Les salmonelles sont l'une des causes principales des toxi-infections alimentaires. Elles sont responsables chez l'homme des fièvres typhoïdes (*S. typhi*, *S. paratyphi* A, B, C) (Wain et al., 2002). L'incubation prolongée de la maladie correspond à l'invasion silencieuse du tube digestif.

Les malades sont habituellement infectés par voie buccale à partir d'aliments provenant d'animaux infectés, ou par eux. La dose infectante est élevée, supérieure ou égale à 10^8 . Pendant la très courte incubation, les bactéries envahissent initialement les cellules épithéliales puis la sous muqueuse, déterminant ainsi une réaction inflammatoire aigüe dans les tissus du tube digestif (Murray et al., 2005).

La réaction inflammatoire aigüe de l'iléon et du caecum entraîne de la fièvre, des douleurs abdominales, des vomissements ; de la diarrhée aqueuse avec parfois des leucocytes et du sang dans les selles du fait de petites ulcérations de la muqueuse. Cette diarrhée est à l'origine d'une déshydratation particulièrement grave chez le nourrisson. (Gaillard et Simonet, 1991 ; Dorsey et al., 2005).

1-3-3/ L'infection à *Escherichia coli*

Escherichia coli appartient au groupe des coliformes, d'origine fécale et peut être responsable d'intoxications à cause d'un développement abondant. Elle possède les propriétés classiques des entérobactéries: Gram négatif, catalase positive, oxydase négative, anaérobie facultative et bâtonnet court (Guiraud, 1998).

Depuis sa découverte *Escherichia coli* est devenu l'un des principaux germes pathogènes, incriminé dans de nombreuses infections (Lior, 1994). De nombreuses souches d'*E. coli* sont impliquées dans la diarrhée aiguë de l'enfant et de l'adulte. Elle est responsable du syndrome hémolytique et urémique (SHU) (Lior, 1994).

Les diarrhées infectieuses dues à *E. coli* sont causées par des souches virulentes, elles sont absorbées par voie buccale avec de l'eau ou des aliments contaminés par la flore fécale de malades ou de porteurs sains. Certaines souches d'*E. coli* sont capables de causer des dommages au niveau de la muqueuse digestive se traduisant par un syndrome infectieux (Gaillar et Simonet, 1991).

1-3-4/ L'intoxication à *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est un germe ubiquitaire présent dans la nature mais peut aussi être retrouvé dans la flore intestinale de certains animaux. C'est un bacille Gram positif non encapsulé, sporulé.

B. cereus est une cause d'intoxication alimentaire importante à travers le monde. Dans l'union européenne, les espèces de *Bacillus* (incluant les non-*cereus*) sont responsables de 1,4% des cas d'intoxication alimentaire en 2005.

Il produit deux types de toxines :

- La toxine émétique ou céruléide à l'origine d'un syndrome émétique.
- Les toxines diarrhéiques ou cytotoxines responsables entre autres d'une nécrose cutanée et intestinale.

Bacillus cereus résiste à l'action bactéricide des macrophages en s'échappant de ces cellules. Les macrophages, qui sont des cellules phagocytaires, forment la première ligne de défense au cours d'une infection. Leur rôle est d'internaliser puis de détruire les pathogènes. Après phagocytose, les spores de *B. cereus* s'échappent des macrophages à l'aide de la métalloprotéase InhA1 localisée à leur surface (Ramarao et Lereclus, 2005).

Le niveau d'expression de ces gènes de virulence constitue aussi un élément clé dans le pouvoir infectieux des bactéries. Des études menées à l'INRA ont montré que l'expression de plusieurs facteurs de virulence (hémolysine, entérotoxines et enzymes dégradatives), était contrôlée par un mécanisme de "quorum-sensing", soit un système de régulation qui permet de coordonner l'expression des gènes avec la densité bactérienne (Ramarao et Lereclus, 2005).

1-3-5/ L'infection à *Helicobacter pylori*

L'*Helicobacter pylori* a été découvert en 1982 par Marshall et Warren dans l'antrum gastrique humain. Par la suite différents travaux ont suggéré le rôle de cette bactérie dans de nombreuses maladies gastriques et duodénales (gastrite, maladie ulcéreuse, lymphome, cancer gastrique).

1-3-5-1/ *Helicobacter pylori* et gastrite

Bien que demeurant à la surface de l'épithélium de la muqueuse gastrique, l'*Helicobacter pylori* déclenche une réaction inflammatoire caractérisée par une infiltration de lymphocytes, de plasmocytes, et de macrophages. La bactérie interagirait avec la cellule épithéliale en entraînant la production d'interleukines et activerait directement ou par le biais d'une endotoxine le macrophage, celui-ci produit de nombreuses cytokines. Ces différentes réactions aboutissent à la gastrite (Amrani et Allouch, 1995 ; Allem et El Kebir, 2012).

1-3-5-2/ *Helicobacter pylori* et cancer gastrique

Il semble qu'il existe une relation entre l'infection à *H. pylori* et le cancer de l'estomac comme le démontrent les données épidémiologiques, et ceci soit par l'intermédiaire de la gastrite chronique, l'atrophie, métaplasie intestinale et la dysplasie aboutissant au cancer (Allem et El kebir, 2010) ; soit par diminution du taux d'acide ascorbique (rôle protecteur de l'estomac), l'hypochlorhydrie favorise la pullulation microbienne et par conséquent la formation de nitrosamines carcinogènes (Parsonnet et *al.*, 1991).

2/ Les maladies métaboliques

2-1/ Les maladies cardiovasculaires

Selon le rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé de décembre 2002, les maladies cardiovasculaires sont responsables de 16,5 millions de décès dans le monde dont les ¾ se trouvent dans les pays à faible et moyen revenu. Ces chiffres, malheureusement sont appelés à la hausse et l'OMS prévoit en moyenne 25 millions de décès d'origine cardiovasculaire en 2020 (Adlouni, 2007).

Les maladies cardiovasculaires (MCV) comprennent une multitude de maladies relatives au coeur et au système circulatoire. Les troubles cardiovasculaires les plus courants sont les troubles coronariens, qui se rapportent aux artères du coeur, et englobent, entre autres,

l'angine de poitrine, l'insuffisance cardiaque, l'infarctus du myocarde (crise cardiaque), et les accidents vasculaires cérébraux (AVC) qui se produisent lorsque le cerveau reçoit un apport sanguin inadéquat (Ayas et *al.*, 2003).

2-1-1/ Les facteurs de risque

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'apparition de troubles cardiovasculaires. Le niveau de risque peut être réduit par la modification du mode de vie. L'état de santé peut également influencer le développement des MCV (tableau 2).

Tableau 2 : Facteurs de risques des maladies cardiovasculaires. (Mozaffarian et *al.*, 2003).

Facteurs associés au mode de vie	Facteurs associés à l'état de santé
<ul style="list-style-type: none"> • Tabagisme • Obésité • Inactivité physique • Consommation d'alcool • Stress chronique • Prise de contraceptifs oraux 	<ul style="list-style-type: none"> • Hypertension artérielle • Fréquence cardiaque élevée • Faible taux de " bon " cholestérol (HDL) • Taux élevé de " mauvais " cholestérol (LDL) • Excès de triglycérides (TG) (graisses de réserve) • un apport insuffisant de vitamines B6, B9 et B12 • Diabète

2-1-2/ Athérosclérose

L'athérosclérose est une lésion progressive de la paroi des artères moyennes et larges qui se caractérise par des processus inflammatoires chroniques conduisant à une accumulation importante de lipides dans l'espace sub-endothélial, menant au développement de la plaque d'athérosclérose (Libby, 2002). Elle est la cause majeure des maladies cardiovasculaires et de leurs complications cliniques (Morozova et *al.*, 2004).

Cette pathologie est causée par des facteurs qui sont regroupés en deux groupes distingués ; les facteurs génétiques représentés par l'hypercholestérolémie (Dilmi Bouras, 2006), le diabète de type 2, l'âge, le sexe, le taux d'homocystéine, l'hypertension et les facteurs environnementaux (manque d'exercice, la pollution, et les infections) (Lusis et *al.*, 2004).

2-1-3/ Formation de la plaque de l'athérosclérose

Le LDL-cholestérol en excès joue un rôle primordial dans le déclenchement et le développement de l'athérosclérose (Libby, 2001). Il s'accumule, se fixe dans la paroi artérielle et s'oxyde, ce qui participe à une réaction immunitaire inadaptée à l'origine d'un phénomène inflammatoire lié à la sécrétion de chimiokines, la transformation des macrophages en «éboueurs» et l'arrivée des lymphocytes T qui libèrent des cytokines pro inflammatoires (IL-6...). L'inflammation se pérennise et donne naissance à la plaque d'athérosclérose (Libby, 2001 ; 2002).

3/ Les maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydatif est un déséquilibre dans la balance pro-oxydants / antioxydants, que se soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction de radicaux libres (Favier, 2003).

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des éléments très importants pour la vie de l'organisme suite à l'implication de leurs effets bénéfiques, par exemple les cellules phagocytaires (macrophages) utilisent également les espèces réactives dérivées de l'oxygène (ROS) pour combattre les agents infectieux. Cependant ces mêmes radicaux peuvent causer des dégâts oxydatifs cellulaires, endommagement des tissus et même la mort des cellules et le développement des processus pathologiques (Wang et *al.*, 2008).

Ce déséquilibre a pour conséquences l'apparition des dégâts souvent irréversibles pour les cellules (Aravodis, 2005). Les cibles biologiques les plus vulnérables à cet endommagement oxydatif sont : l'acide désoxyribonucléique (ADN) (modification des bases, cassure des brins) (Rehman et *al.*, 1999), les protéines (modification structurales et fonctionnelles) et les lipides (peroxydation lipidique) (Hu et *al.*, 2005).

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution (Sohal et *al.*, 2002).

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, oedème pulmonaire, vieillissement accéléré (Krane et *al.*, 1990 ; Mecocci et *al.*, 2000 ; Bekro et *al.*, 2008).

Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites, les radicaux libres intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur comme p53 (Cerutti, 1994).

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Cavin, 1999 ; Favier, 2003 ; Pastre et priymenko, 2007).

Chapitre II : Eléments bioactifs des plantes médicinales

1/ Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des liquides aromatiques, appelées aussi essences aromatiques, produites et emmagasinées dans certaines cellules de la matière végétale.

Ces composés volatiles sont très solubles dans les graisses d'où le terme « huiles » soulignant le caractère visqueux et hydrophobe de ces substrats. Cependant, le terme « essentielle » signifie la caractéristique principale de la plante à travers ces exhalations (Kirck, 1983).

La norme AFNOR définit l'huile essentielle comme: « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydro distillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.

1-1/ Propriétés des huiles essentielles

1-1-1/ propriétés physiques

Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes. Très rarement colorées, ce sont « des liquides d'odeur et de saveur généralement fortes » (Budavari et *al.*, 1996). Elles sont peu miscibles à l'eau, voire non miscibles. En revanche, elles sont généralement assez solubles dans les solvants organiques (Budavari et *al.*, 1996).

1-1-2/ Structure chimique des huiles essentielles

Ce sont des mélanges complexes et variables, de constituants appartenant de façon quasi-exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquent d'autre part (Bruneton, 1993).

1-1-3/ Répartition des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (exemple : famille des labiées odorantes renfermant presque toutes une huile essentielle). Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les fleurs, les feuilles et moins souvent les écorces, les bois, les racines, les rhizomes, les fruits et les grains.

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation. Dans le cas de l'orange amer, par exemple, le zeste fournit « essence de Curaçao », la fleur fournit « essence de Néroli » et les feuilles, ramilles et petits fruits « essence du petit grain bigaradier ». La composition de ces trois huiles essentielles est cependant très différente (Bruneton, 1999). De façon générale, les huiles essentielles sont présentes en très petite quantité : 1 à 2% de la matière sèche au maximum (Bruneton, 1999).

1-2/ Facteurs de variation de la composition des huiles essentielles

- Facteurs intrinsèques

Les différentes parties de la plante (cas de l'orange amer), les parties fleuries de la Sauge, par exemple, ont une huile essentielle plus riche en certains terpènes que les feuilles (Wichtl et Anton, 1999).

Le cycle de la plante : des poussées de biosynthèse engendrent une accumulation plus ou moins importante de certains constituants des chaînes métaboliques au cours des saisons, des mois, voire des journées. Le profil chimique de l'huile essentielle de menthe, par exemple, peut être différent au cours de la journée (Perry et *al.*, 1999).

- Facteurs extrinsèques

Les plus importants sont : La nature du sol, la température et l'humidité.

La fonction de ces huiles essentielles dans la plante reste obscure. Leur rôle inhibiteur de la germination a été prouvé expérimentalement ainsi que leur rôle dans la protection contre les prédateurs et l'attraction des pollinisateurs (Bruneton, 1999).

1-3/ Différents procédés d'obtention

En fonction de la plante, les procédés d'obtention varient. Selon AFNOR, plusieurs types de fabrication sont à distinguer :

1-3-1/ Huiles essentielles obtenues sans changement significatif de leur nature

Huiles essentielles obtenues à froid (exemple des agrumes : dans le procédé classique, on exerce sous un courant d'eau une action abrasive de la surface du fruit et après élimination des déchets solides, l'huile est séparée de la phase aqueuse par centrifugation (Bruneton, 1993).

1-3-2/ Huiles essentielles obtenues avec changements significatifs de leur nature

- Huile essentielle « déterpénée » (les hydrocarbures monoterpéniques sont éliminés partiellement ou totalement).
- Huile essentielle « desésquiterpénée » (hydrocarbures mono- et diterpéniques éliminés partiellement ou totalement).
- Huile essentielle privée de « x » (huile essentielle de laquelle un constituant « x » a été éliminé. Exemple : huile essentielle de bergamote privée de bergaptène).
- Huile essentielle rectifiée, soumise à une distillation fractionnée.
- Huile essentielle concentrée (traité par un procédé physique qui concentre un ou plusieurs constituants particuliers) (Budavari et *al.*, 1996).

2/ Les antioxydants

D'après Halliwell et Gutteridge (1999) : « Un antioxydant est toute substance, présente à une concentration inférieure à celle du substrat oxydable, qui est capable de retarder ou de prévenir l'oxydation de ce substrat ».

2-1/ Caractéristiques des antioxydants

Un composé est considéré antioxydant *in vivo*, lorsqu'il requière les propriétés suivantes (Ursini et *al.*, 1999 ; Durackova et *al.*, 2008) :

- Il doit réagir avec les métabolites réactifs de l'oxygène qui sont biologiquement toxiques.
- Le produit de la réaction de l'antioxydant avec l'oxydant ne doit pas être plus toxique pour l'organisme que le métabolite éliminé.
- L'antioxydant potentiel doit être présent dans l'organisme en concentration suffisante.
- La demi-vie de l'antioxydant doit être suffisamment longue pour réagir avec l'oxydant.

Les antioxydants peuvent jouer leur rôle à différents niveaux du processus oxydatif (Baskin et Salem, 1994) en : neutralisant les radicaux initiateurs, liant les ions métalliques, Neutralisant les radicaux peroxydes et éliminant les biomolécules endommagées par oxydation, ainsi que d'autres types de réactions.

2-2/ Les antioxydants naturels

En plus des substances propres à l'organisme, l'alimentation et les plantes peuvent être également des sources d'antioxydants.

La plante constitue une source importante d'antioxydants. Les chercheurs s'intéressent en effet très particulièrement aux composés naturels aux propriétés antioxydantes (Potterat, 1997). Les mécanismes d'action sont divers: captage de l'oxygène singulet, désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, réduction des radicaux ou peroxydes, complexation d'ions et de métaux de transition (Larson, 1995).

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les plantes supérieures et dans toutes les parties de la plante. Les principaux antioxydants sont :

2-2-1/ La vitamine C

C'est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (Sies et Stahl, 1995). Elle est présente dans les légumes, le chou, le persil, les agrumes, le kiwi.

2-2-2/ La vitamine E

Le terme de vitamine E désigne un groupe de composés lipophiles possédant l'activité biologique de l' α -tocophérol. Ce groupe comprend les α -, β -, γ -, et δ - tocophérols et les α -, β -, γ -, et δ - tocotrienols (Diplock, 1985). L' α -tocophérol possède la plus grande activité biologique (Weiser et Vecchi, 1982).

La vitamine E, comme la vitamine C, est un antioxydant très efficace du fait de sa faible propension à être un donneur d'électrons. Elle agit principalement par le transfert direct d'atomes d'hydrogène (Njus et Kelley, 1991). Cet antioxydant est considéré comme étant le plus important chez les animaux et les humains (Bramley et *al.*, 2000).

Elle est retrouvée dans les huiles végétales (huile d'arachide, de soja, de palme, de maïs, de chardon, de tournesol et d'olive pressées à froid), ainsi que dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les oeufs et les légumes à feuilles vertes (Bossokpi, 2002).

2-2-3/ Le sélénium

C'est un antioxydant essentiel. Il agirait comme une coenzyme pour la glutathion peroxydase, enzyme antioxydante capable de réduire les lipides oxydés des membranes cellulaires. Il est retrouvé dans la viande, le poisson, et les céréales.

Il a été montré qu'un apport quotidien en sélénium de 200 microgrammes faisait baisser de moitié le risque du cancer de la prostate. Le sélénium diminue également la fréquence des maladies cardiaques, sans toutefois faire baisser la tension artérielle et il a un effet positif sur le cholestérol. Des études ont aussi montré son efficacité dans le traitement de l'arthrose (Baskin et Salem, 1994).

2-2-4/ Le β -carotène

Il possède la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est retrouvé dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, le potiron, la papaye et d'autres fruits jaunes (Beaudeau et Dominique, 2005).

Le β carotène est le caroténoïde le plus représenté dans la nourriture, serait susceptible de diminuer les risques de certains cancers (Krinsky, 1989).

2-2-5/ Les flavonoïdes

Ce sont des pigments quasi universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits, et parfois des feuilles (Bruneton, 1993).

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans le système de défense. Ils sont largement présents dans les fruits, les légumes, et le thé. Les flavonoïdes peuvent fonctionner soit comme chélateurs de métaux (quercétine), soit comme capteurs de radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoyles et peroxydes (Madhavi et *al*, 1996).

Parmi les flavonoïdes, citons la morine (figure 1) qui présente non seulement une activité antioxydante envers les radicaux peroxydes, mais également une activité hépatoprotectrice. Elle contribue aussi à l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) qui sont impliquées dans l'athérogenèse.

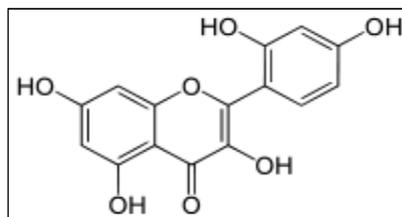


Figure 1: La structure chimique de la Morine (Gamet-Payraastre et *al.*, 1999).

2-2-6/ Les dérivés d'acides phénoliques

Ils sont présents dans de nombreux fruits et légumes, soit sous forme libre, soit sous forme de dérivés. On les retrouve principalement dans le café (4%), le raisin (0,2%), et les pommes (0,1%) (Huang et Ferraro, 1991).

Ces dérivés possèdent également des propriétés antitumorales ; En effet, ils peuvent bloquer la nitrosation des amines soit par réduction du nitrite en oxyde nitrique, soit par formation de dérivés C-nitroso en agissant non seulement *in vitro*, mais également *in vivo* (Huang et Ferraro, 1991). Ces composés possèdent des activités antioxydantes et antiradicalaires.

Parmi ces composés l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide chlorogénique qui captent les radicaux superoxydes produits par le système NADPH / Methosulfate de phénazine (Ohnishi et *al.*, 1994), et le resvératrol (Figure 2) qui possède une forte propriété antioxydante. Il inhibe également le développement des lésions préneoplastiques de la souris et rencontre un certain intérêt en tant qu'agent chimiopréventif potentiel chez l'être humain (Jang et *al.*, 1997).

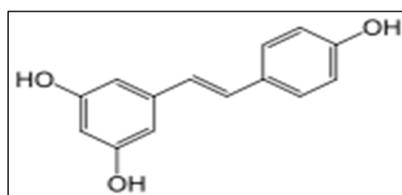


Figure 2: La structure chimique du Resvératrol (Bharat et *al.*, 2004).

2-2-7/ Les tanins

Les tanins hydrolysables et les procyanidines présentent des propriétés antioxydantes significatives.

Les tanins agissent en donneurs de protons face aux radicaux libres lipidiques produits lors de la peroxydation. Des radicaux taniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation lipidique (Huang et Ferraro, 1991).

Le thé vert (*Camellia sinensis*) contient 9 à 13 % de gallate d'épigallocatechine, 3 à 6% de gallate d'épicathéchine et 3 à 6% d'épigallocatechine. Ces substances présentent également des propriétés anticancéreuses non négligeables. De nombreuses études ont montré, qu'après administration d'extraits de thé vert, une diminution significative des cancers a été constatée (Gutman et Ryu, 1996). Les polyphénols du thé vert ont aussi montré des propriétés antimutagènes (Weissburger, 1997).

2-2-8/ Les xanthones

Les xanthones, en plus de leur propriété antimicrobienne, de leur cytotoxicité et de leur propriété inhibitrice de la monoaminoxidase, elles ont présenté aussi des activités antioxydantes (Hostettmann, 1997).

La manguiférine est une xanthone qui possède la propriété d'inhibition envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de capteur de radicaux libres contre les anions superoxydes (Anderson et *al.*, 1996).

2-2-9/ Les coumarines

Les coumarines (Figure 3) sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antioxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (Anderson et *al.*, 1996).

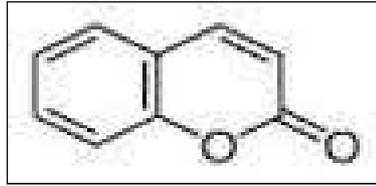


Figure 3: La structure chimique de la Coumarine (Holden et Crouch ,1998).

3/ Description des plantes sélectionnées

La sélection des plantes est basée essentiellement sur l'endémisme et l'utilisation éventuelle en médecine traditionnelle.

3-1/ La plante *Thymus vulgaris* L.

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des Labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (Morales, 2002). Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est *Thymus vulgaris* L (Amiot, 2005).

Thymus vulgaris L. (Figure 4) est un arbuste aromatique à tiges ramifiées, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Ses tiges ligneuses à la base, herbacées supérieurement sont presque cylindriques. Ses feuilles sont très petites, ovales, à bord roulé en dessous, à nervures latérales distinctes, aux pétioles extrêmement courts et blanchâtres à leur face inférieure. Ses fleurs sont presque roses ou presque blanches, font de 4 à 6 mm de longueur, sont pédicellées et réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle des feuilles supérieures (Bruneton, 1999 ; Morales, 2002).



Figure 4: la plante *Thymus vulgaris* (Celio et Martine, 2005).

3-1-1/ La composition chimique

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (Balladin et Headley, 1999 ; Amiot, 2005).

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (Bruneton, 1999). Les principaux constituants du thym sont: Les acides phénoliques représentés par l'acide caféique (Cowan, 1999), l'acide rosmarinique (Takeuchi et al, 2004), les flavonoïdes comme l'hespéridine, l'eriotrécine, la narirutine (Takeuchi et al, 2004), la lutéoline (Bazylo et Strzelecka, 2007) et Les polyphénols (Cowan, 1999).

3-1-2/ Les propriétés pharmacologiques de *T. vulgaris*

Les propriétés pharmacologiques de la plante *Thymus vulgaris* et de ses différents extraits, en particulier l'huile essentielle et l'extrait aqueux, ont été bien étudiées. En plus de leurs nombreuses utilisations traditionnelles, la plante et ses extraits ont trouvé de nombreuses applications industrielles (Jordán et al., 2006) et médicinales (Hudaib et al, 2002 ; Adwan et al., 2006).

Il possède des Propriétés antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires, anti-oxydantes (Golmakani et Rezaei, 2008) et antibactériennes. Une étude a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (Jiminez-Arellanes et al, 2006).

En outre, l'extrait organique entier de *Thymus vulgaris* est avéré être actif contre les différentes souches bactériennes, alors que l'extrait aqueux indiquait la meilleure activité contre *Helicobacter pylori* (Tabak et al., 1996 ; Iserin, 2001).

3-2/ La plante *Aloysia triphylla* (L'Hérit.) Britton

La verveine citronnelle, ou verveine odorante, est connue sous de nombreux noms : *Lippia citriodora* Kunth, *Lippia triphylla* (L'Hér.) Kuntze, *Verbena citriodora* Cav, *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton ou encore *Aloysia citrodora* Ort (Zamorano-Ponce et al., 2004 ; Gomes et al., 2006).

La verveine citronnelle (Figure 5) est un arbuste vivace à branches droites, cannelées, anguleuses et ramifiées, à feuilles vert pâle, allongées (7-10 cm) ressemblant à celles du pêcher, glabres et pointues, verticillées par trois ou quatre sur les tiges, à pétioles très courts, rudes au toucher, entiers à légèrement dentées, portant une nervure très proéminente et des glandes huileuses (trichomes sécréteurs) sur leur face inférieure, dégageant une odeur citronnée, surtout sur le frais ou au froissement, et à saveur piquante, un peu amère (Bruneton, 1993).

Les parties utilisées de la plante sont les feuilles, fraîches ou séchées. Cette drogue contient une huile essentielle (> 0.4%) riche en citral, géraniale et limonène (Bellakhdar et al., 1994 ; Carnat et al., 1999), des flavonoïdes, principalement des flavones 6-hydroxylés et lutéoléine 7-diglucuronide (Kim et Lee, 2004), de verbascoside (Carnat et al., 1999), des iridoïdes (Funes et al., 2009; Quirantes-Piné et al., 2009) et des esters méthyliques (slavigénine, eupafoline, hispiduline) (Newall et al. 1996).



Figure 5: la plante *Aloysia triphylla* (L'Hérit.) (Région d'Ain Defla).

3-2-1/ Les propriétés pharmacologiques d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.)

Sartoratto et *al.*, (2004) ont montré que l'huile essentielle d'*Aloysia triphylla* possède une activité antibactérienne vis-à-vis d'*Escherichia coli*, de *Mycobacterium tuberculosis*, de *Staphylococcus aureus* et d'*Helicobacter pylori*.

L'infusion des feuilles de *Aloysia triphylla* possède une activité anti-oxydante (Valentão et *al.*, 2002), antispasmodique (Ragone et *al.*, 2007) et anti-inflammatoire (Pascual et *al.*, 2001).

3-3/ L'olivier (*Olea europaea*)

Olea europaea (olivier) est une espèce de la famille des Oleacées (Trovato et *al.*, 1993). L'olivier (Figure 6) est un arbre polymorphe, de taille moyenne. Très rameux, au tronc noueux, au bois dur et dense, à l'écorce brune crevassée, il peut atteindre quinze à vingt mètres de hauteur, et vivre très longtemps. Il s'adapte aux conditions extrêmes de l'environnement. Les feuilles, persistantes, oblongues et lancéolées, sont vertes cendrées au dessus et d'un blanc soyeux en dessous. Les fleurs sont blanches et réunies en grappe à l'aisselle des feuilles. Le fruit ou olive est une drupe ellipsoïde d'abord verte puis noire à maturité (Ghedira, 2008).



Figure 6: L'olivier (*Olea europaea*) (Région de Chlef).

3-3-1/ La composition chimique des feuilles d'*Olea europaea*

La feuille d'olivier est riche en triterpènes, flavonoïdes, sécoiridoïdes dont l'oleuropéoside appelé également oleuropéine et en phénols (Zarzuelo et *al.*, 1991 ; Gonzalez et *al.*, 1992).

Les phénols présents dans les feuilles d'olivier sont essentiellement l'hydroxytyrosol, Tyrosol, Catéchine, Acide caféique, Acide vanillique, Vanilline, Rutine, Lutéolin-7-glucoside, Verbascoside, Apigenin-7-glucoside, Diosmetin-7-glucoside, et la Lutéoléine (Benavente-Garcia et *al.*, 2000).

3-3-2/ Les propriétés pharmacologiques des feuilles d'*Olea europaea*

Les feuilles d'olivier ont une action préventive sur l'artériosclérose et les maladies coronariennes, par ces propriétés elles diminuent le mauvais cholestérol (LDL) en augmentant le bon cholestérol (HDL), ce qui en fait un inestimable complément du traitement du diabète non insulino-dépendant (Cherif et Rahal, 1996).

L'effet hypotenseur des feuilles d'olivier s'exerce de différentes façons : par l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine par l'oléacine et par les produits d'hydrolyse enzymatique des sécoiridoïdes (Hansen et *al.*, 1996 ; Somova et *al.*, 2003), et aussi par la vasodilatation de l'aorte par l'oleuropéoside (Zarzuelo et *al.*, 1991).

Les flavonoïdes des feuilles d'olivier exercent leur activité anti-oxydante via leur groupe hydroxyle. Cette action est également due à la présence de triterpènes (Benavente-Garcia et *al.*, 2000).

3-4/ La plante *Trigonella foenum-graecum*

Le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*), aussi appelé trigonelle ou sénégrain, est une plante (Figure 7) herbacée de la famille des Fabaceae, section des protéagineux. Il est réparti autour du bassin méditerranéen et sur la côte ouest de la mer Noire, sa présence et son utilisation sont anciennes. Il possède des feuilles composées de trois folioles ovales, proches de celles du trèfle qui peut atteindre 60 centimètres de hauteur. Les fleurs d'une couleur blanc jaunâtre donnent des fruits qui sont des gousses de huit centimètres renfermant dix à vingt graines anguleuses de couleur brun clair, à forte odeur caractéristique (Ghedira et *al.*, 2010).



Figure 7: La plante et les graines de *Trigonella foenum-graecum*.

Le fenugrec comme les autres légumineuses est une bonne source des protéines alimentaires (environ 20-30 %), il contient les acides gras avec un pourcentage de 05 à 10% qui sont principalement l'acide linoléique, l'acide linoléique, l'acide oléique et l'acide palmitique, les glucides totaux représentent de 45 à 65 % de sa composition avec 15% de galactomannane (une fibre soluble) (Schryver, 2002 ; Nazar et *al.*, 2007).

La graine renferme également des C-flavonoïdes (vitexine, vicénines, tricine, narigénine, dérivés de l'orientine et lutéoline), des saponosides, des stéroïdiques, et des hétérosides furostanoliques (Reena et *al.*, 2004 ; Mehrafarin et *al.*, 2010).

3-4-1/ Les propriétés pharmacologiques de *Trigonella foenum-graecum*

Le fenugrec exerce une activité hypoglycémiant dans certains diabètes (Modak et *al.*, 2007 ; Dixit et *al.*, 2008), et une activité hypocholestérolémiant (Sauvaire et *al.*, 1991). Cette plante est très intéressante dans le traitement des facteurs de risque cardiovasculaires.

Le fenugrec pourrait avoir un effet préventif sur l'apparition de certains types de cancers (Aggarwal et *al.*, 2006), en particulier du colon (Raju et *al.*, 2004 ; Devasena et *al.*, 2007), du sein (Amin, 2005), et de la vésicule biliaire (Rai, 2006). Il a été envisagé d'utiliser ses propriétés anti-oxydantes en tant qu'anticancéreux (Sur et *al.*, 2001), dans la prévention des effets délétères des mécanismes d'ischémie-réperfusion au niveau cardio-vasculaire (Dilsiz, 2006).

3-5/ Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*. L)

Pistacia lentiscus (Darou), est un arbrisseau de 1 à 3 mètres, à odeur résineuse forte et à écorce lisse et grise appartenant à la famille des Anacardiaceae (Coste, 1937). Elle est particulièrement présente dans les milieux les plus chauds du climat méditerranéen, on le retrouve en association avec l'oléastre (olivier sauvage). En Algérie, le lentisque se trouve sur le long du tell et dans les zones forestières. (More et White, 2005).

Les feuilles de *P. lentiscus* (Figure 8) sont persistantes, composées et possèdent un nombre pair de folioles (4 à 10) d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte.

Plusieurs études portées sur la composition chimique des feuilles de *P. lentiscus* ont montré que les feuilles contiennent des tanins proanthocyanidiques et galliques, des glycosides flavonoïdes comme la quercétine, myricétine, luteoline ainsi que l'isoflavone genisteine, des anthocyanes, et des dérivés à noyau gallique et quinique (Romani et al., 2002; Longo et al., 2007).



Figure 8: Le Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*.L) (Boukeloua, 2009).

3-5-1/ Les propriétés pharmacologiques de *P. lentiscus*

L'extrait de *P. lentiscusa* été utilisé comme un aliment longtemps pour le traitement de maladies digestives (Baily, 1935). Pistachier lentisque a montré des effets thérapeutiques sur l'estomac et les ulcères duodénaux (Al-Habbal et al., 1984 ; Al-Said et al., 1986) et également a montré une activité antibactérienne contre *Helicobacter pylori* (Huwez et al., 1998 ; Matrone et al., 2001). Récemment, la majorité des acides triterpéniques dans l'extrait de *P. lentiscus* a été suggéré d'être responsable de l'activité anti-*H. pylori* (Paraschos et al., 2007).

Le Pistachier lentisque a été rapporté pour inhiber la croissance du cancer du côlon (Balan et *al.*, 2007), du cancer de la prostate (He et *al.*, 2007) et la lignée cellulaire d'érythroleucémie (Loutrari et *al.*, 2006).

Chapitre III : Intérêt des biomolécules

Les extraits bruts des plantes sont une source potentielle de molécules naturelles bio-actives.

De nombreux extraits de plantes montrent des activités antibactériennes, anti-oxydantes et anti-inflammatoires (Ben- Shaul et *al.*, 2000 ; Briens et Grenet, 2001 ; Tzung-Hsun et *al.*, 2005).

1/ Activité antibactérienne

L'huile essentielle de thym, riche en phénols, est douée de propriétés antibactériennes facilement mise en évidence *in vitro* (Bruneton, 1999). L'huile essentielle de trois plantes dont *Thymus vulgaris* a été testée, par Bouhdid et ses collaborateurs (2006), pour leur activité antibactérienne, l'huile de *Thymus vulgaris* témoigne d'une activité antibactérienne intéressante sur les bactéries gram positives comme sur les bactéries gram négatives (Cheurfa et *al.*, 2013).

Des résultats similaires ont été obtenus par Ettayebi et ses collaborateurs (2000), qui ont montré que l'activité de l'huile du thym a été plus efficace contre les bactéries gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pyogenes* et *Staphylococcus pneumoniae*) que les gram négatif (*Escherichia coli*). D'autre part ces mêmes auteurs ont trouvé que cette grande activité de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est reliée au thymol qui est majoritaire.

Koné et *al.* (2004) ont montré que l'extrait éthanolique des racines d'*Erythrina senegalensis* était efficace contre *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*.

L'extrait aqueux d'*Ajuga iva* a une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* et *Pseudomonas aeruginosa* (Ben Jannet et *al.*, 1999).

Treki et *al.*, en 2009 ont montré que la plante *Thymus hirtus* démontre une activité antibactérienne importante vis-à-vis de *Bacillus amyloliquefaciens*, *Staphylococcus sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp* et *Proteus vulgaris*.

Les huiles essentielles à Phénol comme *Origanum compactum*, *Thymus vulgaris* et d'autres huiles essentielles comme celles de *Mentha piperita* et de Girofle (*Eugenia*

caryophyllata) ont montré *in vitro* une inhibition nette de la prolifération d'*H. Pylori* (Haristoy et al., 2003).

L'huile essentielle du cumin a montré un effet antibactérien, plus fort que celui du romarin contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* (Gachkar et al., 2007).

2/ Activité anti-oxydante

Des recherches rapportent que l'extrait de griffe-de-chat (*Uncaria tomentosa*) est un antioxydant efficace en même temps qu'un puissant inhibiteur de la production du TNF alpha, le facteur de nécrose tumorale (Aguilar et al., 2002).

Yeh et al., en 2005 ont montré que la curcumine est un puissant antioxydant qui apporte une protection efficace contre les lésions occasionnées par les radicaux libres.

Les extraits de *Cissus quadrangularis* montrent de fortes activités anti-oxydantes et neutralisatrices de radicaux libres dans différents systèmes *in vivo* et *in vitro* (Mallika et al., 2005), susceptibles d'expliquer leur efficacité sur les tissus lésés. Ils inhibent la peroxydation lipidique, la production de radicaux libres et stimulent l'activité des enzymes anti-oxydantes (Jainu et al., 2005).

Thymus vulgaris L. se situait parmi les fines herbes séchées contenant les plus grandes capacités antioxydantes. Différents composés du thym lui permettent de posséder un tel statut, comme les phénols (thymol et carvacrol), les flavonoïdes, l'acide rosmarinique, l'acide caféïque et la vitamine E (Guillén et Manzanos, 1998 ; Kulišić et al., 2006). Ces constituants inhibent la peroxydation lipidique induite *in vitro* au niveau des mitochondries et des microsomes. Ils inhibent également partiellement la production de l'anion superoxyde (Bruneton, 1999).

L'extrait aqueux des feuilles de *Thymus vulgaris* a présenté une activité antioxydante importante, et les caractéristiques anti-oxydantes observées sont liées à la teneur en acide rosmarinique, composé phénolique principal dans l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* (Thuille et al., 2003).

Ferreira et al. (2006) ont étudié l'activité anti-oxydante de trois extraits (huile essentielle, extrait éthanolique et décoction) de dix espèces de plantes médicinales dont

Laurus nobilis, cette espèce a montré des valeurs élevées pour l'activité anti-oxydante pour chacun des trois extraits.

L'activité antioxydante, anti-inflammatoire, hypotensive des extraits alcooliques de l'aubépine (fruits, fleurs et feuilles) a été prouvée *in vitro* (Bahorun et al., 1996 ; Fong et Bauman, 2002 ; Maria et al., 2005).

Gachkar et al., (2007) ont montré que les huiles essentielles du romarin et du cumin ont présenté des activités antiradicalaires et anti-oxydantes.

Nickavar et al., (2008) ont montré que les deux espèces de la menthe (*Mentha longifolia* L. et *Mentha pulegium* L.) présentent une activité anti-oxydante très significative. Cette activité est due essentiellement à la présence des flavonoïdes et des acides phénoliques.

3/ Activité anti-inflammatoire

Les propriétés anti-inflammatoires du gingembre sont connues depuis des centaines d'années. Au cours de ces 25 ou 30 dernières années, de nombreux laboratoires ont apporté des preuves scientifiques soutenues par les connaissances anciennes que le gingembre contient des composants ayant des propriétés anti-inflammatoires. La découverte, au début des années 1970 montrait que le gingembre exerce des effets inhibiteurs sur la production de prostaglandines a été confirmée à plusieurs reprises. Le gingembre agit sur la synthèse des prostaglandines en inhibant les Cox-1 et Cox-2. Il réduit également la biosynthèse des leucotriènes en inhibant la 5-lipoxygénase. Ainsi, par ces différentes voies, le gingembre module l'inflammation (Grzanna et al., 2005).

Différents tests *in vitro* et *in vivo* ont montré que l'extrait de griffe-de-chat (*Uncaria tomentosa*) et en particulier, ses glycosides, peut inhiber l'inflammation de 46 à 89 %. Les résultats de ces études ont validé son long passé d'utilisation traditionnelle pour les troubles inflammatoires de l'estomac ou des intestins. Des études *in vivo* sur le rat ont également montré son efficacité sur les ulcères gastriques (Sandoval-Chacin et al., 1998).

L'extrait d'ortie (*Urtica dioica*) réduit la libération d'IL-2 et d'interféron gamma par les monocytes, pouvant ainsi probablement inhiber la cascade inflammatoire dans des maladies auto-immunes (Klingelhofer et al., 1999). Il diminue la sécrétion du TNF-alpha par les cellules dendritiques, entraînant un affaiblissement dans la réponse inflammatoire à médiation cellulaire (Broer et al., 2002).

L'extrait de l'angélique coréenne (*Angelica gigas*) a démontré son efficacité contre de nombreux types de douleurs, particulièrement contre celle d'origine inflammatoire (Choi et *al.*, 2003). Des recherches indiquent que son principe actif, le décursinol, inhibe l'activation du facteur nucléaire kappa-B (NF-kB), un facteur de transcription de l'ADN qui active de nombreux états inflammatoires et pathologiques, incluant le cancer (Kim et *al.*, 2006).

4/ Autres activités biologiques

Une étude a été réalisée par Görbüz, (2002) où cinq plantes aromatiques dont *Laurus nobilis*, sont employées traditionnellement en Turquie pour traiter le mal d'estomac. Elles ont été choisies pour déterminer leur pouvoir anti-ulcère. Une décoction et un extrait méthanol ont été préparés à partir des fruits de Laurier pour déterminer leurs effets sur un modèle d'ulcère gastrique induit par l'éthanol chez des rats. Les expériences pharmacologiques et les techniques histopathologiques ont clairement montré que ces extraits ont significativement protégé l'estomac contre ce modèle d'ulcère.

Des expériences réalisées *in vivo* par Zhang et ses collaborateurs (2004) ont démontré que l'administration de l'extrait obtenu à partir de la partie charnue des fruits du genre *Crataegus* augmente la concentration du α Tocophérol et inhibe l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein) humains.

Des études réalisées *in vitro* ont démontré que les extraits à base de procyanidines de l'aubépine aident à réduire le niveau du cholestérol et à diminuer le taux des triglycérides (Chang et *al.*, 2002 ; Svedstroma et *al.*, 2006 ; Zhang et *al.*, 2006).

L'extrait de *Rosmarinus officinalis* a présenté une activité anti spasmolytique, diurétique, hépato protectrice, un soulagement des désordres respiratoires (Lemonica et *al.*, 1996 ; Souza et *al.*, 2008).

D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (Offord et *al.*, 1995).

Des études suggèrent un rôle protecteur des flavonoïdes contre les maladies coronariennes, en empêchant le dépôt de graisses sur les parois des artères. Ces travaux ont été initiés dans les années 1990 et les chercheurs ont tenté de mieux comprendre les mécanismes d'action de ces molécules (Zabri et *al.*, 2008).

Les décoctions des feuilles et des fruits de *Crataegus aronia* sont utilisées pour traiter les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer dans la médecine arabe traditionnelle (Ljubuneire et *al.*, 2005).

Chenni et ses collaborateurs (2007) ont étudié l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* qui diminue les endommagements issus du stress oxydatif chez les rats traités par des doses élevées de cholestérol.

Bouderbala et *al.*, (2008) ont montré que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Ajuga iva* peut réduire le stress oxydant et diminuer la peroxydation lipidique chez des rats hypercholestérolémiques.

Une étude élaborée par willatgamuwa et ses collaborateurs en 1998, sur des rats diabétiques induits par la streptozotocine a montré une diminution de l'hyperglycémie et de la glucosurie, après un régime diététique contenant 1.25% de la poudre de cumin.

Une étude montre que les extraits de canneberge ont la capacité d'inhiber l'oxydation du LDL cholestérol et d'avoir un effet préventif sur les maladies cardiovasculaires (Wilson et *al.*, 1998).

PARTIE EXPERIMENTALE

I/ MATERIEL ET METHODES

La partie expérimentale (*in vitro*) a été réalisée au niveau des Laboratoires de Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Hassiba Ben Bouali CHLEF, Algérie.

La partie expérimentale (*in vivo*) a été réalisée au niveau du Laboratoire de Toxicologie et Pharmacologie du groupe ANTIBIOTICAL-SAIDAL. MEDEA - Algérie.

1/MATERIEL

1-1/ Matériel biologique

1-1-1/ Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Thymus vulgaris*, d'*Aloysia triphylla*, de *Pistacia lentiscus*, d'*Olea europaea* et des graines de *Trigonella foenum-graecum*.

- La plante *Thymus vulgaris* a été récoltée le mois d'octobre 2011 de la région de « Medjadja » (Latitude: 36°14'40.78"N, Longitude: 1°23'42.76"E, Altitude = 168m) Wilaya de CHLEF. Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, les feuilles sont broyées grossièrement dans un moulin électrique.
- Les feuilles d'*Aloysia triphylla* ont été récoltées le mois de novembre 2011 de la région de « Ouled abbas » (Latitude: 36°11'0.51"N, Longitude: 2° 5'41.01"E, Altitude = 294m) Wilaya de AIN DEFLA. Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, les feuilles sont transformées en poudre.
- Les feuilles d'*Olea europaea* soumises à l'expérimentation ont été collectées le mois d'octobre 2011 de la région « Chettia » (Latitude: 36°10'11.66"N, Longitude: 1°13'41.63"E, Altitude = 94m) Wilaya de CHLEF. Elles ont été séchées à l'ombre et à une température ambiante, puis elles ont été fragmentées.
- Les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été récoltées en février 2012 de la région de « Chorfa » (Latitude: 36° 9'14.57"N, Longitude: 1°19'7.96"E, Altitude =108m) Wilaya de CHLEF. Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, le matériel végétal est fragmenté.
- Les graines de *Trigonella foenum-graecum* achetées chez un herboriste (CHLEF) ont été nettoyées et transformées en poudre à l'aide d'un moulin électrique (Birjees Bukhari et al., 2008).

1-1-2/ les bactéries pathogènes

Pour les tests de l'activité antibactérienne, une gamme de dix microorganismes pathogènes a été choisie.

- Trois souches de collection internationale ATCC (American type culture collection): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922. Elles ont été fournies par le laboratoire de microbiologie, université Mentouri de Constantine.
- Des bactéries pathogènes isolées à partir des échantillons cliniques (fèces et urines): *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* et *Salmonella typhimurium*.

1-1-3/ les animaux

L'étude *in vivo* a été réalisée sur des souris mâles, *Swiss albinos (NMRI)* dont le poids varie entre 17 et 25 g pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire, et entre 25 et 30 g pour l'activité hypocholestérolémiante. Ils ont été procurés du Centre de Recherche et de Développement (CRD) SAIDAL-Alger. Les animaux sont hébergés dans des cages de polypropylène munies d'un porte étiquette où est mentionné le nom du lot, le traitement subi et les dates des expérimentations et exposés à la lumière 12h/24h. Les locaux sont dotés d'une climatisation dynamique avec une température de 20 - 24°C, le bruit ne dépasse pas 65 décibels, et un taux d'humidité (50 ± 10 %). Ils ont accès libre à l'eau et à l'aliment standard.

2/ METHODES

2-1/ Préparation des extraits aqueux

Les extraits aqueux sont des préparations aqueuses à partir des plantes médicinales entières ou de parties de celles-ci, convenablement divisées pour être plus facilement pénétrées par l'eau. La préparation des extraits aqueux a été effectuée par infusion et décoction.

2-1-1/ Infusion

Elle consiste à recouvrir la drogue fragmentée d'eau potable bouillante et à laisser refroidir. L'infusion convient aux drogues fragiles et aux drogues riches en huiles essentielles (Wichtl et Anton, 2003).

- *Protocole expérimental*

100 ml d'eau bouillante sont versés sur 10 g de poudre des feuilles de *T. vulgaris* dans un récipient en verre recouvert périodiquement. Après 15 minutes de contact, l'extrait aqueux est récupéré par filtration sur papier Wattman. Le filtrat obtenu est concentré au Rotavapeur à la température de 55 °C (Kulšić et al., 2006; Büyükbalci et Nehir El, 2008 ; György, 2010).

Pour *Trigonella foenum-græcum* on a effectué une infusion de 5 g de poudre des graines pendant 15 minutes dans 100 ml d'eau bouillante (Al-dalain et al., 2008). Après une filtration sur papier Wattman, le filtrat obtenu est concentré au Rotavapeur à une température de 55 °C (Büyükbalci et Nehir El, 2008).

La préparation de l'extrait aqueux des feuilles d'*A. triphylla* est effectuée par infusion (Ricco et al., 2010 ; Lenoir et al., 2011). Sur 10 g de poudre d'*A. triphylla*, on verse 100 ml d'eau bouillante dans un récipient en verre. Après 20 minutes de contact, l'extrait aqueux est récupéré par filtration sur papier Wattman. Le filtrat est concentré au Rotavapeur à une température de 55 °C (Büyükbalci et Nehir El, 2008 ; Ricco et al., 2010).

2-1-2/ Décoction

La décoction consiste à maintenir la drogue avec de l'eau potable à ébullition pendant une durée de 15 à 30 minutes. On ajoute donc la drogue à de l'eau froide puis le mélange est porté à ébullition pendant la durée nécessaire et filtré après un bref repos (Wichtl et Anton, 2003).

Cette méthode est adaptée pour des drogues de consistance dure voire très dure (bois, racines, écorces, fruits durs ou tiges et certaines feuilles) (Goetz, 2004).

- *Protocole expérimental*

Pour 10 g des feuilles d'*O. europaea* et de *P. lentiscus*, on ajoute 100 ml de l'eau. Le tout a été porté à ébullition pendant 15 minutes à 100°C (Bennani-Kabchi et al., 2000).

Après refroidissement une filtration a été effectuée sur papier Wattman. Le filtrat a été concentré au Rotavapeur à une température de 55 °C.

Les filtrats obtenus ont été concentrés par évaporation dans une étuve portée à 40 °C pendant 48 h, jusqu'à l'obtention d'un résidu sec dont la quantité est exprimée en mg conservé à - 4°C.

2-2/ préparation des extraits hydro-alcoolique

La préparation de l'extrait hydro-alcoolique a été effectuée par macération de 10g de matière végétale dans une solution hydro-alcoolique à 50%. Après 72 heures de contact, les macérât sont filtrés et concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 48°C (Peixoto et *al.*, 2011).

Les filtrats obtenus ont été concentrés par évaporation dans une étuve portée à 40 °C pendant 48 h, jusqu'à l'obtention d'un résidu sec dont la quantité est exprimée en mg conservé à - 4°C.

2-3/ Screening phytochimique des extraits

Dans le but de caractériser les extraits préparés à partir des feuilles de *Thymus vulgaris*, d'*Aloysia triphylla*, d'*Olea europaea*, de *Pistacia lentiscus* et des graines de *Trigonella foenum-graecum*, des analyses qualitatives et quantitatives ont été effectuées.

2-3-1/ Les analyses qualitatives

Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques (polyphénols, flavonoïdes, tanins.....etc.) dans les extraits. Ces essais permettent d'avoir des informations préliminaires sur la composition chimique.

2-3-1-1/ Recherche des polyphénols

La réaction au chlorure ferrique (FeCl₃) a permis de caractériser les polyphénols.

A 2 ml de chaque extrait, on ajoute une goutte de solution alcoolique de trichlorure ferrique à 2 %. La présence de dérivés polyphénoliques provoque l'apparition d'une coloration bleue ou vert foncé (Kablan et *al.*, 2008).

2-3-1-2/ Recherche des flavonoïdes

Le test consiste à ajouter à 1ml des extraits quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCL) et 0.5g de magnésium (Mg). On laisse agir 3 minutes. Une coloration orange ou rouge implique la présence des flavonoïdes (Karumi et *al.*, 2004 ; Lock et *al.*, 2006).

2-3-1-3/ Recherche des tanins

1 ml de chaque extrait a été mélangé avec 10 ml d'eau distillée et filtrée. Le réactif de chlorure ferrique à 1% (3 gouttes) a été ajouté au filtrat. Un bleu-noir ou vert précipité a confirmé la présence de tanins galliques ou tanins catéchol, respectivement (Dohou, 2003 ; Qnais et *al.*, 2007).

2-3-1-4/ Recherche des alcaloïdes

Chaque extrait (0,2ml) a été mélangé avec 5 ml de l'acide chlorhydrique à 1% et placé sur un bain devapeur. Ensuite, 1 ml du filtrat a été traité avec le réactif de Mayer (3 gouttes). La turbidité ou la précipitation avec ce réactif a été considérée comme une preuve pour la présence des alcaloïdes (Qnais et *al.*, 2007).

2-3-1-5/ Recherche des stérols et triterpènes

A 2 ml de chaque extrait, 1ml d'acide sulfurique concentré est ajoutée. Le chloroforme a été ajouté le long des côtés du tube d'essai. Les tubes à essai ont été bien agités. Après un repos, l'apparition de la couleur rouge dans la couche supérieure a montré la présence de stérol et l'apparition de la couleur jaune dans la couche inférieure a indiqué la présence de triterpenoides (Kavishankar et *al.*, 2011).

2-3-1-6/ Recherche des saponines

A 5 ml de chaque extrait, une goutte de bicarbonate de sodium a été ajoutée. Les tubes ont été secoués vigoureusement et maintenus au repos pendant 3 minutes. L'apparition d'une mousse a indiqué la présence de saponines (Sudha et *al.*, 2011).

2-3-1-7/ Recherche des glycosides

A 2 ml d'extrait, 1 ml de solution aqueuse de NaOH a été ajouté. L'apparition d'une coloration jaune indique la présence de glycosides (Sudha et *al.*, 2011).

2-3-2/ Les analyses quantitatives

2-3-2-1/ Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux dans les extraits aqueux a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au réactif de Folin Ciocalteu (Singleton et *al.*, 1999 ; Wong et *al.*, 2006 ; Li et *al.*, 2007).

- *Principe*

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéropolyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu (Daels-rakotoarison, 1999).

- *Mode opératoire*

5 ml d'eau distillée sont ajoutés à 200 µl de chaque extrait (préparé avec des dilutions convenables), après agitation, 1 ml de la solution de Folin Ciocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée) est ajouté à l'ensemble et laisser reposer 3 min, puis on ajoute 0.8 ml de la solution de carbonate de sodium à 10 % (75 mg/l d'eau distillée) ; après 30 min d'incubation à la température du laboratoire et à l'abri de la lumière , l'absorbance est lue à 765 nm (Kähkönen et *al.*, 1999).

Le taux de phénols totaux dans nos extraits, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$), établie avec des concentrations précises d'acide gallique comme standard de référence (Annexe I). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait en poudre (*mg Eq AG/ g*) (Kamazawa et *al.*, 2002).

La quantité des phénols totaux est calculée par l'équation suivante :

$$C = c \cdot v / m$$

C : contenu total des phénols (mg équivalent acide gallique /g d'extrait).

c : Concentration de l'extrait aqueux équivalente à l'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml).

v : volume de l'extrait (ml).

m : masse de l'extrait pur de la plante (g).

L'expérience a été faite en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

2-3-2-2/ Dosage des flavonoïdes

- Principe

La teneur totale en flavonoïdes dans les extraits a été déterminée par spectrophotométrie en utilisant la méthode de chlorure d'aluminium basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium (Zhou et *al.*, 2005).

- Mode opératoire

Un volume de 1 ml d'une solution éthanolique d' AlCl_3 (2%) a été ajouté à 1ml d'échantillon. Après 1 h d'incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance a été mesurée à 420 nm (Wu et *al.*, 2009).

Une courbe d'étalonnage établie par la quercétine (Annexe I), servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur totale en flavonoïdes des extraits de plantes a été exprimée en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de poudre de plante (**mg Eq Q/g**).

L'expérience a été faite en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

2-3-3/ Chromatographie liquide à haute performance HPLC

La Chromatographie liquide à haute performance (HPLC-C18) (Figure 9) a été utilisée pour analyser les différents extraits des plantes (extraits aqueux et hydro-alcoolique).

Principe :

La méthode de séparation fait appel aux mêmes éléments de base que ceux employés pour la chromatographie classique sur colonne, soit un ou plusieurs solvants et une colonne remplie avec une phase stationnaire, mais avec un appareillage plus sophistiqué. La grande différence par rapport à la chromatographie classique réside dans la durée d'élution.

Cette vitesse est obtenue par l'application d'une pression élevée grâce à une pompe qui maintient constant le débit de l'éluant, elle se distingue également de la chromatographie classique par l'utilisation d'un détecteur dont le message est enregistré puis exploité par un détecteur relié au système (Braithwaite et Smith, 1999).

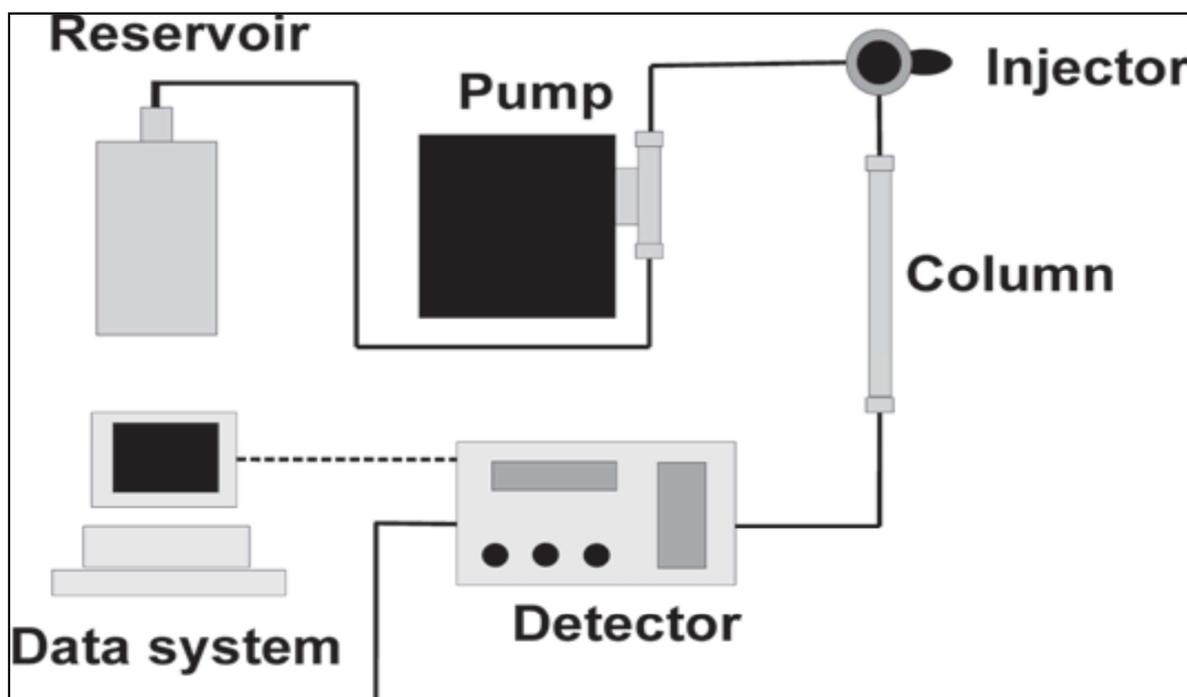


Figure 9 : Les différentes parties de la Chromatographie liquide à haute performance HPLC (Sampietro et al., 2009).

- *Mode opératoire*

L'analyse des composés phénoliques dans les différents extraits étudiés a été réalisée en utilisant la Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à un détecteur multi-longueur d'onde UV-Visible.

La séparation a été effectuée sur 25.0 x 0.46 cm, Discovery HS C18 Spherisorb colonne à une température ambiante. La phase mobile est constituée d'Eau/acide formique (19:1) (solvant A) et de méthanol (solvant B). Le débit a été maintenu à 1ml/min. Le programme de gradient était le suivant: 0 min, 30% B; 15 min, 30% B; 20 min, 40% B; 30 min, 45% B; 50 min, 60% B; 60 min, 80% B; 65 min, 80% B. Le volume d'injection a été de 20µl et les pics ont été contrôlés à 280 nm. Les échantillons ont été filtrés à travers un filtre de 0.45 µm avant l'injection. Les pics ont été identifiés par les temps de rétention congruents par rapport aux standards.

2-4/ Etude des activités biologiques des extraits

Nous avons étudié l'activité antibactérienne des extraits aqueux vis-à-vis des bactéries pathogènes par la méthode de diffusion à partir d'un disque solide et l'activité anti-oxydante en utilisant cinq méthodes (test au DPPH, blanchissement de la β -carotène, phosphomolybdate, FRAP et FTC).

2-4-1/ Etude de l'activité antibactérienne

2-4-1-1/ Repiquage et revivification des bactéries pathogènes

Les souches sont conservées dans des milieux appropriés. Elles sont activées et maintenues par un repiquage. On prélève à l'aide d'une anse à platine des colonies, on les ajoute à 09 ml de bouillon nutritif, on ferme bien les tubes à essai puis on agite pour rendre parfaitement le mélange homogène et enfin une incubation à 37° C pendant 72 heures.

2-4-1-2/Préparation des suspensions des bactéries pathogènes

A partir des tubes à essai, on prend une goutte à l'aide d'une anse à platine et par l'utilisation de la méthode des stries, on l'ensemence sur le milieu sélectif gélosé coulé sur la boîte de pétri puis on incube à 37° C pendant 24 à 48 heures.

La préparation des suspensions bactériennes se fait par le transfert de quelques colonies à l'aide d'une pipette pasteur à partir des cultures bactériennes jeunes dans une solution de l'eau physiologique (0.9 % de NaCl) pour avoir un inoculum de 10^8 UFC /ml (Ndip et *al.*, 2007).

2-4-1-3/ Spectre antibactérien des extraits

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits, la méthode de diffusion à partir d'un disque de papier a été effectuée (Essawi et Srour, 2000 ; Choi et *al.*, 2006 ; Karthikeyan et *al.*, 2009 ; Saadabi et *al.*, 2011).

Les différents extraits aqueux sont dissous dans l'eau distillée stérile et les extraits hydro-alcooliques sont dissous dans DMSO. Des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre contenant le milieu Mueller Hinton agar, sont inoculées par la suspension bactérienne pathogène. Ensuite un disque de papier Whatman stérile de 6 mm de diamètre imbibé par 30 μ l d'extrait (reconstitué selon la concentration voulue) est déposé à la surface de la géloseensemencée (Bayoub et *al.*, 2010 ; Gupta et *al.*, 2012). Avec trois répétitions.

L'ensemble est incubé pendant 24 heures à 37°C, la présence autour des disques d'une zone d'inhibition circulaire claire dans laquelle il n'y a pas de croissance de micro-organismes dénote la sensibilité de ceux-ci à cet extrait. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible.

2-4-1-4/ Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est déterminée comme étant la concentration minimale de l'extrait qui inhibe la croissance de 90 % de la population bactérienne après un temps d'incubation à 37 °C (Skandamis et *al.*, 2001).

La détermination de la concentration minimale inhibitrice a été réalisée par la méthode des microdilutions en milieu solide rapportée par Billerbeck et *al.*, (2002).

Une solution-mère de chaque extrait (d'une concentration finale de 10 % = 0.1 g/ml) est obtenue en eau distillée ou le DMSO, puis une série de dilutions de raison géométrique 2 est réalisée extemporanément en eau distillée, à partir de la solution-mère.

1 ml de chaque dilution est alors incorporé à 19 ml de milieu Mueller Hinton agar maintenu en surfusion. Les mélanges sont immédiatement repartis dans des boîtes de pétri. La gamme des concentrations finales obtenue correspond à 0.5 - 0.25 - 0.125 - 0.0625 - 0.0312 - 0.0156 - 0.0078 - 0.0039 - 0.0019 et 0.0010 %.

Après solidification, l'inoculation des géloses, contenant l'extrait ou non (témoin) est effectuée en surface, sous forme de dépôts de 10 µl de suspension bactérienne pathogène. Après incubation à 37°C pendant six jours, la croissance est comparée à celle du témoin.

2-4-1-5/ détermination de la sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet des extraits aqueux.

Dans des boites de pétri contenant la gélose MH et ensemencées par une charge bactérienne bien définie pour chaque bactérie pathogène ; des disques imprégnés d'antibiotiques, de doses connues, sont appliqués à la surface, les boites sont incubées à une température de 37 °C pendant 18 à 24 h (Guérin-Fauble et carret, 1999).

La lecture des résultats se fait par la mesure de la zone d'inhibition formée autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée.

- *Les antibiotiques utilisés sont :*

Pénicilline « P » (10 µg), Spectinomycine « SH » (10 µg), Tobramycine « Tob » (10 µg), Ampicilline « A » (10 µg), Kanamycine « K » (30 µg), Gentamycine « GN » (10 µg) et Oxacilline « OX » (1 µg).

2-4-2/ Etude de l'activité anti-oxydante des extraits

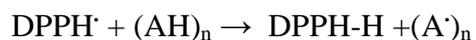
2-4-2-1/ Test au DPPH

L'activité antioxydante des extraits est mesurée par l'utilisation de la méthode de DPPH, qui est un radical libre, stable, et possède une bande d'absorbance à 517 nm.

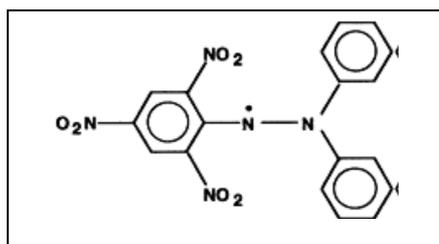
- *Principe*

Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH), est un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez-Moreno, 2002).

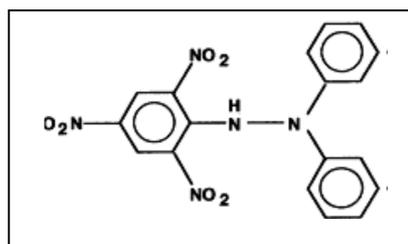
On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où $(\text{AH})_n$ représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune) (Figure 10). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.



DPPH (radical libre).



DPPH (radical capté).

Figure 10 : Forme libre et réduite du DPPH. (Molyneux, 2004).

- *Mode opératoire*

Pour la préparation de la solution du DPPH dont la concentration de cette solution est de 0.004%, 250 μl de diverses concentrations de chaque extrait (25, 50, 100, et 200 mg/ml), ou du standard (le BHT) ont été ajoutés à 1 ml de la solution du DPPH préparée, et on laisse

30 minutes à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 517 nm contre le blanc (Loo et *al.*, 2008).

Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité Anti-radicalaire} = [(A1 - A2) / A1] \times 100$$

A1 : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2 : absorbance en présence d'extrait ou standard.

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le standard (antioxydant de référence).

Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = *f*(concentration)] (Annexe I).

L'expérience a été faite en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

2-4-2-2/ Méthode de blanchissement de la β-carotène

- Principe

Dans ce processus, un atome d'hydrogène séparé du groupe méthylène actif de l'acide linoléique libre génère un radical de pentadiényl qui attaque les molécules du β-carotène insaturé. Par conséquent, les molécules du β-carotène perdent leur couleur orange caractéristique, qui peut être mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (Frankel, 1998 ; Zargar et *al.*, 2011).

- Mode opératoire

1 ml de solution du β-carotène dans du chloroforme (1 mg/10ml) a été introduit à l'aide d'une pipette dans une fiole, qui contient 40 µl d'acide linoléique et 400 mg de Tween40. Le chloroforme a été évaporé à 45 °C pendant 5 minutes en utilisant un évaporateur rotatif sous vide. 100 ml d'eau oxygénée ont été ajoutés au résidu. L'eau a été ajoutée lentement au mélange et on agite énergiquement pour former une émulsion (Chanwitheesuk et *al.*, 2005; Conforti et *al.*, 2009).

200 µl de chaque extrait (200 mg/ml) ont été ajoutés à 2.5 ml de cette émulsion. Les tubes à essai ont été incubés dans un bain d'eau à 50 °C pendant 3 h. L'absorbance a été mesurée à 470 nm.

Le pourcentage de l'activité anti-oxydante a été calculé à partir de l'équation suivante (Zargar et *al.*, 2011) :

$$AA\% = 100 \times [1 - (A_0 - A_t) / (A_{00} - A_{0t})]$$

AA%: pourcentage de l'activité antioxydante.

A₀: l'absorbance au début de la réaction.

A_t: l'absorbance après 3h, avec extrait ou le BHT.

A₀₀: l'absorbance au début de la réaction du contrôle négatif (200 µl de l'éthanol et 2.5 ml de l'émulsion).

A_{0t}: l'absorbance après 3h du contrôle négatif.

Un blanc contenant la solution mère sans β-carotène a été utilisé pour amener le spectrophotomètre à zéro. Le pourcentage de l'activité antioxydante a été comparé avec le standard BHT qui a été utilisé dans les mêmes conditions des extraits.

2-4-2-3/ Détermination de la capacité anti-oxydante totale par la méthode de phosphomolybdate

- Principe

La capacité antioxydante totale de différents extraits a été évaluée par la méthode de formation du complexe phosphomolybdate selon la méthode de Prieto et *al.*, 1999.

Cette méthode est basée sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) en présence des composés antioxydants et donc la formation d'un complexe vert de phosphate/Mo (V) à un pH acide (Sahu et Laloo, 2011).

- Mode opératoire

0.3 ml de chaque extrait a été mélangé avec 3 ml de solution réactif (0.6 M d'acide sulfurique, 28 mM de Phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Les tubes contenant la solution de réaction ont été incubés à 95 °C pendant 90 min. Ensuite, l'absorbance de la solution a été mesurée à 695 nm en utilisant le spectrophotomètre contre le

blanc qui contient 0.3 ml du méthanol à la place de l'extrait après refroidissement à une température ambiante (Mašković et al., 2012).

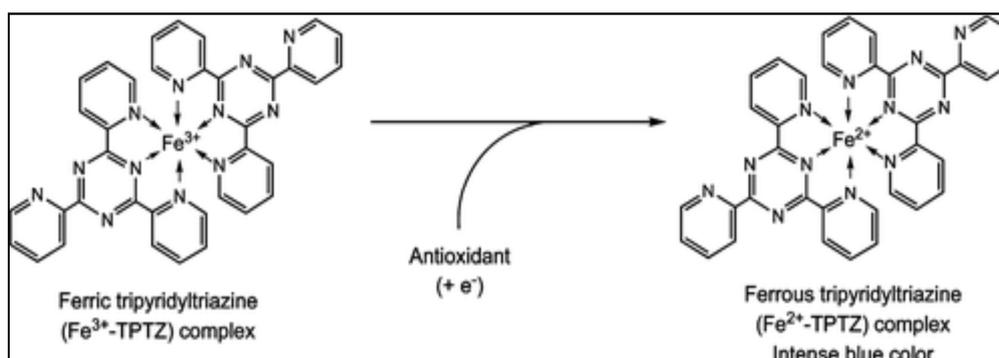
La capacité antioxydante totale a été exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (*mg Eq AA/g d'extrait*) à partir d'une courbe d'étalonnage de l'Acide ascorbique (Annexe I).

L'expérience a été faite en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

2-4-2-4/ Méthode de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

- *Principe*

La méthode FRAP consiste à mesurer la capacité d'un échantillon à réduire le complexe ferrique tripyridyltriazine au tripyridyltriazine à un faible pH. Ce complexe de tripyridyltriazine ferreux a une couleur bleu intense mesurée par un spectrophotomètre à 593 nm (Benzie et Strain, 1996).



- *Mode opératoire*

Le réactif FRAP a été préparé en mélangeant du tampon acétate de sodium (300 mM, pH 3.6), une solution de 10 mM TPTZ dans 40 mM HCl et 20 mM de FeCl₃ en raison de 10:01:01 (v / v / v).

200 µl de chaque extrait ont été ajoutés à 3 ml de réactif de FRAP. Après incubation dans l'obscurité à 37 °C pendant 30 min, l'absorbance a été mesurée à 593 nm contre le blanc (Le réactif FRAP) (Benzie et Strain, 1996).

Les concentrations ont été calculées en fonction de la courbe d'étalonnage, qui a été obtenue en utilisant des solutions de FeSO₄ (Annexe I). Les résultats du potentiel antioxydant des extraits ont été exprimés en moles de Fe²⁺ par gramme d'extrait. L'expérience a été faite en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

2-4-2-5/ Méthode de FTC (*Ferric thiocyanate method*)

- *Principe*

Cette méthode est basée sur l'oxydation de l'acide linoléique qui génère la formation de peroxyde qui oxyde Fe²⁺ en Fe³⁺. Ces derniers ions forment un complexe avec le thiocyanate mesuré à une absorbance maximale de 500 nm (Gülçin et *al.*, 2007).

- *Mode opératoire*

Chacun des différents extraits (40 mg) et de standards comme la vitamine C et l'acide gallique (40 mg) ont été mélangés avec 4 ml d'éthanol absolu, 4,1 ml de l'acide linoléique (2.52 %) dans l'éthanol absolu, 8 ml de tampon phosphate (0.02 M) à pH 7, et 3.9 ml d'eau distillée. La solution mélangée est incubée à 37⁰C dans une fiole en verre.

A des intervalles réguliers au cours de l'incubation, une aliquote de 0.1 ml du mélange a été diluée avec 3.7 ml d'éthanol, suivie par l'addition de 0.1 ml de thiocyanate d'ammonium (30 %) et de 0.1 ml de chlorure ferreux (20 Mm) dans de l'acide chlorhydrique à 3.5 %. Le niveau de peroxydation a été déterminé par la lecture de l'absorbance à 500 nm.

Cette étape a été répétée toutes les 24h jusqu'à ce que le contrôle négatif a atteint sa valeur maximale d'absorption. Par conséquent, une forte absorbance indique l'oxydation d'émulsion d'acide linoléique.

Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation des lipides dans l'émulsion de l'acide linoléique a été calculé par l'équation suivante:

$$\text{Inhibition de peroxydation des lipides (\%)} = 100 - [(A_{\text{Echantillon}}/A_{\text{contrôle}}) \times 100]$$

A_{contrôle} : Absorbance du contrôle négatif.

A_{Echantillon} : Absorbance en présence de l'échantillon ou de standards (Gülçin et *al.*, 2004).

L'expérience a été faite en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

Pour les tests des activités biologiques *in vivo*, nous avons étudié l'activité anti-inflammatoire et l'activité hypocholestérolémiante des extraits aqueux et hydro-alcoolique.

2-4-3/ Etude de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux a été évaluée en mesurant l'œdème induit par la carragénine (Mulla et *al.*, 2010; Sharma et *al.*, 2010 ; Alam et *al.*, 2011).

- *Principe*

Vérification de l'action inhibitrice des extraits aqueux et hydro-alcooliques des plantes sur l'inflammation chimique provoquée par l'injection de 0.1 ml du carragénine à 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche du souris (Khabbal et *al.*, 2006).

- *Mode opératoire*

Les souris réparties en 22 lots de 5 ont été mises à jeun pendant 16 heures avant l'expérimentation. On mesure pour chaque souris le volume initial (Vo) de la patte arrière gauche. Ensuite, le groupe de contrôle a été gavé avec de l'eau distillée. Chaque extrait aqueux et hydro-alcoolique a été administré à une dose de 50 mg/kg et 200 mg/kg.

Les souris constituant le groupe de référence ont été gavées avec le diclofenac du sodium à une dose de 150 mg/kg. Trente minutes après gavage, 0.1 ml de carragénine à 1% a été injecté sous le coussinet plantaire de la patte arrière gauche de chaque souris.

L'évolution de l'œdème de la patte a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse pendant une période allant de 0 à 210 min avec un intervalle de 30 min. (Annexe II).

Le pourcentage de l'inhibition de l'inflammation a été calculé selon l'équation suivante (Ndiaye et *al.*, 2006) :

$$\% \text{ de l'inhibition de l'inflammation} = 100 \times \frac{\% \text{ AUG contrôle} - \% \text{ AUG traité}}{\% \text{ AUG contrôle}}$$

Le pourcentage d'augmentation du volume (% AUG) de la patte de la souris est calculé par l'équation suivante :

$$\mathbf{Le \% AUG = 100 \times \frac{\text{volume de la patte au temps T} - \text{volume initial (V0)}}{\text{volume initial (V0)}}}$$

2-4-4/ Etude de l'activité hypocholestérolémiante

L'activité hypocholestérolémiante des extraits a été évaluée par la détermination du profil lipidique des souris sous un régime hypercholestérolémique (Khera et Bhatia, 2012).

- *Mode opératoire*

L'hypercholestérolémie a été induite chez les souris par une alimentation contenant 1% de cholestérol pendant 30 jours. Toutes les souris avaient un accès libre à la nourriture et l'eau *ad libitum* pendant la période d'expérimentation. Les souris sont réparties en 13 lots de 5. Les souris des groupes traités sont reçus en même temps les extraits des plantes par voie orale à une dose de 200 mg/kg, tandis que le groupe de référence a reçu par voie orale de l'atorvastatine (10 mg/kg), alors que le groupe de contrôle a reçu 0.5 ml d'eau distillée tous les matins. Le groupe témoin reçu un régime alimentaire normal.

Au bout de 30 jours d'expérimentation, les échantillons sanguins ont été prélevés à partir des souris de tous les groupes dans des tubes afin de mesurer les paramètres lipidiques suivants : total cholestérol (TC), triglycérides (TG), lipoprotéines de basse densité (LDL), lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et lipoprotéine de haute densité (HDL) (Annexe II).

Etude statistique

Les analyses de la variance ont été réalisées par le logiciel statistique XL Stat Pro 7.5.

La détermination des taux de signification est effectuée par ANOVA suivie du test de Tukey. Les différences ont été considérées statistiquement significatives à $P < 0,05$.

II/ RESULTATS ET DISCUSSION

1/ Etude phytochimique des extraits

1-1/ Rendement et analyses qualitatives

Les rendements des différents extraits sont définis comme étant les rapports de la quantité de substances végétales extraites sur la quantité de matière végétale utilisée.

Les rendements trouvés avec les extraits aqueux des feuilles de *T. vulgaris* et d'*A. triphylla* sont de 12.96 % et 12.64 % respectivement. Ces valeurs sont significativement ($P < 0,05$) supérieures à celles trouvées avec les extraits hydro-alcooliques des même plantes dont les rendements sont de 8.63 % et 12.59 % respectivement.

En revanche, les extraits hydro-alcooliques des feuilles de *P. lentiscus*, des graines de *T. foenum-graecum* et des feuilles d'*O. europaea* ont enregistré des rendements de 15.88 %, 10.05% et 07.19 % respectivement, significativement supérieurs ($P < 0,05$) à ceux enregistrés avec les extraits aqueux dont les valeurs respectives sont de 11.88 %, 04.82 % et 03.02% (figure 11).

D'après les résultats obtenus, on constate que la méthode d'extraction et le type des solvants utilisés jouent un rôle très important dans les rendements des extraits.

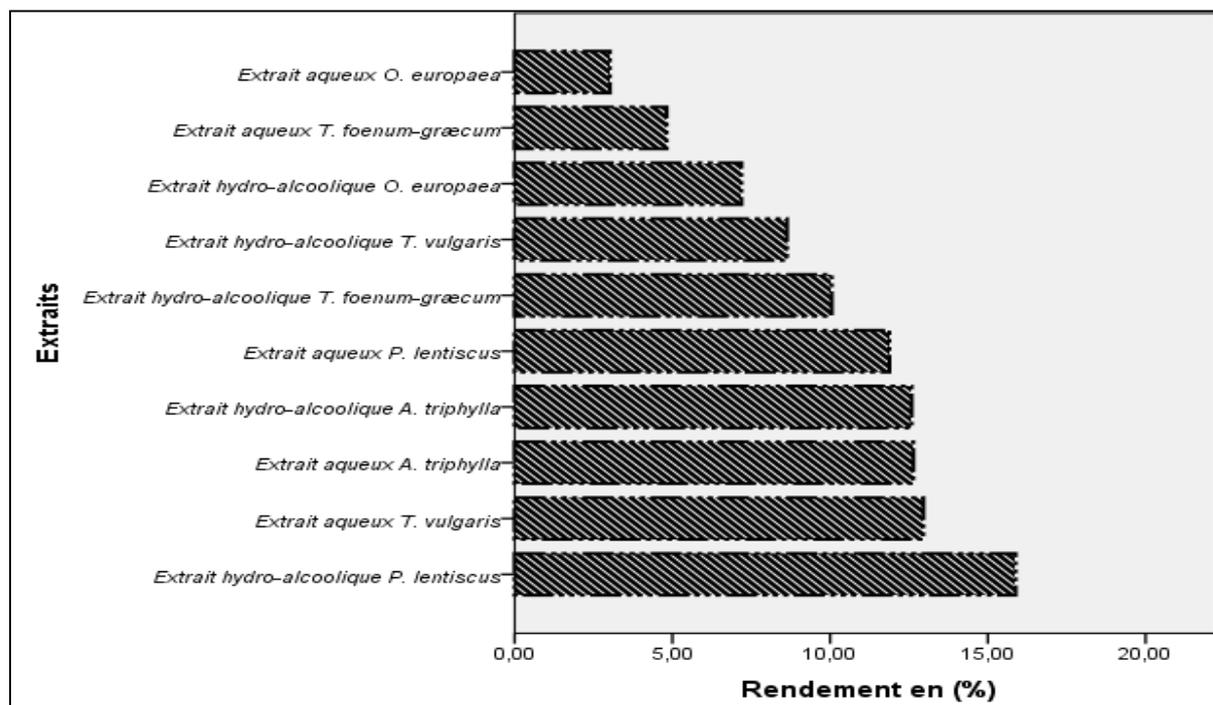


Figure 11 : Les rendements des différents extraits des plantes étudiées.

Les résultats des analyses qualitatives réalisées sur les extraits des matières végétales sont représentés dans le tableau 3.

On note l'absence des alcaloïdes dans les différents extraits des plantes étudiées. Les polyphénols, flavonoïdes, tanins, stérols et les glycosides sont présents dans tous les extraits des échantillons. Le test de détermination des triterpènes est positif pour les extraits des feuilles de *T. vulgaris*, d'*A. triphylla* et l'extrait hydro-alcoolique de *P. lentiscus*. Le test de présence des saponines est positif pour les extraits des feuilles de *T. vulgaris*, des graines de *T. foenum-græcum* et l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*O. europaea*. Les résultats obtenus varient d'un extrait à l'autre et d'un échantillon à l'autre (tableau 3).

Tableau 3 : Screening phytochimique des extraits de plantes.

Tests Extraits	Polyphénols	Flavonoïdes	Tanins	Stérols	Alcaloïdes	saponines	Triterpènes	glycosides
E. aqueux <i>T. vulgaris</i>	+	+	+	+	-	+	+	+
E. aqueux <i>A. triphylla</i>	+	+	+	+	-	-	+	+
E. aqueux <i>P. lentiscus</i>	+	+	+	+	-	-	-	+
E. aqueux <i>O. europaea</i>	+	+	+	+	-	-	-	+
E. aqueux Fenugrec	+	+	+	+	-	+	-	+
E. hyd-alcoo <i>T. vulgaris</i>	+	+	+	+	-	+	+	+
E. hyd-alcoo <i>A. triphylla</i>	+	+	+	+	-	-	+	+
E. hyd-alcoo <i>P. lentiscus</i>	+	+	+	+	-	-	+	+
E. hyd-alcoo <i>O. europaea</i>	+	+	+	+	-	+	-	+
E. hyd-alcoo Fenugrec	+	+	+	+	-	+	-	+

1-2/ Analyses quantitatives

1-2-1/Dosage des phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux de différents extraits des échantillons sont représentées dans le tableau 4. La teneur en phénols totaux a été déterminée selon la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu. Les teneurs en phénols totaux des extraits hydro-alcooliques sont significativement ($P < 0,05$) supérieures à celles trouvées avec les extraits aqueux.

La teneur en phénols significativement la plus élevée ($P < 0,05$) a été trouvée avec l'extrait hydro-alcoolique de *P. lentiscus* (97.26 ± 0.003 mg Eq AG/ g) suivie par l'extrait aqueux de la même plante (87.79 ± 0.173 mg Eq AG/ g) (tableau 4). Ebrahimzadeh et al., 2008 ont testé la gomme de *P.lentiscus*, ils ont trouvé que la teneur en phénols totaux est de 9.92 ± 0.12 (mg Eq AG/g).

L'extrait hydro-alcoolique d'*A. triphylla* a enregistré une teneur significativement ($P < 0,05$) plus élevée à celle trouvée dans l'extrait aqueux, les teneurs sont de 61.13 ± 0.00 (mg Eq AG/g) et 30.83 ± 0.006 (mg Eq AG/g) respectivement (tableau 4).

Un résultat similaire a été trouvé par Yoo et al., (2008) avec l'extrait méthanolique d'*A. triphylla* par rapport à celui de l'extrait aqueux dont la teneur en phénols totaux est de $770,7 \pm 2,2$ (mg GAE/100g). Par contre Zheng et al., (2001) ont montré que l'extrait d'*A. triphylla* contient $1,55 \pm 0,10$ (mg GAE/ g de poids frais) de phénols totaux. L'étude réalisée par Dadé et al., (2009) a montré que l'extrait aqueux d'*A. triphylla* contient une teneur totale en phénols de $1,70 \pm 0,19$ (umol Eq acide caféique/mg).

L'extrait hydro-alcoolique et aqueux de *T. vulgaris* ont montré une teneur en phénols totaux de 38.41 ± 0.001 et 24.09 ± 0.01 (mg Eq AG/g) respectivement ; ces teneurs sont significativement ($P < 0, 05$) plus élevées à celles trouvées avec les extraits hydro-alcoolique et aqueux de *T. foenum-græcum*, elles sont de 4.95 ± 0.033 et $2.78 \pm 0. 019$ (mg Eq AG/g) respectivement (tableau 4).

L'étude faite par Kähkönen et al., (1999) a montré que la teneur en phénols totaux de l'extrait acétonique de *T.vulgaris* est de 17.1 ± 0.2 (mg EAG / g). L'étude de Kulšić et al., (2006) a montré que la quantité de composés phénoliques totaux dans l'extrait aqueux de *T. vulgaris* L. et *T. serpyllum* est de 2000 et 4400 (ug EAG / mg / L) respectivement. Miron et al., (2010) ont montré que l'extrait éthanolique de *T. serpyllum* L. contient $3.11 \pm 0. 08$ (g

EAG / 100 g) de composés phénoliques totaux. Une teneur totale en phénols de 32.00 (mgEAG /g) a été trouvée par Armatu et *al.*, (2010) avec l'extrait méthanolique de *T. vulgaris*. Kratchanova et *al.*, (2010) ont dosé les polyphénols de l'extrait acétonique et aqueux de fenugrec, ils ont trouvé des teneurs de 1692 ± 105 et 1445 ± 41 mg/100g respectivement.

L'étude de Wojdyło et *al.*, (2007) réalisée sur 32 plantes a montré que la teneur en polyphénols totaux de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* est de 7.60 ± 0.11 mg EAG/100 g du poids sec.

L'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*O. europaea* a enregistré une teneur de phénols totaux de 24.58 ± 0.027 mg Eq AG/g significativement ($P < 0,05$) supérieure à celle trouvée avec l'extrait aqueux (11.40 ± 0.037 mg Eq AG/g) (tableau 4).

Qusti et *al.*, (2010) ont testé l'extrait hydro-alcoolique des fruits d'*O. europaea* verts et noirs, ils ont trouvé des teneurs en phénols totaux de 84.08 ± 3.18 et 144.47 ± 0.94 mg EAG/ g de poids frais.

1-2-2/Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes de différents extraits des échantillons sont représentées dans le tableau 4. La quantification des flavonoïdes dans les extraits a été effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (Wu et *al.*, 2009) . Les teneurs en flavonoïdes des extraits hydro-alcooliques sont significativement ($P < 0,05$) supérieures aux teneurs trouvées avec les extraits aqueux.

L'extrait hydro-alcoolique de *P. lentiscus* a présenté significativement ($P < 0,05$) la teneur en flavonoïdes la plus élevée (8.21 ± 0.008 mg Eq Q/ g), suivi par les extraits hydro-alcooliques et aqueux de *T. vulgaris* et d'*A. triphylla*, les valeurs respectives sont de 7.64 ± 0.0 , 6.61 ± 0.001 , 6.80 ± 0.001 et 6.41 ± 0.001 mg Eq Q/g. Par contre la teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux de *P. lentiscus* (3.10 ± 0.014 mg Eq Q/ g) est significativement ($P < 0,05$) inférieure à celle trouvée avec l'extrait hydro-alcoolique de la même plante (tableau 4).

Ebrahimzadeh et *al.*, 2008 ont testé la gomme de *P. lentiscus*, ils ont trouvé que la teneur en flavonoïdes est de 30.52 ± 1.10 (mg EqQ /g). Une valeur de 38.7 ± 0.02 (mg EqQ /g) a été trouvée par cherbal et *al.*, 2012 avec l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*.

L'étude de Yoo et *al.*, (2008) a montré que la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de *T. vulgaris* est de $299,9 \pm 0,5$ (mg EC /100 g). Une valeur de 3100 (ug EAG / mg/ L) a été trouvée par Kulšic et *al.*, (2006) avec l'extrait aqueux de *T. vulgaris*. L'étude menée par Spiridon et *al.*, (2011) a montré que l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *T. vulgaris* contient une teneur en flavonoïdes de 29.80 mg rutine/g.

Dadé et *al.*, (2009) ont testé les extraits aqueux de 21 plantes, ils ont trouvé que la teneur en flavonoïdes de trois espèces de la famille de Verbenaceae (*A. triphylla*, *A. gratissima* et *A. polystachya*) est de 0.50 ± 0.04 , 0.33 ± 0.03 et 0.41 ± 0.01 ($\mu\text{mol Eq rutine /mg}$) respectivement.

L'extrait hydro-alcoolique de *T. foenum-graecum* a montré une teneur en flavonoïdes significativement élevée ($P < 0,05$) par rapport à l'extrait aqueux de la même plante ; dans les extraits hydro-alcoolique et aqueux d'*O. europaea*, les valeurs sont de 2.04 ± 0.022 , 1.78 ± 0.020 , 1.06 ± 0.031 et 0.98 ± 0.005 mg EqQ /g respectivement (tableau 4).

Tableau 4: Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes des différents extraits.

Extraits	Teneurs (mg Eq AG/ g)	Phénols totaux (mg Eq AG/ g)	Flavonoïdes (mg Eq Q/ g)
Extrait aqueux <i>T. vulgaris</i>		24.09 ± 0.01^g	6.61 ± 0.001^d
Extrait aqueux <i>A. triphylla</i>		30.83 ± 0.006^e	6.41 ± 0.001^e
Extrait aqueux <i>P. lentiscus</i>		87.79 ± 0.173^b	3.10 ± 0.014^f
Extrait aqueux <i>O. europaea</i>		11.40 ± 0.037^h	0.98 ± 0.005^j
Extrait aqueux <i>T. foenum-graecum</i>		2.78 ± 0.019^j	1.78 ± 0.020^h
Extrait hydro-alcoolique <i>T. vulgaris</i>		38.41 ± 0.001^c	7.64 ± 0.0^b
Extrait hydro-alcoolique <i>A. triphylla</i>		61.13 ± 0.000^d	6.80 ± 0.001^c
Extrait hydro-alcoolique <i>P. lentiscus</i>		97.26 ± 0.003^a	8.21 ± 0.008^a
Extrait hydro-alcoolique <i>O. europaea</i>		24.58 ± 0.027^f	1.06 ± 0.031^i
Extrait hydro-alcoolique <i>T. foenum-graecum</i>		4.95 ± 0.033^i	2.04 ± 0.022^g

Les valeurs avec la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Selon les résultats obtenus, on constate que les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes diffèrent selon la plante étudiée et le solvant utilisé lors de l'extraction.

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différents solvants et de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études. Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques ; des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en composés phénoliques (Park et *al.*, 2003; Ebrahimzadeh et *al.*, 2008 ; Falleh et *al.*, 2008).

1-3/Analyse des composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La détection et la quantification des composés phénoliques des extraits ont été déterminés par HPLC et ils ont été séparés et détectés à 280 nm. Quatre composés phénoliques purs Acide caféique (1), quercétine (2), rutine (3) et lutéoline (4)) ont été utilisés dans l'analyse HPLC comme des standards, leurs temps de rétention sont de 12.44, 46.78, 55.36 et 57.37 minutes respectivement.

En comparant les temps de rétention des composés phénoliques standards avec les pics des chromatogrammes de différents extraits analysés, l'acide caféique, quercétine, rutine et lutéoline ont été détectés dans les extraits des feuilles de *T. vulgaris* (figure 12 et 13) ; les quantités trouvées dans les extraits aqueux sont de 196.70 , 81.54, 285.36 et 100.28 $\mu\text{g/g}$; dans les extraits hydro-alcoolique, elles sont de 521.50, 222.17, 916.02 et 280.21 $\mu\text{g/g}$ respectivement (tableau 5).

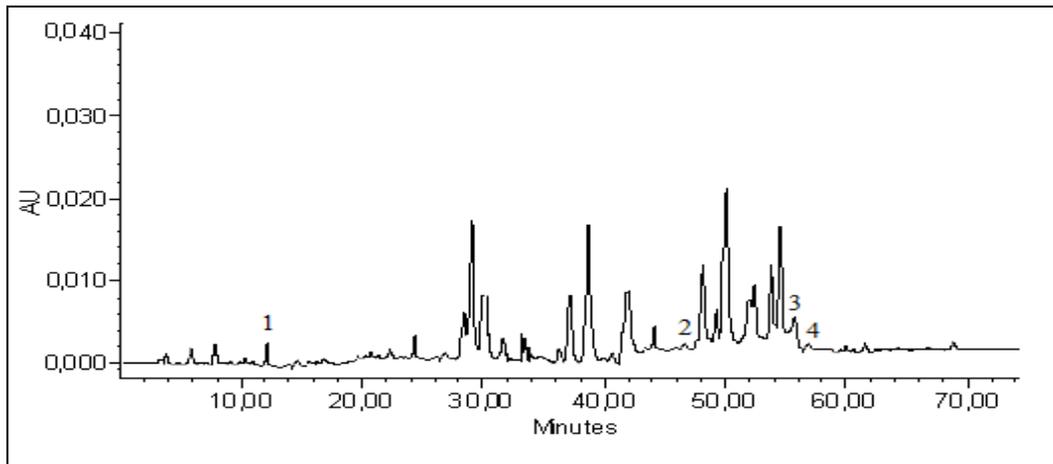


Figure 12: profil chromatographique de l'extrait aqueux des feuilles de *T. vulgaris*.

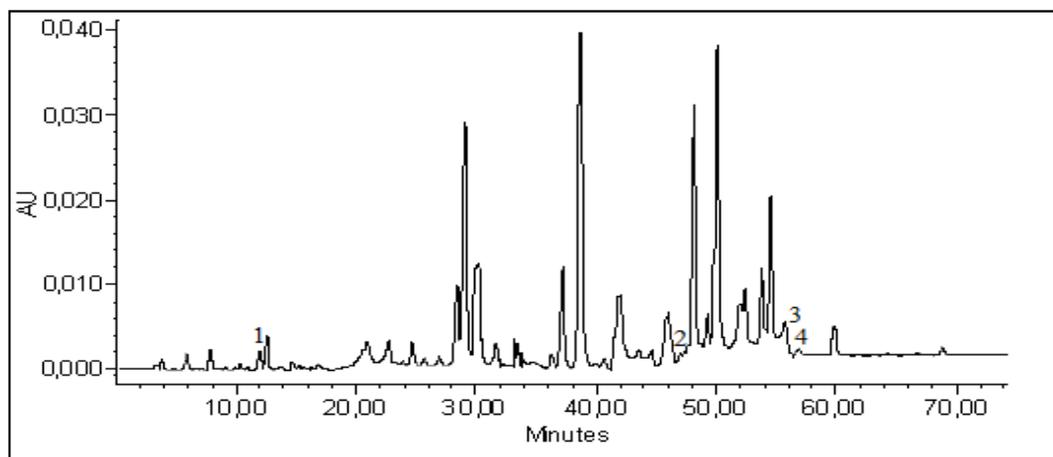


Figure 13: profil chromatographique de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *T. vulgaris*.

Tableau 5 : Les quantités des composés phénoliques détectés dans les extraits analysés à 280 nm par HPLC.

Standards ($\mu\text{g/g}$)	Acide caféique	Quercétine	Rutine	Lutéoline
Extraits				
Extrait aqueux <i>T. vulgaris</i>	196.70	81.54	285.36	100.28
Extrait aqueux <i>A. triphylla</i>	ND	740.49	ND	ND
Extrait aqueux <i>P. lentiscus</i>	ND	ND	ND	101.67
Extrait aqueux <i>O. europaea</i>	ND	ND	146.68	22.30
Extrait aqueux <i>T. foenum-graecum</i>	116.18	ND	ND	ND
Extrait hydro-alcoolique <i>T. vulgaris</i>	521.50	222.17	916.02	280.21
Extrait hydro-alcoolique <i>A. triphylla</i>	ND	1525.29	ND	ND
Extrait hydro-alcoolique <i>P. lentiscus</i>	35.92	ND	ND	128.08
Extrait hydro-alcoolique <i>O. europaea</i>	ND	ND	21.03	464.91
Extrait hydro-alcoolique <i>T. foenum-graecum</i>	138.38	436.96	ND	ND

ND: non détecté

Une quantité de l'acide caféique de 517 ± 0.54 mg/100g a été trouvée par Wojdyło et *al.*, 2007 avec l'extrait méthanolique de *T. vulgaris*, alors que la quercétine et lutéoline n'ont pas été détectées. L'étude de Mărculescu et *al.*, (2007) a montré les quantités de l'acide caféique et lutéoline dans l'extrait de *T. vulgaris* après hydrolyse de la plante, les quantités sont de 436.4 et 658.8 mg/100g respectivement.

Dans les extraits aqueux (figure 14) et hydro-alcoolique (figure 15) des feuilles d'*A. triphylla*, la quercétine a été détectée à des temps de rétention de 46.15 et 46.67 min avec des quantités de 740.49 et 1525.29 $\mu\text{g/g}$ respectivement. La lutéoline a été détectée dans l'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus* à un temps de rétention de 56.372 min (figure 16) avec une quantité de 101.67 $\mu\text{g/g}$. L'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *P. lentiscus* a révélé la présence de l'acide caféique et de la lutéoline à des temps de rétention de 12.76 et 57.54 min (figure 17) avec des quantités de 35.92 et 128.08 $\mu\text{g/g}$ respectivement (tableau 5).

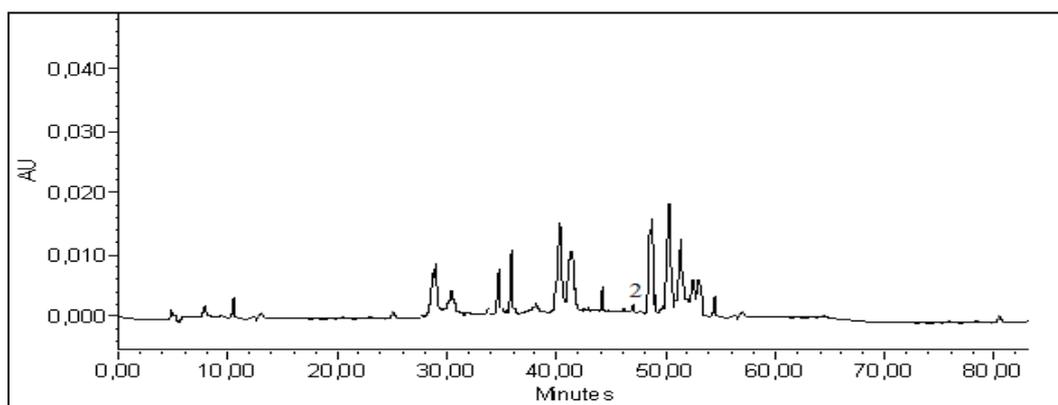


Figure 14 : profil chromatographique de l'extrait aqueux des feuilles d'*A. triphylla*.

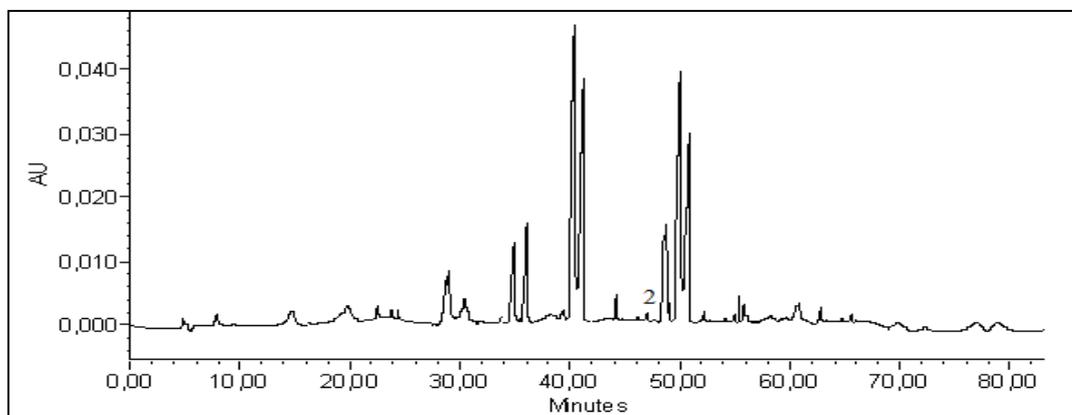


Figure 15 : profil chromatographique de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. triphylla*.

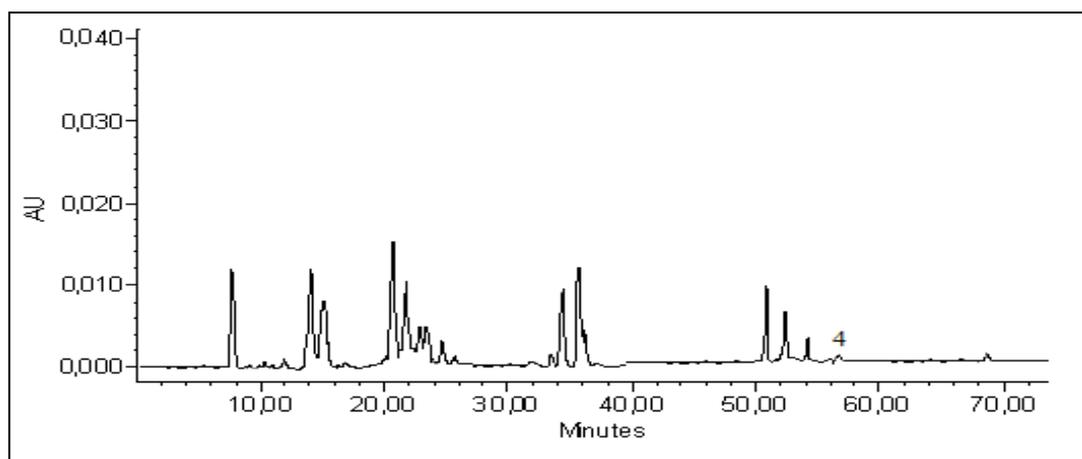


Figure 16 : profil chromatographique de l'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*.

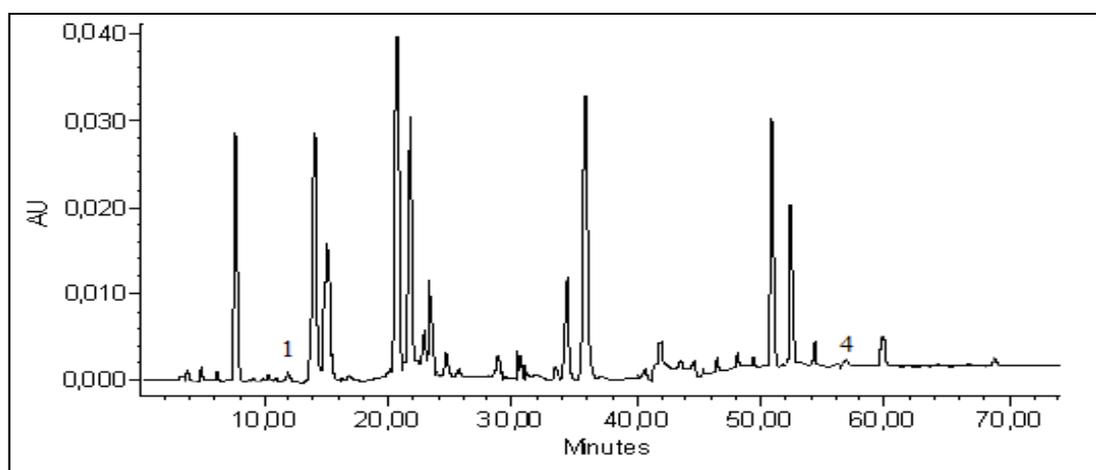


Figure 17 : profil chromatographique de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *P. lentiscus*.

La rutine et la lutéoline ont été détectées dans l'extrait aqueux des feuilles d'*O. europaea* à des temps de rétention de 55.36 et 56.27 min (figure 18) et dans l'extrait hydro-alcoolique à 55.06 et 57.49 min (figure 19) respectivement ; les quantités trouvées dans l'extrait aqueux sont de 146.68 et 22.30 $\mu\text{g/g}$; dans l'extrait hydro-alcoolique, elles sont de 21.03, 464.91 $\mu\text{g/g}$ respectivement (tableau 5).

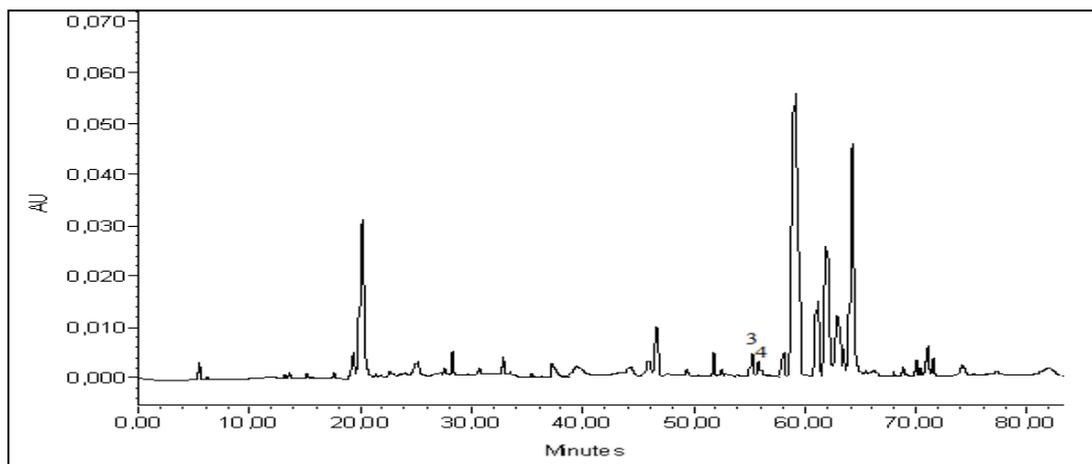


Figure 18 : profil chromatographique de l'extrait aqueux des feuilles d'*O. europaea*.

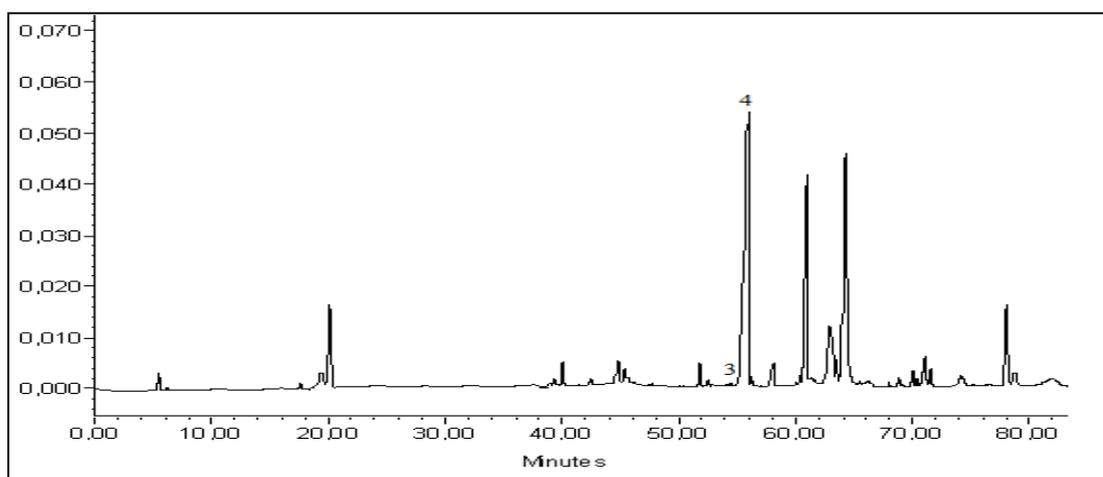


Figure 19 : profil chromatographique de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*O. europaea*.

Des teneurs en acide caféique et en rutine (220.5 ± 23.3 et 495.9 ± 12.2 mg/kg) ont été enregistrées avec l'extrait aqueux des feuilles d'*O. europaea* L. Cv. Cobrançosa (Pereira et al., 2007). L'étude de Mujic et al., 2011 menée sur l'analyse par HPLC de l'extrait méthanolique des feuilles d'*O. europaea* récoltées de trois régions de la Croatie montre que la quantité de l'acide caféique est de 1.1 ± 0.1 , 0.9 ± 0.1 et 2.0 ± 0.1 mg Eq Q/g et la quantité de lutéoline est de 17.4 ± 0.2 , 29.4 ± 0.2 et 40.2 ± 0.3 mg Eq Q/g pour les régions Istarska bjelica, Rosinjola et Buža respectivement.

Parmi les quatre composés phénoliques standards utilisés, l'acide caféique a été détecté dans l'extrait aqueux des graines de *T. foenum-graecum* à un temps de rétention de

12.713 min (figure 20), la quantité trouvée est de 116.18 $\mu\text{g/g}$. En revanche, l'acide caféique et la quercétine ont été détectés dans l'extrait hydro-alcoolique des graines de fenugrec à des temps de rétention de 12.44 et 46.99 min (figure 21) avec des teneurs de 136.38 et 436.96 $\mu\text{g/g}$ respectivement (tableau 5).

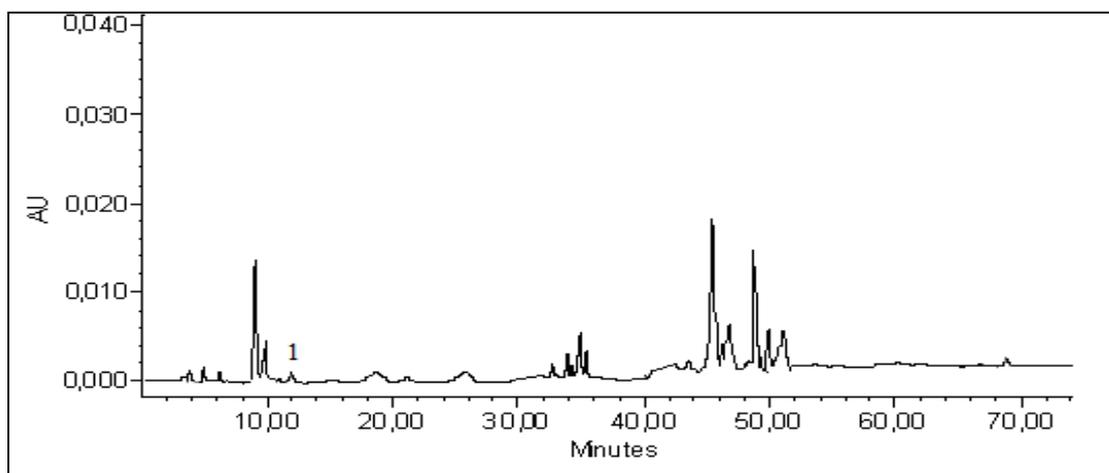


Figure 20 : profil chromatographique de l'extrait aqueux des graines de *T. foenum-graecum*.

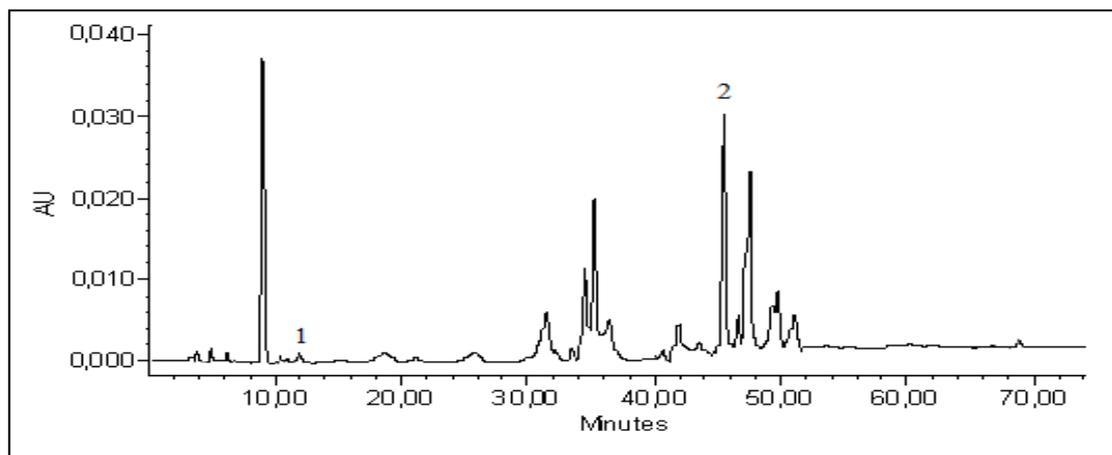


Figure 21 : profil chromatographique de l'extrait hydro-alcoolique des graines de *T. foenum-graecum*.

L'étude de Wojdyło *et al.*, 2007 a montré que les teneurs en quercétine et en lutéoline de l'extrait méthanolique de *T. foenum-graecum* sont de 2.95 ± 1.23 et 512 ± 1.02 mg/100g respectivement. Dua *et al.*, 2013 ont quantifié les composés phénoliques dans l'extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum*, les quantités de l'acide caféique et de la quercétine enregistrées sont de 164.550 et 215.814 $\mu\text{g/g}$ respectivement.

Les différences constatées dans les quantités des composés phénoliques par rapport à la bibliographie peuvent être dues au procédé d'extraction appliqué, la température utilisée ou la polarité des solvants. D'autre part, l'influence de l'origine de provenance géographique des échantillons et aussi l'année de la collecte, ne peut pas être exclue (Meirinhos et *al.*, 2005).

2/ Activités biologiques des extraits

2-1/ Activité antibactérienne des extraits

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition des différents extraits des plantes testés sur la gamme des bactéries pathogènes sont représentés dans le tableau 6. Les extraits des plantes exercent un effet inhibiteur sur les bactéries pathogènes d'une manière différente selon la plante et le solvant utilisé dans la préparation des extraits. Les extraits aqueux ont montré une activité antibactérienne modérée avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 07.00 ± 0.8 jusqu'à 16.00 ± 1.0 mm.

Les grandes zones des inhibitions ont été constatées chez *Citrobacter freundii* et *P. vulgaris* avec les extraits aqueux d'*A. triphylla* et de *T. vulgaris*, les diamètres des zones d'inhibition sont de 16.00 ± 0.1 et de 16.00 ± 1.0 mm respectivement, suivi par *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Proteus mirabilis* et *Escherichia coli* ATCC25922 qui sont sensibles à l'extrait aqueux de *T. vulgaris* avec des diamètres de 15.00 ± 1.0 , 15.00 ± 0.7 et de 14.00 ± 00 mm respectivement. L'extrait aqueux d'*A. triphylla* a pu inhiber la bactérie *Proteus mirabilis*, le diamètre est de 14.00 ± 0.2 mm.

Tandis que la grande zone d'inhibition de l'extrait aqueux de *P. lentiscus* a été constatée avec la bactérie *Citrobacter freundii*, le diamètre de la zone d'inhibition est de 12.00 ± 0.1 mm. En revanche toutes les bactéries pathogènes étudiées ont prouvé une résistance vis-à-vis des extraits aqueux d'*O. europaea* et de *T. foenum-graecum* (tableau 6).

Les extraits hydro-alcooliques ont exercé un effet inhibiteur faible, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 07.00 ± 0.9 et 13.00 ± 1.0 mm. Les bactéries testées ont montré une résistance vis-à-vis de l'extrait hydro-alcoolique d'*O. europaea* et de *T. foenum-graecum*; alors qu'*Escherichia coli* est légèrement sensible à l'extrait hydro-alcoolique de *T. foenum-graecum* avec un diamètre de 11.00 ± 0.0 mm.

Les grandes zones d'inhibition ont été enregistrées avec l'extrait hydro-alcoolique de *P. lentiscus* vis à vis de *Proteus vulgaris* et de *Salmonella typhimurium*, les diamètres sont de 13.00 ± 1.0 et 13.00 ± 00 mm respectivement. Les extraits hydro-alcooliques de *T. vulgaris* et d'*A. triphylla* ont inhibé les bactéries *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii* et *Salmonella typhimurium* avec des diamètres de 12.00 ± 0.3 , 11.00 ± 0.5 et 11.00 ± 0.1 mm respectivement (tableau 6).

Tableau 6: Résultats des diamètres des zones d'inhibition des extraits des plantes testés sur les bactéries pathogènes étudiées.

Bactéries Extraits	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. freundii</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
								ATCC25922	ATCC25923	ATCC 27853
Aq <i>T. vulgaris</i>	10.00 ± 1.0	11.00 ± 0.5	11.00 ± 0.5	10.00 ± 1.0	15.00 ± 0.7	16.00 ± 1.0	11.00 ± 00	14.00 ± 00	15.00 ± 1.0	10.00± 0.3
Aq <i>A. triphylla</i>	09.00 ± 00	11.00 ± 0.3	16.00 ± 0.1	12.00 ± 0.5	14.00 ± 0.2	09.00 ± 0.4	12.00 ± 00	11.00 ± 0.2	11.00 ± 0.2	11.00 ± 0.0
Aq <i>P. lentiscus</i>	09.00 ± 1.0	10.00 ± 0.0	12.00 ± 0.1	08.00 ± 0.4	08.00 ± 1.0	08.00 ± 0.0	08.00 ± 0.7	09.00 ± 0.2	09.00 ± 0.0	08.00 ± 0.0
Aq <i>O. europaea</i>	09.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0
Aq fenugrec	00.00 ± 0.0	08.00 ± 0.0	07.00 ± 0.8	00.00 ± 0.0	07.00 ± 0.9	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0
Hy <i>T. vulgaris</i>	09.50 ± 0.5	12.00 ± 0.3	10.00 ± 00	08.00 ± 00	10.00 ± 0.5	09.00 ± 0.3	11.00 ± 0.1	10.00 ± 0.2	10.00 ± 0.9	08.00 ± 1.0
Hy <i>A. triphylla</i>	08.00 ± 0.2	11.00 ± 0.2	11.00 ± 0.5	08.50 ± 0.5	10.00 ± 00	08.50 ± 0.5	11.00 ± 0.1	09.00 ± 0.7	10.50 ± 0.5	09.00 ± 0.2
Hy <i>P. lentiscus</i>	11.00 ± 1.0	12.00 ± 0.5	10.00 ± 0.5	10.00 ± 1.0	11.00 ± 0.7	13.00 ± 1.0	13.00 ± 00	11.00 ± 0.0	11.50 ± 0.9	10.00± 0.5
Hy <i>O. europaea</i>	09.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	10.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0
Hy fenugrec	11.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	08.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	07.00 ± 0.9	08.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	08.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0	00.00 ± 0.0

Aq : Extrait aqueux.

Hy : Extrait hydro-alcoolique.

* Pour les résultats du test négatif (Eau, DMSO), le diamètre de la zone d'inhibition est 00.00 ± 00 mm.

Abu-Shanab et al., (2004) ont testé les extraits éthanoliques et aqueux de *T. vulgaris* sur *B. subtilis* ATCC 6633 et *Pseudomonas aeruginosa*, ils ont trouvé des diamètres des zones d'inhibition allant de 06.00 à 20.00 mm. L'étude menée par Shan et al., (2007) a montré que les diamètres des zones d'inhibition enregistrés par l'extrait méthanolique de *T. vulgaris* sur *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Salmonella anatum* sont de 09.00, 07.70, 08.80, 04.60, 06.60 et 07.30 mm respectivement. En revanche Cheurfa et al., (2013) ont montré que l'huile essentielle de *T. vulgaris* a exercé une forte activité antibactérienne sur des bactéries pathogènes responsables de gastroentérites avec des diamètres des zones d'inhibition allant jusqu'à 45.00 ± 0.30 mm.

Alanis et al., (2005) ont testé les extraits aqueux de différentes plantes sur une gamme de bactéries pathogènes, ils ont constaté que l'extrait aqueux d'*A. triphylla* n'a aucun effet sur *Escherichia coli* ATCC 25922, *Shigella flexneri*-1, *Shigella flexneri*-2, *Salmonella sp.* - 1, et *Salmonella sp.* - 2.

Le même résultat a été noté par Hossam et al., (2011) pour *Listeria monocytogenes* (NCIMB 50007), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (CAICC 21) et *Salmonella typhi* (CAICC 31) avec l'huile essentielle d'*A. triphylla*. L'étude de Bhattacharjee et al., (2011) a montré que l'extrait éthanolique de *Clerodendron inerme* L. (Verbenaceae) présente un effet inhibiteur sur *S. aureus*, *B. subtilis* et *E. coli*, les diamètres des zones d'inhibition sont de 11.67 ± 0.33 , 14.00 ± 0.58 et 11.00 ± 0.58 respectivement.

Tohidi et al., 2011 ont testé l'extrait méthanolique de *P. atlantica* sur *S. aureus* et *S. epidermidis*, ils ont enregistré des diamètres des zones d'inhibition qui ne dépassent pas les 10.00 mm. En revanche, l'étude de Djenane et al., (2011) a montré que l'huile essentielle de *P. lentiscus* a exercé un effet inhibiteur vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* CECT 935 avec un diamètre de zone d'inhibition de 19.75 ± 3.2 mm.

Balaabirami et al., (2012) ont testé les extraits des feuilles de *Cathartus roseus* (Apocynacées), ils ont trouvé que l'extrait aqueux et butanolique n'ont aucun effet sur les bactéries testées, par contre les diamètres des zones d'inhibition de 08.00 mm ont été enregistrés avec l'extrait méthanolique et éthanolique avec *Kelbsiella oxytoca* et *Proteus mirabilis* respectivement.

Korukluoglu et *al.*, (2010) ont testé différents extraits des feuilles d'*O. europaea* sur une gamme des bactéries, ils ont trouvé des résultats similaires à nos résultats, l'extrait aqueux n'a aucun effet, par contre l'extrait acétonique a pu inhiber les bactéries suivantes : *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Des résultats similaires ont été trouvés par Dash et *al.*, (2011) avec l'extrait méthanolique de *T. foenum-graecum* contre *Pseudomonas spp*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* et *E. coli*, les diamètres sont de 10 ± 0.81 , 09 ± 0.50 , 08 ± 0.25 et 07 ± 0.23 mm respectivement. Premanath et *al.*, (2011) ont testé différents extraits des feuilles de *T. foenum-graecum* sur *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter aerogens*, ils ont trouvé des diamètres des zones d'inhibition qui ne dépassent pas 08.00 mm avec les extraits aqueux, chloroformique et hexanique.

Les extraits aqueux des plantes, malgré leurs teneurs faibles en composés phénoliques, montrent une activité antibactérienne remarquable, Cela peut être expliqué par le caractère autant qualitatif que quantitatif des composés présents dans l'extrait aqueux, car l'efficacité d'un composé phénolique dépend de ses propriétés physico-chimiques et de sa structure hétérogène (Basli et *al.*, 2012).

Les antibiotiques ont pu exercer un effet inhibiteur sur les bactéries testées avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 15.00 ± 0.0 jusqu'à 52.00 ± 0.0 mm, la grande zone d'inhibition a été constatée avec la Pénicilline contre *S. aureus*. Par contre plusieurs bactéries sont résistantes vis-à-vis des antibiotiques testés, c'est le cas de *S. aureus* ATCC25923, *S. aureus* et *P. mirabilis* avec la Kanamycine. *P. aeruginosa* et *P. mirabilis* avec la Pénicilline. La même résistance a été constatée avec l'Oxacilline et l'Ampicilline vis-à-vis de toutes les bactéries à l'exception de *S. aureus* et *S. aureus* ATCC25923 respectivement (Annexe I).

D'après les résultats obtenus de l'activité antibactérienne des extraits, on déduit que quelques extraits ont montré une activité antibactérienne modérée qui est due aux différents composés phénoliques présents dans leur composition chimique, citons l'acide caféique qui est efficace contre les bactéries (Brantner et *al.*, 1996), et la quercétine qui exerce une activité antibactérienne contre presque toutes les bactéries responsables des problèmes respiratoires, gastro-intestinaux et urinaires (Rigano et *al.*, 2006).

L'activité antibactérienne des extraits de plantes est due à la présence des différents agents chimiques, la variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antibactérienne des extraits d'une même plante ou de plantes différentes. L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action synergique de différents composés (Essawi, 2000).

Les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes sont reconnus par leur toxicité contre les micro-organismes. Le mécanisme de la toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (protéases et des carbohydrases et autres interactions) pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et l'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

En outre, leur activité antibactérienne est probablement due à leur capacité à se complexer avec les protéines extracellulaires et les protéines solubles et de former un complexe avec les parois des cellules bactériennes qui provoque une perturbation des membranes bactériennes (Tsuchiya et *al.*, 1996).

Dans une enquête sur l'action antimicrobienne de la propolis, Mirzoeva et *al.*, (1997) ont montré que les flavonoïdes, et la quercétine provoquent une augmentation de la perméabilité de la membrane bactérienne interne et une perturbation du potentiel membranaire. Salvatore et *al.*, (1998) ont rapporté que le « flavanone lonchocarpus A » inhibe la synthèse macromoléculaire dans *Bacillus megaterium*, et que la synthèse de l'ARN, de l'ADN, la paroi cellulaire et des protéines ont été toutes inhibées.

Mori et *al.*, (1987) ont montré que la synthèse de l'ADN a été fortement inhibée par les flavonoïdes dans *Proteus vulgaris*, tandis que la synthèse de l'ARN a été la plus touchée chez *S. aureus*. Les flavonoïdes présentant cette activité sont robinétine, myricétine et (-) épigallocatechine. La synthèse des protéines et des lipides ont été également touchées.

Les auteurs suggèrent que l'anneau B des flavonoïdes peut jouer un rôle dans l'intercalation ou une liaison hydrogène avec les empilements des bases d'acide nucléique et que ceci peut expliquer une action inhibitrice sur la synthèse de l'ADN et de l'ARN. Plus récemment, Plaper *et al.*, (2003) ont indiqué que la quercétine se lie à la sous-unité *Gyr B* d'*E. coli* et l'ADN gyrase inhibe l'activité de l'enzyme ATPase.

Les tanins, un groupe de substances phénoliques polymères sont trouvés dans presque chaque partie de la plante: écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines. Dans le tissu végétal, les tanins sont synthétisés et accumulés après une attaque microbienne. Leur mode d'action antimicrobienne peut être liée à leur capacité à inactiver les adhésines microbiennes, les enzymes, et les protéines de transport, à cause d'une propriété connue sous le nom astringence (Ojala *et al.*, 2000).

Scalbert a examiné les propriétés antimicrobiennes des tanins en 1991. Il a énuméré 33 études qui avaient documenté les activités inhibitrices des tanins. Selon ces études, les tannins peuvent être toxiques pour les bactéries et aussi pour les champignons filamenteux et les levures.

Les terpènes sont une classe importante et variée de composés organiques construits à partir des sous-unités de l'isoprène, tandis que les terpénoïdes sont des analogues des terpènes contenant un oxygène. Selon le nombre des sous-unités de l'isoprène, il ya monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), triterpènes (C30) et polyterpènes (Kovacevic, 2004). Le mécanisme d'action antibactérienne des terpènes est leur implication dans la perturbation des membranes (Mendoza *et al.*, 1997).

2-2/ Activité antioxydante des extraits

2-2-1/Test au DPPH

Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH) est un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire (Sanchez-Moreno, 2002).

L'IC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

La détermination de l'activité antioxydante des différents extraits par le test au DPPH a révélé que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *P. lentiscus* a montré une activité antioxydante significative ($P < 0,05$) avec une IC₅₀ de 18.75 ± 0.01 mg/ml ; l'extrait aqueux de la même plante a aussi enregistré un effet antioxydant significatif ($P < 0,05$) avec une IC₅₀ de 23.32 ± 0.00 mg/ml (Figure 22).

Les extraits hydro-alcooliques et aqueux des feuilles d'*A. triphylla* et de *T. vulgaris* ont des IC₅₀ significativement supérieures ($P < 0,05$) à celles trouvées avec les extraits des feuilles de *P. lentiscus*, les valeurs sont de 23.52 ± 0.035 , 27.73 ± 0.007 , 25.08 ± 0.002 et 30.38 ± 0.008 mg/ml respectivement. Les IC₅₀ des extraits d'*A. triphylla* sont significativement inférieures ($P < 0,05$) aux IC₅₀ des extraits de *T. vulgaris* (Figure 22).

L'extrait aqueux des graines de *T. foenum-graecum* a montré une faible activité antioxydante avec une IC₅₀ de 95.32 ± 0.07 mg/ml. Cette valeur est significativement supérieure ($P < 0,05$) aux IC₅₀ trouvées avec l'extrait hydro-alcoolique (90.02 ± 0.03 mg/ml) des graines de *T. foenum-graecum* et les extraits hydro-alcooliques (69.15 ± 0.06 mg/ml) et aqueux (92.04 ± 0.04 mg/ml) des feuilles d'*O. europaea*. Les IC₅₀ des extraits de *T. foenum-graecum* sont significativement supérieures ($P < 0,05$) aux IC₅₀ des extraits d'*O. europaea*. Le BHT a présenté une IC₅₀ de 06.95 ± 0.002 mg/ml significativement inférieur ($P < 0,05$) aux IC₅₀ de tous les extraits testés (Figure 22).

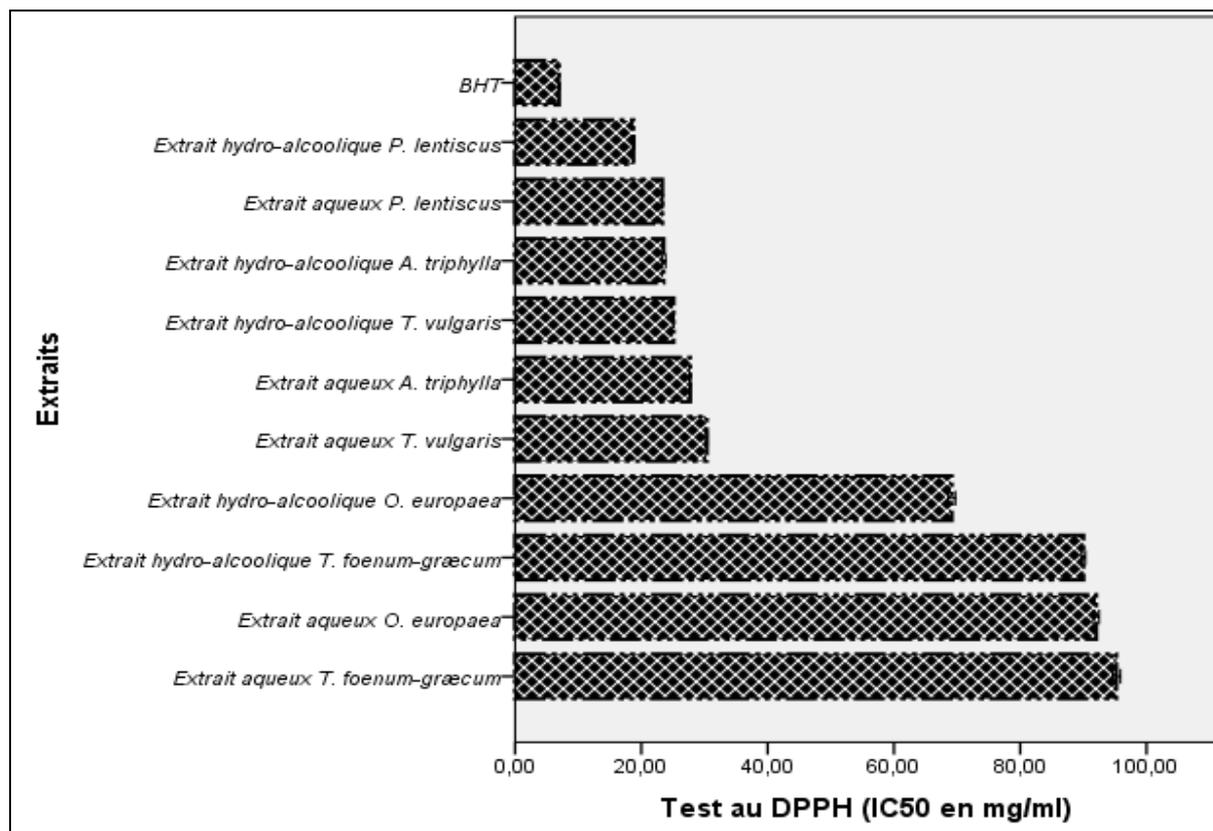


Figure 22 : Les valeurs d'IC50 (mg/ml) des différents extraits testés.

Kulšić et al., (2006) ont testé l'activité antioxydante des infusions de *T. vulgaris* et *T. serpyllum*, ils ont trouvé des IC50 de 0.30 et 0.45 g/l respectivement. L'étude de Hinneburg et al., (2006) a montré que l'extrait d'*Ocimum basilicum* (Lamiaceae) a présenté une grande activité antioxydante avec une IC50 de 12.0 ± 0.10 mg/ml. En revanche, Stankovic et al., (2011) ont testé des extraits des différentes parties de *Teucrium montanum* L., ils ont trouvé des IC50 de 77.94 ± 1.14 , 272.19 ± 2.91 et de 400.28 ± 5.12 µg/ml avec les extraits acétonique, acétate d'éthyle, éther de pétrole respectivement.

El-Hela et Abdullah, (2010) ont étudié l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la partie aérienne des plantes *Verbena tenara*, *Verbena regda* et *Verbena venosa*, ils ont enregistré des valeurs d'IC50 de 1.34, 0.18 et 0.02 mg/ml respectivement.

Tandis que l'étude menée par Devi et al., (2010) sur la plante entière de *Litsea glutinosa* (Lauraceae) a montré que l'IC50 de l'extrait méthanolique de cette plante est de 30.24 µg/ml.

Acharya et al, (2011) ont évalué l'activité antioxydante des extraits bruts de cinq génotypes des graines de *T. foenum-graecum* par plusieurs méthodes, avec la méthode de DPPH les IC50 trouvées sont de 34.10 ± 3.21 µg/ml, 35.909 ± 2.05 µg/ml, 36.51 ± 4.01 µg/ml, 39.99 ± 5.00 µg/ml et de 8.05 ± 4.63 µg/ml pour les génotypes L3375, Tristar, PI143504, Amber et L3068 respectivement.

2-2-2/ Méthode de blanchissement de la β-carotène

Dans la méthode de blanchissement de la β-carotène, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux libres due à l'abstraction d'un atome d'hydrogène à partir des groupes méthylène de l'acide linoléique (Kumaran et Karunakaran, 2006), puis le radical libre va oxyder le β-carotène hautement insaturé.

La présence des antioxydants dans l'extrait permet de minimiser l'oxydation du β-carotène par les hydro-péroxydes. Les hydro-péroxydes formés dans ce système seront neutralisés par les antioxydants des extraits (Mariod et al., 2009). Donc cette méthode est généralement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des composés dans des émulsions accompagnés de l'oxydation du β-carotène et de l'acide linoléique.

L'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. triphylla* a montré l'activité antioxydante significativement ($P < 0,05$) la plus élevée par rapport aux autres extraits testés. Les valeurs des pourcentages de l'activité antioxydante des extraits hydro-alcoolique et aqueux des feuilles d'*A. triphylla* sont de 88.13 ± 0.15 et 82.87 ± 0.14 % respectivement. Ces valeurs sont significativement ($P < 0,05$) supérieures à celles trouvées avec les extraits des feuilles de *T. vulgaris* qui ont enregistré des pourcentages de 79.37 ± 0.21 et 73.92 ± 0.10 % respectivement (Figure 23).

L'activité antioxydante de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *P. lentiscus* (73.45 ± 0.00 %) est significativement ($P < 0,05$) supérieure à l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de la même plante (62.18 ± 0.02 %).

Les extraits hydro-alcoolique et aqueux des feuilles d'*O. europaea* et des graines de *T. foenum-graecum* ont montré des pourcentages de l'activité antioxydante significativement ($P < 0,05$) inférieure par rapport à l'activité antioxydante des extraits précédents, les valeurs sont de 54.98 ± 0.03 , 50.87 ± 0.09 , 54.70 ± 0.01 et 52.17 ± 0.00 % respectivement. Notons que

l'activité antioxydante de l'extrait aqueux des graines de *T. foenum-græcum* est significativement ($P < 0,05$) supérieure à celle trouvée avec l'extrait aqueux des feuilles d'*O.europaea*, par contre il n'y a pas de différence significative ($P > 0,05$) entre l'activité antioxydante des extraits hydro-alcoolique d'*O. europaea* et de *T. foenum-græcum*. Ces valeurs sont significativement inférieures ($P < 0,05$) par rapport au BHT ou l'activité antioxydante est de 96.19 ± 0.19 % (Figure 23).

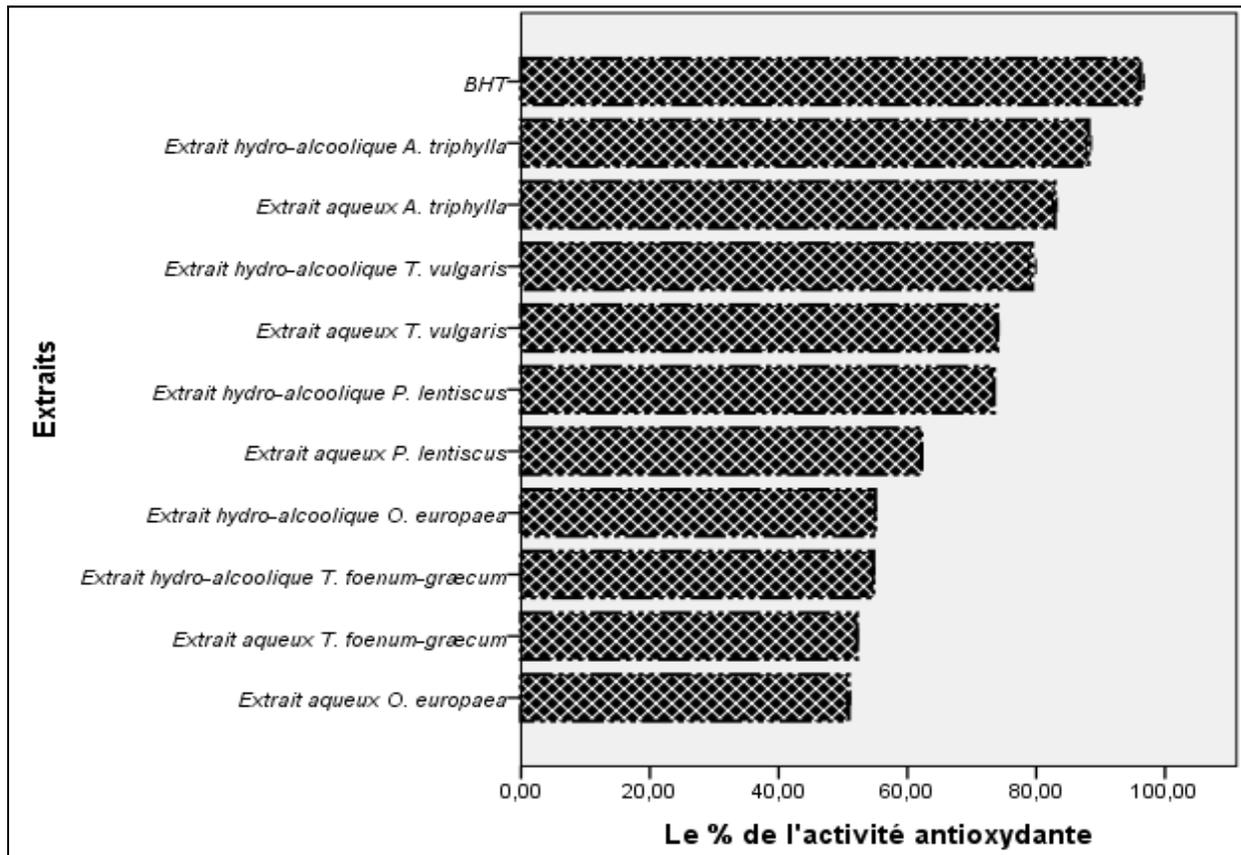


Figure 23 : Le pourcentage de l'activité antioxydante des extraits

Selon Liyana-Pathirana et Shahidi (2006), un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant secondaire.

Kubola et Siriamornpun, (2008) ont testé l'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles, tiges, fruit vert et fruit mûr de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), ils ont trouvé avec la méthode de blanchissement de la β -carotène des valeurs de l'activité antioxydante de 63.9 ± 0.71 , 36.2 ± 0.59 , 79.9 ± 0.70 et 59.0 ± 0.44 % respectivement.

2-2-3/ La capacité anti-oxydante totale

La capacité anti-oxydante totale a été mesurée par un spectrophotomètre en utilisant la méthode de phosphomolybdate qui est basée sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) en présence des antioxydants et la formation d'un complexe phosphate/ Mo (V) d'une couleur verte mesuré à 695 nm. La capacité anti-oxydante totale des extraits est exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg Eq AA/g d'extrait).

Les extraits hydro-alcoolique et aqueux des feuilles d'*A. triphylla* ont montré la capacité antioxydante totale la plus élevée ($P < 0,05$) avec des valeurs de 270.13 ± 0.00 et 173.50 ± 0.04 mg Eq AA/g d'extrait respectivement, suivis par les extraits hydro-alcoolique des feuilles de *T vulgaris* et *P. lentiscus* ($P < 0,05$), les valeurs de la capacité antioxydante totale trouvées sont de 154.30 ± 0.01 et 141.79 ± 0.00 mg Eq AA/g d'extrait respectivement (Figure 24).

La capacité antioxydante totale de l'extrait aqueux des feuilles de *T. vulgaris* est de 133.88 ± 0.01 mg Eq AA/g d'extrait, elle est significativement inférieure ($P < 0,05$) aux valeurs des extraits cités précédemment.

L'extrait hydro-alcoolique d'*O. europaea* a présenté une capacité antioxydante totale significativement supérieure ($P < 0,05$) aux capacités antioxydantes totales des extraits aqueux des feuilles de *P. lentiscus* et d'*O. europaea*, les valeurs enregistrées sont de 82.63 ± 0.02 , 79.71 ± 0.00 et 75.75 ± 0.06 mg Eq AA/g d'extrait respectivement. Par contre les extraits hydro-alcoolique et aqueux de *T. foenum-graecum* ont montré la capacité antioxydante totale la plus faible ($P < 0,05$) avec des valeurs de 46.81 ± 0.00 et 39.77 ± 0.04 mg Eq AA/g d'extrait respectivement (Figure 24).

En revanche, tous les extraits des plantes testées ont enregistré des valeurs d'une capacité antioxydante totale significativement inférieure ($P < 0,05$) à la valeur obtenue avec le BHT qui est de 401.01 ± 1.24 mg Eq AA/g (Figure 24).

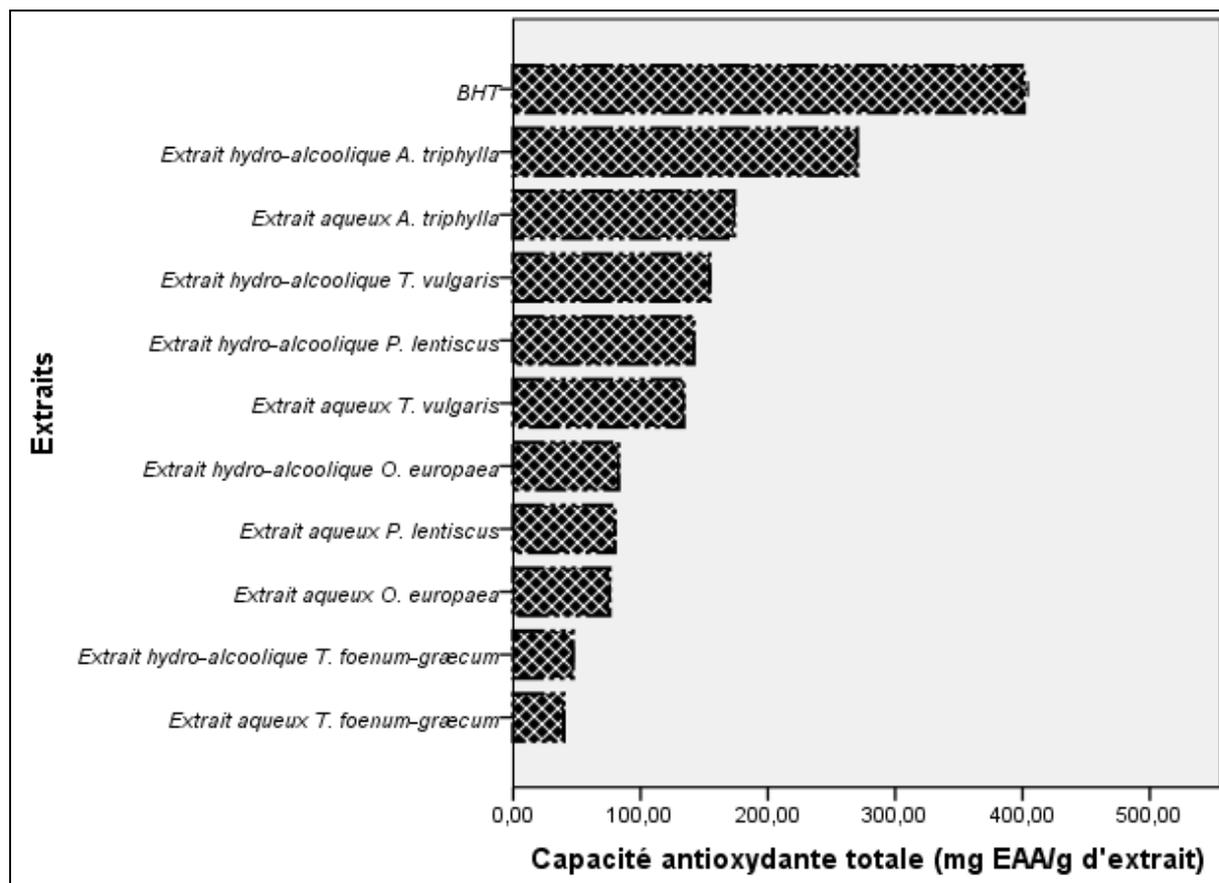


Figure 24 : La capacité antioxydante totale en mg EAA/g d'extrait.

Blažeković et *al.*, (2010) ont étudié l'activité antioxydante de différentes parties aériennes de *Lavandula intermedia* et *Lavandula angustifolia* (Lamiaceae), ils ont trouvé une capacité antioxydante totale de 274.18 ± 5.07 et 290.75 ± 8.99 mg EAA/g avec les extraits éthanoliques de *L. angustifolia* et *L. intermedia* respectivement. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. triphylla*.

Mašković et *al.*, (2012), ont trouvé une capacité antioxydante pour les extraits acétonique, chloroformique, acétate d'éthyle et éther pétrolique de la plante *Halacsya sendtneri* (Boraginaceae) avec des valeurs de 98.45 ± 0.98 , 89.75 ± 0.25 , 94.34 ± 0.43 et 79.94 ± 0.54 $\mu\text{g AA/g}$ respectivement, ces résultats ne concordent pas avec les nôtres.

2-2-4/ Méthode de FRAP

Le potentiel antioxydant des extraits testés a été déterminé par la méthode de FRAP basée sur l'aptitude des antioxydants présentés dans les extraits à réduire le TPTZ-Fe (III) à TPTZ-Fe (II). Les résultats ont été exprimés en moles de Fe^{2+} / g d'extrait.

Le potentiel antioxydant le plus élevé ($P < 0,05$) a été constaté avec les extraits hydro-alcoolique (61.37 ± 0.00 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) et aqueux (42.37 ± 0.00 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) des feuilles de *P. lentiscus*. Le potentiel antioxydant de l'extrait hydro-alcoolique (22.87 ± 0.00 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) des feuilles de *T. vulgaris* est significativement supérieure ($P < 0,05$) au potentiel antioxydant de l'extrait aqueux (10.37 ± 0.00 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) de la même plante ; alors que le potentiel antioxydant de l'extrait aqueux (12.88 ± 0.00 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) des feuilles d'*A. triphylla* est significativement supérieur ($P < 0,05$) au potentiel antioxydant de l'extrait hydro-alcoolique (06.62 ± 0.00 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) de la même plante (Figure 25).

Les résultats obtenus avec la méthode de FRAP pour l'extrait hydro-alcoolique (07.53 ± 0.06 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) des feuilles d'*O. europaea* et l'extrait aqueux (07.53 ± 0.04 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) des graines de *T. foenum-graecum* montrent qu'il n'y a pas de différence significative ($P > 0,05$) entre le potentiel antioxydant de ces deux extraits.

Le potentiel antioxydant de l'extrait hydro-alcoolique des graines de *T. foenum-graecum* (05.00 ± 0.01 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) est significativement supérieure ($P < 0,05$) au potentiel antioxydant de l'extrait aqueux des feuilles d'*O. europaea* (04.01 ± 0.01 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) (Figure 25).

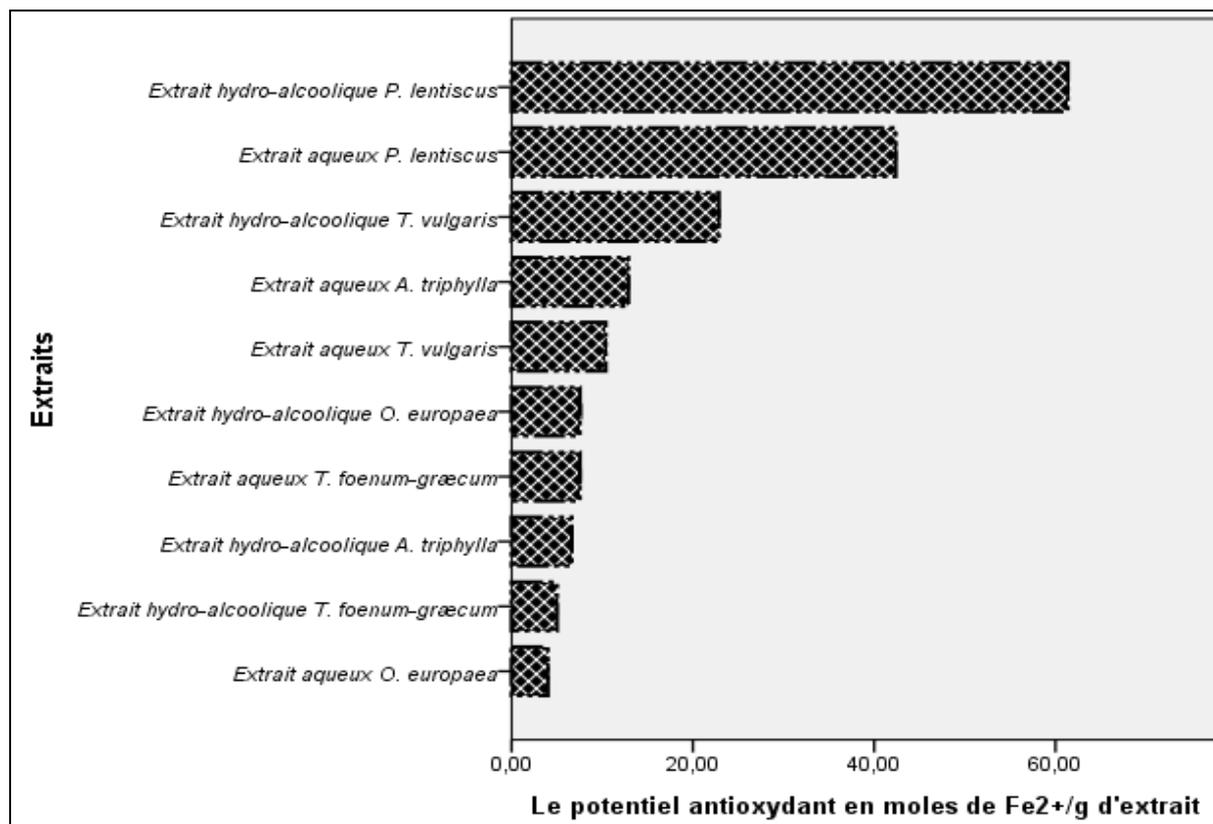


Figure 25 : Le potentiel antioxydant (moles de Fe²⁺/ g d'extrait).

Des valeurs de potentiel antioxydant inférieures aux nôtres ont été trouvées par Sharma et *al.*, (2009) avec les extraits des feuilles de *Trichosanthes dioica* (Cucurbitaceae), les fruits de *Moringa oleifera* (Moringaceae), les graines d'*Embllica officinalis* (Euphorbiaceae) et les racines aériennes de *Ficus bengalensis* (Moraceae), les valeurs sont de 65 ± 1.53 , 51 ± 2.08 , 85 ± 5.00 et 23 ± 1.73 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ respectivement.

2-2-5/ Méthode de FTC

La méthode de FTC mesure la quantité de peroxyde produit pendant les phases initiales de l'oxydation des lipides. Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation des différents extraits des plantes et les composés standards a été déterminé par la méthode de FTC dans un système d'acide linoléique.

Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation significativement le plus élevé ($P < 0,05$) a été constaté avec les extraits aqueux des feuilles de *T. vulgaris* et d'*A. triphylla*, les valeurs sont de 62.30 ± 0.00 et 59.61 ± 0.01 % (Figure 26).

L'extrait hydro-alcoolique (54.95 ± 0.00 %) des feuilles de *T. vulgaris* et aqueux (54.78 ± 0.00 %) des feuilles de *P. lentiscus* ont présenté un pourcentage d'inhibition de la peroxydation significativement inférieure ($P < 0,05$) au pourcentage d'inhibition du standard Acide gallique (59.28 ± 0.00 %).

Les résultats de pourcentage d'inhibition trouvés avec les extraits hydro-alcooliques des feuilles d'*A. triphylla* et de *P. lentiscus* montrent qu'il n'y a pas de différence significative ($P > 0,05$) entre le pourcentage d'inhibition de l'extrait hydro-alcoolique d'*A. triphylla* (52.92 ± 0.00) et le standard Vitamine C (52.80 ± 0.00 %) et aussi entre la vitamine C et l'extrait hydro-alcoolique de *P. lentiscus* (52.63 ± 0.07 %).

Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation de l'extrait aqueux (50.46 ± 0.00 %) des graines de *T. foenum-graecum* est significativement supérieur ($P < 0,05$) par rapport au pourcentage d'inhibition de l'extrait hydro-alcoolique (43.92 ± 0.00 %) de la même plante. Par contre le pourcentage d'inhibition exercé par l'extrait hydro-alcoolique (49.71 ± 0.21 %) des feuilles d'*O. europaea* est significativement supérieur ($P < 0,05$) à celui trouvé avec l'extrait aqueux (45.95 ± 0.00 %) de la même plante (Figure 26).

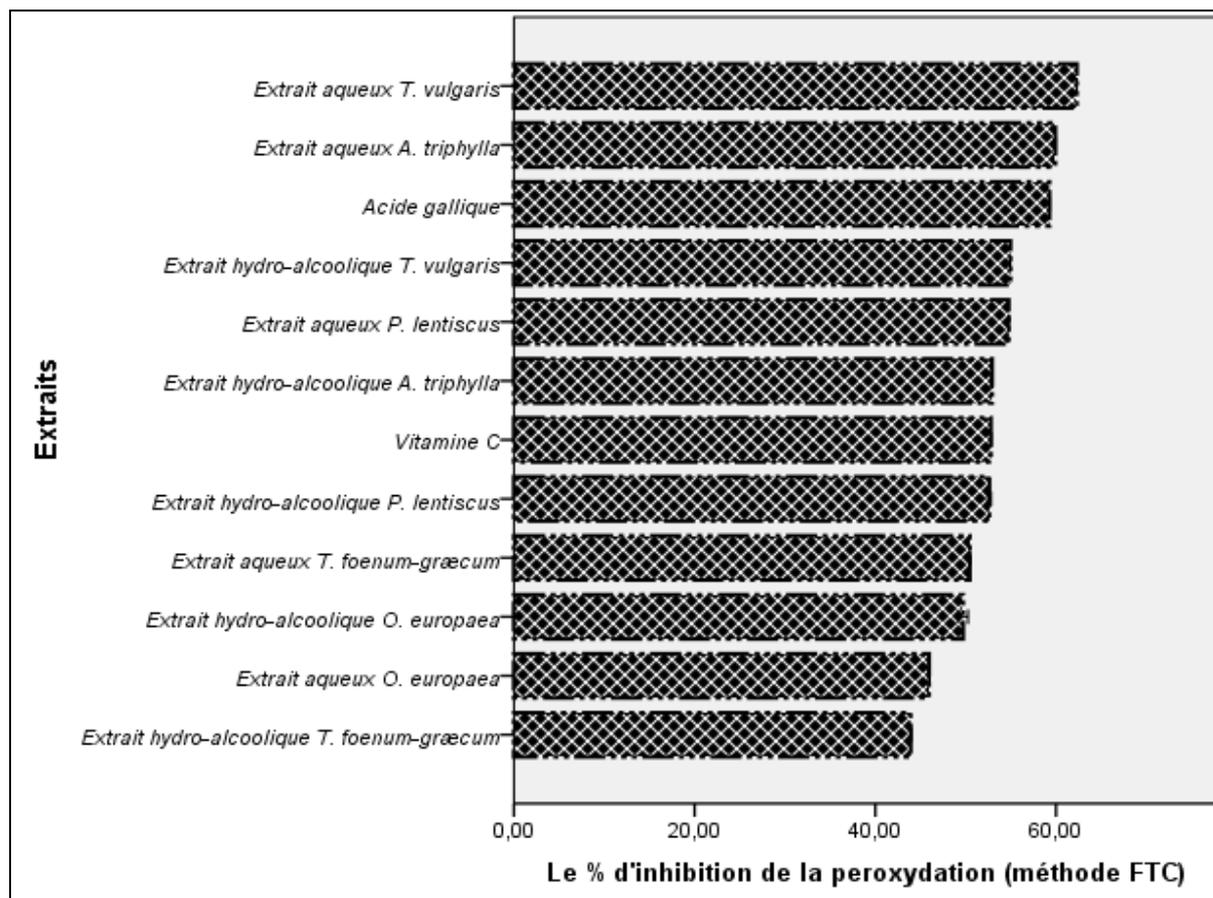


Figure 26 : Résultats de pourcentage d'inhibition de la peroxydation.

Shrififar et al., (2003) ont testé la capacité de différents extraits d'*Otostegia persica* (Labiatae) qui ont inhibé la peroxydation des lipides par la méthode de FTC, les pourcentages d'inhibition trouvés après 60h sont de 95.87 ± 1.1 , 2.5 ± 0.013 et 1.9 ± 0.021 % pour les extraits méthanolique,hexanique et chloroformique respectivement.

D'après les résultats obtenus (tableau 7) pour l'activité antioxydante des différents extraits, on constate qu'avec la majorité des méthodes, les extraits hydro-alcooliques ont présenté la meilleure activité antioxydante, à l'exception de la méthode de FTC où les extraits aqueux ont montré l'activité antioxydante la plus élevée. Cette constatation a été affirmée par plusieurs études qui ont montré que les extraits aqueux des plantes médicinales ont une activité antioxydante la plus élevée contre la peroxydation des lipides avec la méthode de FTC (Al-Naqeeb et al., 2009 ; Rezaeizadeh et al., 2011).

Tableau 7 : Activité antioxydante des différents extraits par cinq méthodes.

Extraits	Méthodes	Test au DPPH	blanchissement de la	Capacité anti-oxydante	FRAP	FTC
		(IC50 mg/ml)	β -carotène (%)	totale (mg EAA/ g d'extrait)	(moles de Fe^{2+} / g d'extrait)	(% d'inhibition)
Extrait aqueux <i>T. vulgaris</i>		30.38 ± 0.008^g	73.92 ± 0.10^e	133.88 ± 0.01^f	10.37 ± 0.00^e	62.30 ± 0.00^a
Extrait aqueux <i>A. triphylla</i>		27.73 ± 0.007^f	82.87 ± 0.14^c	173.50 ± 0.04^c	12.88 ± 0.00^d	59.61 ± 0.01^b
Extrait aqueux <i>P. lentiscus</i>		23.32 ± 0.007^c	62.18 ± 0.02^g	79.71 ± 0.00^h	42.37 ± 0.00^b	54.78 ± 0.00^d
Extrait aqueux <i>O. europaea</i>		92.04 ± 0.049^j	50.87 ± 0.09^j	75.75 ± 0.06^i	04.01 ± 0.01^i	45.95 ± 0.00^i
Extrait aqueux <i>T. foenum-graecum</i>		95.32 ± 0.070^k	52.17 ± 0.00^i	39.77 ± 0.04^k	07.53 ± 0.04^f	50.46 ± 0.00^g
Extrait hydro-alcoolique <i>T. vulgaris</i>		25.08 ± 0.002^e	79.37 ± 0.21^d	154.30 ± 0.01^d	22.87 ± 0.00^c	54.95 ± 0.00^d
Extrait hydro-alcoolique <i>A. triphylla</i>		23.52 ± 0.035^d	88.13 ± 0.15^b	270.13 ± 0.00^b	06.62 ± 0.00^g	52.92 ± 0.00^e
Extrait hydro-alcoolique <i>P. lentiscus</i>		18.75 ± 0.017^b	73.45 ± 0.00^f	141.79 ± 0.00^e	61.37 ± 0.00^a	52.63 ± 0.07^f
Extrait hydro-alcoolique <i>O. europaea</i>		69.15 ± 0.063^h	54.98 ± 0.03^h	82.63 ± 0.02^g	07.53 ± 0.06^f	49.71 ± 0.21^h
Extrait hydro-alcoolique <i>T. foenum-graecum</i>		90.02 ± 0.035^i	54.70 ± 0.01^h	46.81 ± 0.00^j	05.00 ± 0.01^h	43.92 ± 0.00^j
Le BHT		06.95 ± 0.002^a	96.19 ± 0.19^a	401.01 ± 1.24^a	/	/
L'acide gallique		/	/	/	/	59.28 ± 0.00^c
La vitamine C		/	/	/	/	$52.80 \pm 0.00^{e,f}$

Valeurs avec la même lettre minuscule c-à-d ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

2-2-6/ La corrélation entre la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante

Les composés phénoliques présents dans les plantes sont des bons antioxydants naturels (Wangcharoen et Morasuk, 2007), nous avons déterminé les coefficients de corrélation de Pearson (r) entre les différentes méthodes de l'activité antioxydante et la teneur en phénols totaux des extraits. Les résultats obtenus montrent une corrélation très significative ($P < 0,01$) entre l'activité antioxydante par la méthode de blanchissement du β - carotène et la teneur en phénols totaux avec un coefficient de corrélation (r) de 0.47 (figure 27).

Une corrélation très hautement significative ($P < 0,001$) a été trouvée entre l'activité antioxydante par la méthode de FRAP et la teneur en phénols totaux avec un coefficient de corrélation (r) de 0.87 (figure 28). La capacité anti-oxydante totale montre une corrélation significative ($P < 0,05$) avec la teneur en phénols totaux ($r = 0.43$) (figure 29).

L'activité antioxydante des extraits testés peut être attribuée aux composés phénoliques comme l'acide caféique, quercétine et rutine. Il n'y a pas eu de corrélation entre l'activité antioxydante avec la méthode de FTC et le contenu phénolique total (figure 30). En revanche, une corrélation négative a été trouvée avec le test du DPPH ($r = -0.78$; $p < 0.001$) (figure 31).

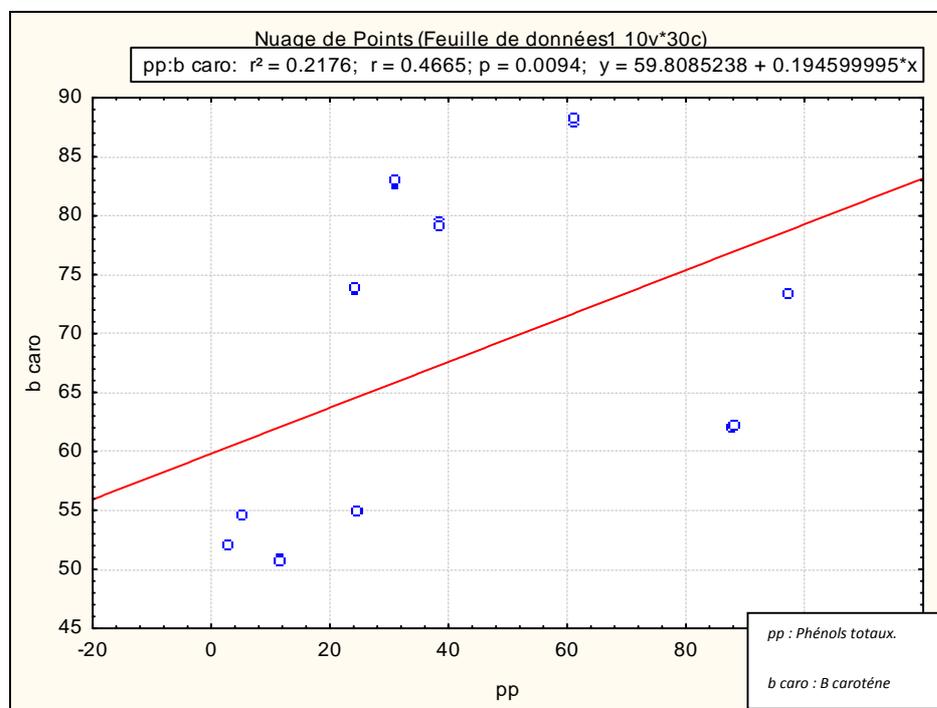


Figure 27 : Corrélation entre l'activité antioxydante par la méthode de blanchissement du β - carotène et la teneur en phénols totaux.

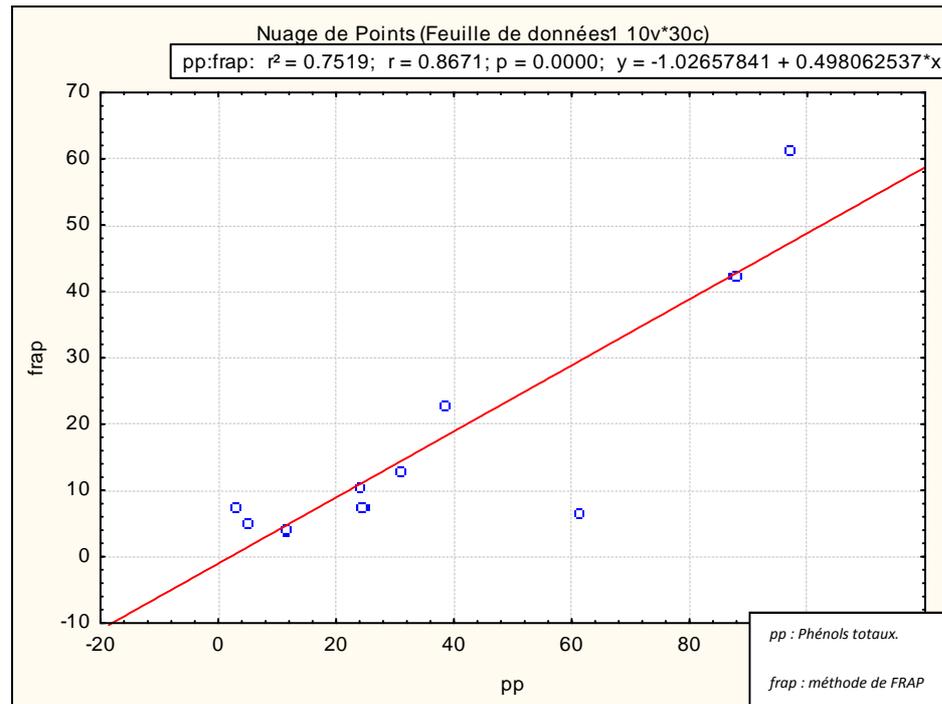


Figure 28 : Corrélation entre l'activité antioxydante par la méthode de FRAP et la teneur en phénols totaux.

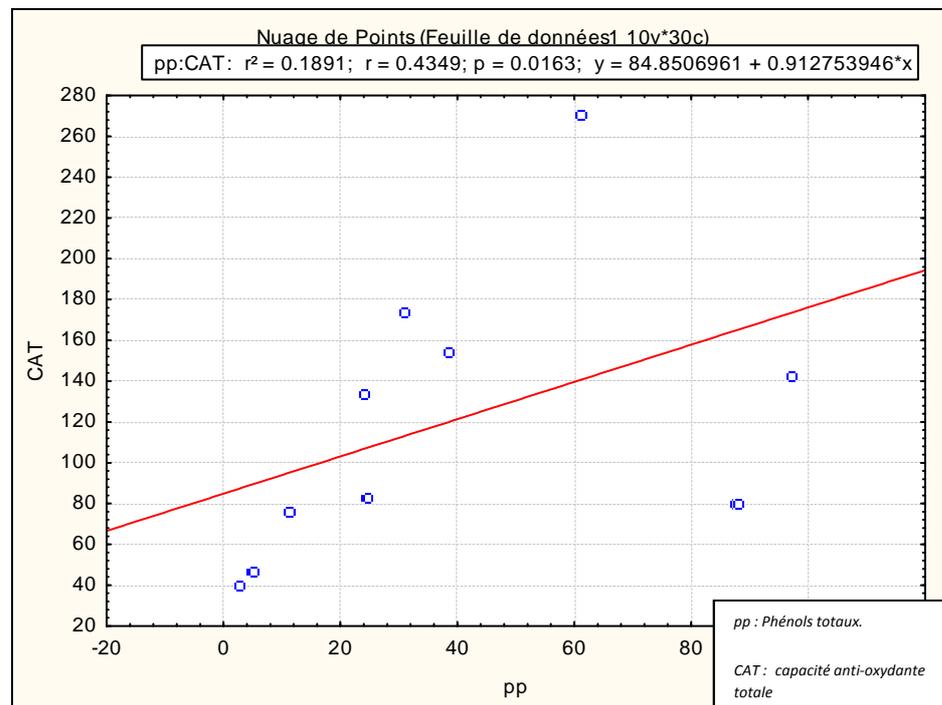


Figure 29 : Corrélation entre la capacité anti-oxydante totale et la teneur en phénols totaux.

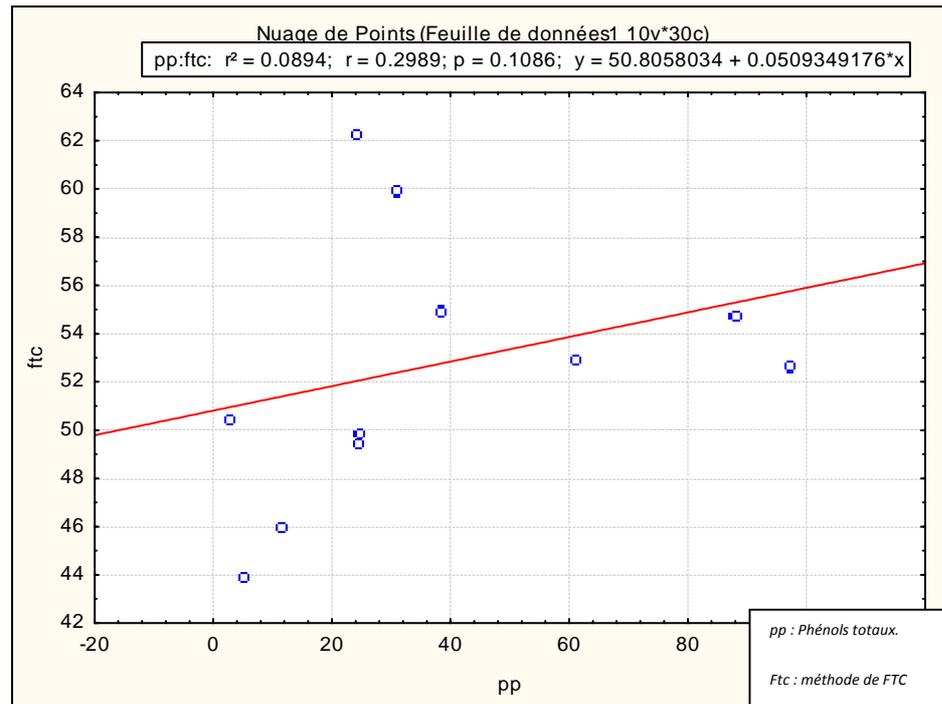


Figure 30 : Corrélation entre l'activité antioxydante par la méthode de FTC et la teneur en phénols totaux.

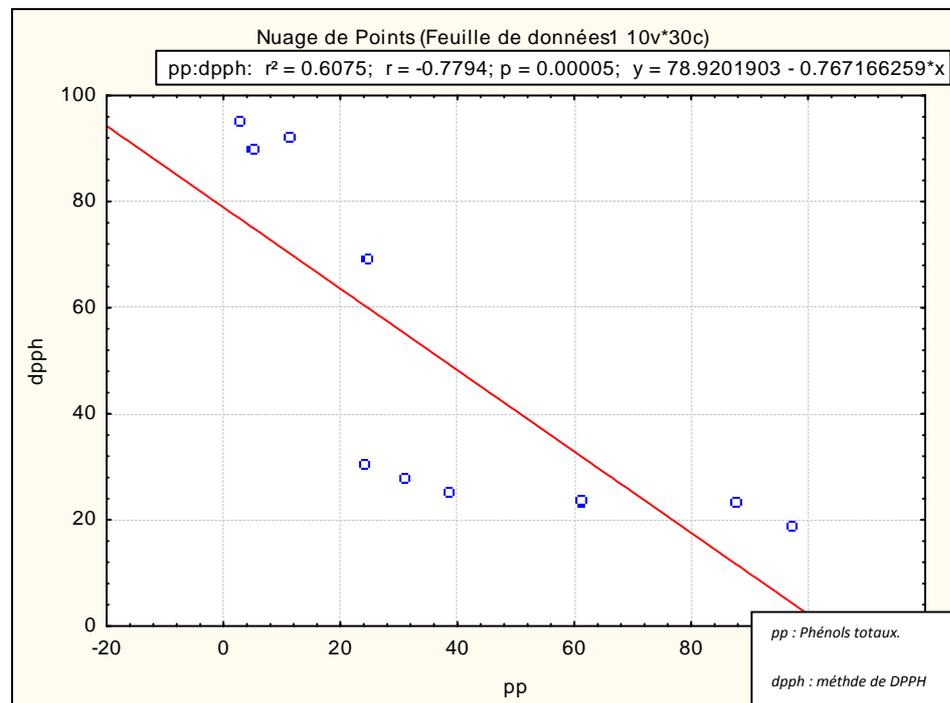


Figure 31 : Corrélation entre l'activité antioxydante par la méthode de DPPH et la teneur en phénols totaux.

D'après les résultats de l'activité antioxydante des différents extraits des plantes, on déduit que les antioxydants contenus dans les extraits, notamment les composés phénoliques et les flavonoïdes étaient capables de piéger les radicaux libres et de réduire les oxydants.

L'activité antioxydante des composés phénoliques et des flavonoïdes dépend des facteurs suivants: la réactivité (agents donateurs d'H et des électrons), la stabilité du radical formé, la réactivité avec d'autres antioxydants, la capacité de coordonner les métaux de transition, et l'interaction et la solubilité avec les membranes (Barreiros et *al.*, 2006).

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques qui sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes. Ils sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman et *al.*, 1995).

L'action anti-oxydante de ces phytonutriments ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation des traces des ions métalliques responsables de la production des espèces réactives oxygénées (Cotelle, 2000).

D'autres études ont montré que les flavonoïdes sont de bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase qui est une source biologique importante du radical superoxyde (Hanasaki et *al.*, 1994; Cos et *al.*, 1998).

Les flavonoïdes sont également connus pour modifier les activités des enzymes comme la protéine kinase C, la protéine tyrosine kinase, aldose-réductase, la myéloperoxydase, la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, la phospholipase, la transcriptase inverse, l'ornithine décarboxylase, lipoxygénase et cyclooxygénase. Certaines de ces enzymes sont impliquées dans les fonctions immunitaires, la cancérogenèse, les transformations cellulaires, la croissance tumorale et les métastases. La fonction antioxydante et la modification d'action enzymatique des flavonoïdes expliquent beaucoup leurs activités pharmacologiques (Kohlmeier et Hastings, 1995; Santos et *al.*, 1998).

Le nombre de groupes hydroxyle phénoliques peut jouer un rôle important dans l'activité de piégeage des radicaux libres (Van Acker et *al.*, 1993; Justino et *al.*, 2004). Les rapports de la littérature montrent que les composés hydroxyle dans la position ortho-aromatique, comme la quercétine, ont une activité antioxydante contre les ROS (Soobrattee et

al., 2005). En présence d'H₂O₂, par exemple, des composés phénoliques tels que l'ortho-quinol subissent une réaction de réduction à générer les ortho-quinones et de l'eau en tant que produits (Dewick, 2002; Soobrattee et *al.*, 2005).

Pour une bonne activité de piégeage de flavonoïdes, un groupement catéchol sur l'anneau B est nécessaire. Le groupement OH-3 peut fonctionner comme un site de chélation et peut également être oxydée. Le groupe 3-OH, en combinaison avec une double liaison C2-C3 augmente l'activité du piégeage (Van Acker et *al.*, 1996).

Les flavonoïdes sont des charognards efficaces des radicaux libres responsables de dommages à l'ADN et à la promotion de la tumeur. Leur activité anticancérigène s'exprime par de multiples mécanismes, comme l'activation et l'amélioration des activités des enzymes antioxydantes ou en inhibant certaines enzymes telles que la P-450 dans le foie (Olinski et *al.*, 2002 ; Marchand, 2002).

Les tanins sont doués d'un pouvoir antioxydant. C'est ainsi que les tanins hydrolysables inhibent la peroxydation des lipides et que les tanins condensés inhibent la formation des superoxydes. Ces composés inhibent les activités enzymatiques de la protéine-kinase C, de la 5-lipoxygénase et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (Bruneton, 1999).

Les polyphénols sont aussi capables de capturer les radicaux OH parce que ces groupes de phénols sont d'excellents agents réducteurs. L'étude réalisée par Zhao et *al.*, 2005 a rapporté que le verbascoside est capable d'inhiber la peroxydation lipidique par la chélation des ions ferreux et le piégeage du radical hydroxyle.

Il existe des preuves de plus en plus que les polyphénols peuvent protéger les constituants cellulaires contre les dommages oxydatifs et, par conséquent, de limiter le risque de divers maladies dégénératives associées au stress oxydatif (Luqman et Rizvi, 2006 ; Pandey et Rizvi, 2009).

2-3/ Activité anti-inflammatoire

L'étude de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée sur le modèle de l'œdème aigu de la patte de souris induit par l'injection de la carragénine qui provoque une expression maximale de la cyclooxygénase-2 (COX-2) (Nantel et *al.*, 1999).

Les extraits aqueux et hydro-alcoolique des plantes étudiées ont été testés chez les souris à des doses de 50 et 200 mg/kg du poids corporel ; les extraits sont administrés par voie orale. Les résultats des pourcentages d'inhibition (moyenne) de l'inflammation sont représentés dans la figure 32.

Les résultats obtenus montrent que l'injection de 0.1 ml de la carragénine provoque une augmentation de l'œdème de la patte avec un pourcentage (moyenne) de 11.18 ± 0.10 % par rapport à la patte normale.

Les extraits aqueux et hydro-alcoolique des feuilles d'*A. triphylla* administrés avec 50 et 200 mg/kg montrent une inhibition de l'inflammation très hautement significative ($P < 0,0001$) avec des pourcentages d'inhibition (moyenne) de 74.73 ± 14.59 , 87.26 ± 5.29 , 66.25 ± 5.66 et 83.89 ± 2.33 % respectivement .

Les extraits hydro-alcooliques des feuilles de *T. vulgaris* à des doses de 50 et 200 mg/kg et l'extrait aqueux de la même plante à la dose de 200 mg/kg entraînent une diminution de l'inflammation très hautement significative ($P < 0,0001$), les pourcentages d'inhibition (moyenne) sont de 69.07 ± 14.89 , 86.88 ± 5.03 et 78.69 ± 4.89 % respectivement. Tandis que l'extrait aqueux de cette plante à la dose de 50 mg/kg provoque une inhibition de l'inflammation mais d'une manière non significative ($P > 0,05$), le pourcentage d'inhibition (moyenne) est de 36.21 ± 23.11 %.

L'administration des extraits hydro-alcooliques avec les doses de 50 et 200 mg/kg et l'extrait aqueux à la dose de 200 mg/kg des feuilles de *P. lentiscus* ont montré un effet significatif ($P < 0,05$) dans la réduction de l'inflammation, les pourcentages d'inhibition (moyenne) enregistrés sont de 58.58 ± 12.74 , 70.57 ± 5.62 et 50.44 ± 41.26 %. Par contre une inhibition non significative ($P > 0,05$) a été exercée par l'extrait aqueux de cette plante à la dose de 50 mg/kg, le pourcentage d'inhibition (moyenne) est de 22.11 ± 15.81 %.

En revanche, les extraits aqueux des feuilles d'*O. europaea* à la dose de 50 ($P < 0,05$) et 200 mg/kg ($P < 0,0001$) et l'extrait hydro-alcoolique à la dose de 200 mg/kg ($P < 0,05$) ont pu inhiber l'augmentation de l'œdème avec des pourcentages d'inhibition (moyenne) de 50.58 ± 14.79 , 76.36 ± 11.68 et 49.79 ± 18.96 % respectivement. Tandis que l'extrait hydro-alcoolique de la même plante à la dose de 50 mg/kg ne provoque pas une inhibition significative ($P > 0,05$) de l'inflammation. Le pourcentage d'inhibition (moyenne) enregistré avec cette dose est de 19.57 ± 10.12 %.

La dose de 200 mg/kg des extraits hydro-alcoolique et aqueux des graines de *T. foenum-graecum* a montré une activité remarquable vis-à-vis de la diminution de l'inflammation due à l'injection de la carragénine, les valeurs des pourcentages d'inhibition (moyenne) sont de 63.23 ± 9.13 % ($P < 0,0001$) et 46.77 ± 10.97 % ($P < 0,05$) respectivement. Par ailleurs les mêmes extraits à la dose de 50 mg/kg n'exercent pas un effet inhibiteur significatif ($P > 0,05$) contre l'inflammation, les pourcentages d'inhibition (moyenne) respectifs sont de 18.23 ± 9.48 et 35.79 ± 24.63 %.

Dans le lot de référence, le diclofenac du sodium à la dose de 150 mg/kg a donné une diminution très hautement significative ($P < 0,0001$) de l'œdème avec un pourcentage d'inhibition (moyenne) de 83.30 ± 6.34 % (figure 32).

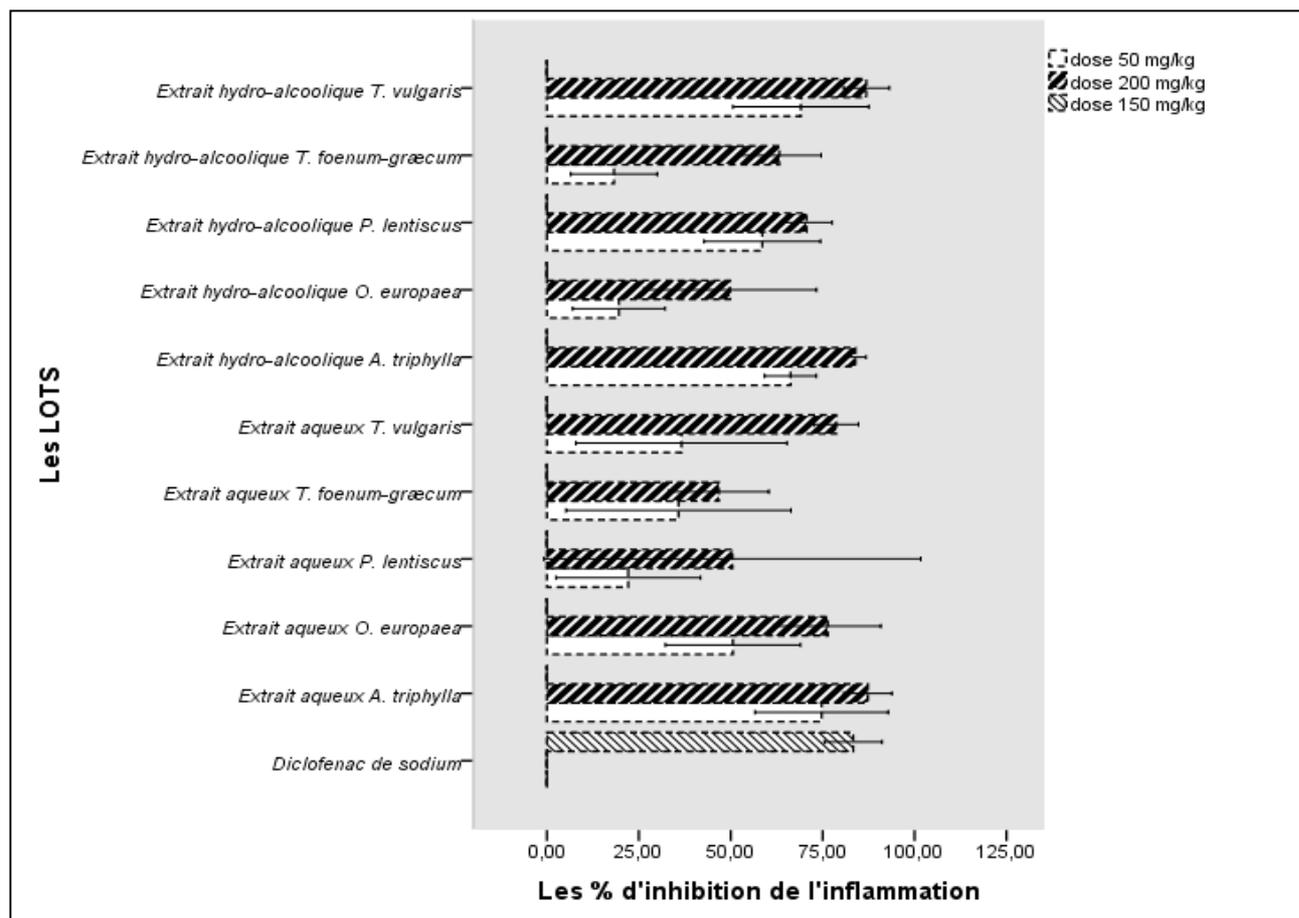


Figure 32 : Les pourcentages d'inhibition (moyenne) de l'inflammation par les différents extraits des plantes.

L'étude de Ravi *et al.*, (2009), menée sur les mûres de *Solanum nigrum* Linn, montre que l'extrait méthanolique des ces mûres à la dose de 125, 250 et 375 mg/kg a donné des pourcentages d'inhibition (moyenne) de 17.08, 13.09 et 23.45 % respectivement chez les rats.

L'extrait aqueux des graines de fruit de *Trapa natans* Linn administré aux rats avec les doses de 200 et 300 mg/kg provoque une inhibition de l'inflammation avec des pourcentages d'inhibition (moyenne) de 28.91 et 32.61 % respectivement (Patel, 2011).

Chebbi Mahjoub *et al.*, (2011) ont testé l'extrait chloroformique et méthanolique des feuilles d'*O. europaea* sur les rats, ils ont trouvé que les pourcentages d'inhibition enregistrés avec la dose de 200 mg / kg à la cinquième heure était de $77,8 \pm 2$ % pour l'extrait chloroformique et $68,1 \pm 3,8$ % pour l'extrait méthanolique.

Avec l'administration de l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae) à la dose de 100 et 200 mg/kg, des pourcentages d'inhibition de l'inflammation de 02.30 et 34.00 % ont été trouvés respectivement après 270 min de l'injection de PGE-2- qui provoque une inflammation (Kanyonga et al.,2011).

Dans le but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits des plantes, Ouédraogo et al., (2011) ont testé l'extrait aqueux des écorces de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae) chez les souris, les pourcentages d'inhibition sont de 25.00 et 31.42% avec la dose de 200 mg/kg après une heure et trois heures de l'injection de la carragénine et 65.00 et 51.42 % avec la dose de 600 mg/kg respectivement.

Goji et al., (2010) ont trouvé des pourcentages d'inhibition (moyenne) de 12.0 ± 1.21 , 33.99 ± 4.52 et 32.02 ± 0.38 % exercés par l'extrait aqueux des feuilles de *Nauclea latifolia* (Rubiaceae) à la dose de 50, 100 et 150 mg/kg chez les rats dont l'inflammation est induite par l'injection de formaline.

L'étude élaborée par Alam et al., (2011) a montré que les doses de 100 et 200 mg/ml de l'extrait éthanolique du fruit d'*Ammomum subulatum* administrées par voie orale aux rats provoquent une inhibition de 34,49 % et 41,39 %, respectivement, après 3 h. Tandis que l'extrait aqueux de fruits d'*A. subulatum* montre une inhibition de 27,59 % et 34,48 % après 3 h, respectivement.

D'après les résultats obtenus, on note que les différents extraits des plantes ont montré une activité anti-inflammatoire vis-à-vis de l'inflammation induite par l'injection de la carragénine, cette activité exercée peut être due aux composants actifs présents dans les extraits comme les polyphénols qui peuvent exercer leurs propriétés anti-inflammatoires à des niveaux multiples, grâce à la modulation des voies de signalisation de MAPK (*Mitogen-activated protein kinases*) (Kong et al., 2000; Wiseman et al., 2001), Protéine kinase B, les facteurs de transcription AP-1et NF-kB (*nuclear factor kB*) (Manna et al., 2000), l'inhibition de la production des cytokines et les chimiokines inflammatoires, la suppression de l'activité de iNOS (*nitric oxide synthase*) et cyclooxygénases (COX) (Donnelly et al., 2004; O'Leary et al., 2004) et en diminuant la production de ROS/RNS (*Reactive oxygen species/ reactive nitrogen species*) et MAPK qui jouent un rôle crucial dans l'inflammation (Ichikawa et al.,2004).

Parmi les composés phénoliques naturels, on cite les acides phénoliques qui sont des hydroxyles dérivés des acides benzoïque et cinnamique. Les acides phénoliques ont reçu une attention considérable en raison de leurs diverses activités biologiques, y compris antioxydante, anti-apoptotique et la capacité anti-inflammatoire (Manach et *al.*, 2004).

Les radicaux libres peuvent aussi agir comme des messagers secondaires, ce qui provoque la production d'autres médiateurs impliqués dans la réponse inflammatoire. De plus, Garcia et *al.*, (1996) ont montré que l'activation du métabolisme de l'acide arachidonique par les ROS produit des prostaglandines et des cytokines telles que IL-1, IL-6 et TNF (*Tumor necrosis factor*).

Les différents extraits des plantes ont montré une activité antioxydante remarquable ce qui leur donne la capacité de réduire la production de radicaux libres par l'inhibition de la NADPH oxydase lors de l'inflammation. Ainsi, cette activité antioxydante exercée par les extraits étudiés produirait un effet thérapeutique supplémentaire qui renforce son activité anti-inflammatoire. En raison de la présence des tanins, des flavonoïdes, des saponines et des triterpénoïdes, il a été démontré que ces composés possèdent des effets anti-inflammatoires et anti-oxydants (Bruneton, 2009 in Ouédraogo et *al.*, 2011).

Les flavonoïdes possèdent des activités antioxydantes et anti-radicalaires. Ils pourraient réguler les activités des cellules liées à l'inflammation comme les mastocytes, les macrophages, les lymphocytes et les neutrophiles. Middleton et *al.*, (2000) ont montré que certains flavonoïdes inhibent la libération des histamines à partir des mastocytes et d'autres inhibent la prolifération des cellules T.

Par ailleurs, certains flavonoïdes modulent les activités des enzymes de l'acide arachidonique (AA), les enzymes métabolisant telles que la phospholipase A2 (PLA2), la cyclooxygénase (COX) et la lipoxygénase (LOX) et les enzymes produisant l'oxyde nitrique (NO), de l'oxyde nitrique synthase (NOS). Une inhibition de ces enzymes par les flavonoïdes réduit la production de prostaglandines et les leucotriènes. L'inhibition de ces enzymes exercée par les flavonoïdes est certainement l'un des importants mécanismes cellulaires anti-inflammatoire.

Certains flavonoïdes aussi peuvent inhiber la génération des enzymes comme les eicosanoïdes, ainsi que l'inhibition de l'expression des gènes pro-inflammatoires. Ces effets peuvent être favorables pour les troubles inflammatoires chroniques (Kim et *al.*, 2004).

Une autre propriété anti-inflammatoire de flavonoïdes qui est due à leurs capacités à inhiber la dégranulation des neutrophiles. Ce qui influence directement sur la diminution de la libération de l'acide arachidonique par les neutrophiles et d'autres cellules immunitaires (Hoult et *al.*, 1994 ; Tordera et *al.*, 1994).

Plusieurs études *in vitro* utilisant différentes lignées cellulaires ont montré que la quercétine est également capable d'inhiber les LPS qui induisent la production de cytokines. La quercétine inhibe les LPS qui induisent la production de TNF- α dans les macrophages (Manjeet et Ghosh, 1999) et la production des IL-8 dans les cellules pulmonaires (Geraets et *al.*, 2007).

La lutéoline est un flavonoïde largement répandu dans l'univers végétal, connue pour son action anti-inflammatoire. Dans des études sur des cellules humaines du colon, la lutéoline supprimait efficacement la production de TNF-alpha et d'IL-8. Elle inhibait également la libération d'histamine, de leucotriènes et de prostaglandines dans des cultures de mastocytes humains sensibilisés avec des anticorps Ig E (Kim et *al.*, 2005).

L'activité anti-inflammatoire exercée par les extraits des plantes peut être due aussi à la présence des tanins qui fonctionnent principalement comme des astringents, car ils peuvent se lier à l'albumine existant dans la peau et les membranes muqueuses du corps en formant ainsi une couche de protection qui est insoluble et peut résister à la maladie. Les tanins peuvent aussi réduire l'inflammation. Ceci accentue l'utilisation des plantes contenant des tanins pour le traitement des blessures, hémorroïdes, et dans les conditions inflammatoires du tube digestif (Trease et Evans, 1989 ; Ezeonwumelu et *al.*, 2012).

Les saponines sont aussi des glycosides trouvés largement dans les plantes médicinales. Ils possèdent une large gamme des actions thérapeutiques dans le corps, y compris l'effet anti-inflammatoire et diurétique (Trease et Evans, 1989 ; Ezeonwumelu et *al.*, 2012).

L'inflammation ne joue pas seulement un rôle dans les maladies inflammatoires, mais aussi dans la progression du cancer. Plusieurs étapes inflammatoires se sont révélées capables de provoquer le cancer, telles que la maladie inflammatoire de l'intestin dans le cancer colorectal, la gastrite induite par *H. pylori* dans le cancer gastrique, ou prostatite qui peut induire le cancer de la prostate (Balkwill et *al.*, 2005).

En outre, une alimentation riche en antioxydants et anti-inflammatoires des composés dérivés de fruits, légumes et extraits des plantes peut réduire le risque de développer des maladies neuro-dégénératives liées à l'âge, comme la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson (Joseph et *al.*, 2007).

2-4/ Activité hypocholestérolémiante

Dans la présente étude, cinq espèces de plantes ont été sélectionnées pour être évaluées pour leur activité hypocholestérolémiante *in vivo*. Deux sortes d'extraits (aqueux et hydro-alcoolique) ont été préparées de chaque matériel végétal, leurs effets inhibiteurs sur l'hypercholestérolémie ont été examinés chez les souris.

L'hypercholestérolémie augmente le risque de développement de l'athérosclérose et l'apparition des maladies cardiovasculaires. Elle est due à la fois à la teneur en cholestérol apportée par l'alimentation et par sa synthèse au niveau du foie (Noyan, 1996).

Dans la présente étude, chez les souris du lot de contrôle, le régime riche en cholestérol (1 %) provoque une augmentation significative ($P < 0,05$) des concentrations sériques du TC (253.00 ± 31.60 mg/dl), TG (200.00 ± 12.32 mg/dl), LDL (160.00 ± 31.60 mg/dl) et VLDL (40.00 ± 2.46 mg/dl) et une diminution significative ($P < 0,05$) de la concentration de HDL (31.60 ± 1.74 mg/dl), par rapport au lot témoin qui a reçu une alimentation normale et dont les concentrations respectives sont de 116.00 ± 0.89 , 146.40 ± 10.86 , 38.52 ± 8.13 , 29.28 ± 2.17 et 48.2 ± 6.4 mg/dl (tableau 8).

Les extraits aqueux et hydro-alcoolique des feuilles de *T. vulgaris* et d'*A. triphylla*, les extraits hydro-alcooliques des feuilles de *P. lentiscus*, d'*O. europaea* et des graines de *T. foenum-graecum* ont provoqué une diminution très hautement significative ($P < 0,0001$) de la concentration du cholestérol total (TC), les valeurs respectives sont de 149.20 ± 2.48 , 165.40 ± 5.54 , 161.60 ± 14.44 , 162.60 ± 17.28 , 154.6 ± 18.10 , 163.4 ± 67.77 et 147.8 ± 8.64 mg/dl, par rapport à la concentration de TC du lot de contrôle (253.00 ± 31.60 mg/dl).

L'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus* a provoqué aussi une diminution significative ($P < 0,05$) de la concentration du TC (203.60 ± 9.18 mg/dl). Tandis que, dans le lot de référence, l'atorvastatine provoque une diminution très hautement significative ($P < 0,0001$) de la concentration de TC avec une valeur de 130.6 ± 4.18 mg/dl. Les extraits aqueux des feuilles d'*O. europaea* et des graines de *T. foenum-graecum* provoquent une diminution non significative ($P > 0,05$) du TC, les valeurs respectives sont de 246.6 ± 17.38 et 230.4 ± 18.13 mg/dl (tableau 8).

Les triglycérides (TG) sont des molécules faisant partie de la catégorie des lipides. L'organisme les synthétise à partir des matières grasses absorbées au niveau intestinal. Par ailleurs le foie peut également les synthétiser à partir du glucose. Ces molécules circulent via le sang de manière naturelle, mais elles peuvent être à l'origine, en cas de quantité trop importante, de pathologies cardiovasculaires dues à leurs dépôts sur les parois des artères.

La concentration sérique des TG dans les lots traités a été hautement significativement diminuée ($P < 0,0001$) par les extraits hydro-alcooliques des feuilles d'*A. triphylla* (93.8 ± 1.78 mg/dl), des graines de *T. foenum-graecum* (91.00 ± 4.12 mg/dl) et des feuilles de *P. lentiscus* (71.20 ± 4.38 mg/dl) ; elle a été diminuée significativement ($P < 0,05$) par l'extrait hydro-alcoolique de *T. vulgaris* (121.80 ± 3.89 mg/dl) et les extraits aqueux des feuilles de *T. vulgaris* ($136,60 \pm 16.99$ mg/dl), d'*A. triphylla* ($129,20 \pm 12.11$ mg/dl) et d'*O. europaea* (111.20 ± 21.77 mg/dl). Le même résultat a été observé dans le lot de référence où l'atorvastatine diminue la concentration à 121.80 ± 42.65 mg/dl.

En revanche, l'extrait aqueux des graines de *T. foenum-graecum* et l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*O. europaea* diminuent non significativement ($P > 0,05$) la concentration des TG dont les valeurs sont de 153.60 ± 54.91 et 164.60 ± 35.01 mg/dl respectivement par rapport à la valeur de TG du lot de contrôle (200.00 ± 12.32 mg/dl) (tableau 8).

D'autre part, les lipoprotéines de basse densité (LDL) tirent le cholestérol des tissus de foie vers les tissus périphériques, alors que les lipoprotéines de haute densité (HDL) facilitent la translocation du cholestérol à partir des tissus périphériques au foie pour le catabolisme. Par conséquent, le HDL a un effet utile dans la réduction du cholestérol des tissus, tout en diminuant le niveau de LDL qui a comme conséquence la réduction de risque des maladies cardio-vasculaires (Nofer et al., 2002).

Les résultats du tableau 8 montrent que l'extrait aqueux des feuilles de *T. vulgaris* a diminué très hautement significativement ($P < 0,0001$) la concentration sérique des LDL dans le lot traité (68.28 ± 20.00 mg/dl). Tandis que l'administration des extraits hydro-alcooliques des feuilles de *P. lentiscus*, d'*A. triphylla*, d'*O. europaea*, des graines de *T. foenum-graecum*, des feuilles de *T. vulgaris* et l'extrait aqueux des feuilles d'*A. triphylla* dans les lots traités provoquent une diminution significative ($P < 0,05$) des LDL, les concentrations sont de 99.36 ± 18.77 , 99.04 ± 15.93 , 87.28 ± 44.89 , 80.84 ± 5.08 et 74.60 ± 8.14 mg/dl respectivement.

Les extraits aqueux des graines de *T. foenum-graecum* et des feuilles de *P. lentiscus* et d'*O. europaea* provoquent dans les lots traités des diminutions non significatives ($P > 0,05$) au niveau des concentrations des LDL qui sont de 132.28 ± 29.89 , 145.88 ± 9.76 et 150.16 ± 44.18 mg/dl respectivement par rapport à la concentration des LDL dans le lot de contrôle (160.00 ± 31.60 mg/dl) (tableau 8).

Dans le lot de référence, l'atorvastatine a diminué très hautement significativement ($P < 0,0001$) la concentration des LDL (43.44 ± 9.35 mg/dl) par rapport au lot de contrôle.

Par ailleurs, l'atorvastatine (dans le lot de référence), l'extrait aqueux des feuilles d'*O. europaea* et l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *T. vulgaris* (dans les lots traités), après 30 jours de traitement, ont montré une augmentation très hautement significative ($P < 0,0001$) de la concentration sérique des HDL avec des concentrations de 62.80 ± 3.49 , 62.00 ± 5.14 et 60.20 ± 3.34 mg/dl respectivement par rapport à la concentration trouvée dans le lot de contrôle (31.60 ± 1.74 mg/dl).

L'administration des extraits aqueux des feuilles de *T. vulgaris*, d'*A. triphylla* et l'extrait aqueux et hydro-alcoolique des graines de *T. foenum-graecum* à une dose de 200 mg/kg provoquent une augmentation significative ($P < 0,05$) de la concentration des HDL avec des valeurs de 53.60 ± 16.45 , 56.60 ± 7.16 , 57.20 ± 6.94 et 55.00 ± 4.00 mg/dl respectivement.

Une augmentation non significative ($P > 0,05$) de la concentration des HDL a été constatée dans les lots traités avec les extraits hydro-alcooliques des feuilles d'*O. europaea*, d'*A. triphylla*, de *P. lentiscus* et l'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*, les concentrations respectives sont de 45.20 ± 14.00 , 44.80 ± 6.26 , 41.00 ± 1.87 et 38.20 ± 1.48 m/gdl.

Les extraits hydro-alcooliques des feuilles de *P. lentiscus*, d'*A. triphylla*, des graines de *T. foenum-graecum* et les extraits aqueux des feuilles de *P. lentiscus* et d'*O. europaea* provoquent une diminution significative ($P < 0,05$) de la concentration sérique des VLDL dans les lots traités, les concentrations sont de 14.24 ± 0.87 , 18.76 ± 0.35 , 18.20 ± 0.82 , 19.52 ± 0.71 et 22.24 ± 4.35 mg/dl respectivement, par rapport au lot de contrôle (40.00 ± 2.46 mg/dl) (Tableau 8).

Tandis que l'administration des extraits hydro-alcooliques des feuilles de *T. vulgaris*, d'*O. europaea* et les extraits aqueux des feuilles de *T. vulgaris*, d'*A. triphylla* et des graines de *T. foenum-graecum* induisent une diminution non significative ($P > 0,05$) des concentrations des VLDL avec des valeurs respectives de 24.36 ± 0.77 , 30.92 ± 20.30 , 27.32 ± 3.39 , 25.48 ± 2.42 et 30.72 ± 10.98 mg/dl. Le même résultat a été constaté dans le lot de référence après l'administration de l'atorvastatine, la concentration sérique des VLDL est de 24.36 ± 8.53 mg/dl (tableau 8).

Tableau 8: Résultats du dosage des différents paramètres lipidiques (TC, TG, LDL, VLDL et HDL) des lots.

Paramètres	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)	LDL (mg/dl)	VLDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)
Les lots					
Aq <i>T. vulgaris</i> (200 mg/kg) + diète (1 %) cholestérol	149.20 ± 2.48 ^{***}	136.60 ± 16.99 ^{**}	68.28 ± 20.00 ^{***}	27.32 ± 3.39	53.60 ± 16.45 [*]
Aq <i>A. triphylla</i> (200 mg/kg) + diète (1 %) cholestérol	161.60 ± 14.44 ^{***}	129.20 ± 12.11 ^{**}	79.16 ± 9.44 ^{**}	25.48 ± 2.42	56.60 ± 7.16 [*]
Aq <i>P. lentiscus</i> (200 mg/kg) + diète (1 %) cholestérol	203.60 ± 9.18 [*]	97.60 ± 3.57 ^{***}	145.88 ± 9.76	19.52 ± 0.71 [*]	38.20 ± 1.48
Aq <i>O. europaea</i> (200 mg/kg) + diète (1 %) cholestérol	246.6 ± 17.38	111.20 ± 21.77 ^{**}	150.16 ± 44.18	22.24 ± 4.35 [*]	62.00 ± 5.14 ^{***}
Aq <i>T. foenum-græcum</i> (200 mg/kg) + diète (1 %) cholestérol	230.4 ± 18.13	153.60 ± 54.91	132.28 ± 29.89	30.72 ± 10.98	57.20 ± 6.94 ^{**}
hy <i>T. vulgaris</i> (200 mg/kg) + diète (1 %) cholestérol	165.40 ± 5.54 ^{***}	121.80 ± 3.89 ^{**}	80.84 ± 5.08 ^{**}	24.36 ± 0.77	60.20 ± 3.34 ^{***}
hy <i>A. triphylla</i> (200 mg/kg) + diète (1 %) cholestérol	162.60 ± 17.2 ^{***}	93.8 ± 1.78 ^{***}	99.04 ± 15.93 [*]	18.76 ± 0.35 [*]	44.80 ± 6.26
hy <i>P. lentiscus</i> (200 mg/kg) + diète (1 %) cholestérol	154.6 ± 18.10 ^{***}	71.20 ± 4.38 ^{***}	99.36 ± 18.77 [*]	14.24 ± 0.87 ^{**}	41.00 ± 1.87
hy <i>O. europaea</i> (200 mg/kg) + diète (1 %) cholestérol	163.4 ± 67.77 ^{***}	164.60 ± 35.01	87.28 ± 44.89 [*]	30.92 ± 20.30	45.20 ± 14.00
hy <i>T. foenum-græcum</i> (200 mg/kg) + diète (1 %) cholestérol	147.8 ± 8.64 ^{***}	91.00 ± 4.12 ^{***}	74.60 ± 8.14 ^{**}	18.20 ± 0.82 [*]	55.00 ± 4.00 [*]
Atorvastatine (10 mg/kg) + diète (1 %) cholestérol	130.6 ± 4.18 ^{***}	121.80 ± 42.65 ^{**}	43.44 ± 9.35 ^{***}	24.36 ± 8.53	62.80 ± 3.49 ^{***}
Diète (1 %) cholestérol (lot de contrôle)	253.00 ± 31.60 [#]	200.00 ± 12.32 [#]	160.00 ± 31.60 [#]	40.00 ± 2.46 [#]	31.60 ± 1.74 [#]
Diète normale (lot témoin)	116.00 ± 0.89	146.40 ± 10.86	38.52 ± 8.13	29.28 ± 2.17	48.2 ± 6.4

Aq : Extrait aqueux. **hy** : Extrait hydro-alcoolique.

* $p < 0.05$ significative du lot de contrôle.

** $p < 0.01$ hautement significative du lot de contrôle.

*** $p < 0.001$ très hautement significative du lot de contrôle.

$p < 0.05$ significative du lot témoin.

L'étude d'Islam *et al.*, (2011) ont montré que l'administration de l'extrait éthanolique des feuilles d'*Ananas comosus* à des doses de 1000 mg/kg, 500 mg/kg et 100 mg/kg pendant 60 jours provoquent une diminution de niveau du cholestérol sérique ($P < 0,001$) de 62 %, 47 % et 42 % respectivement; le taux sérique des triglycérides ($P < 0,001$) de 62,7 %, 58,7 %, et 49,09 % respectivement; le niveau de LDL sérique ($P < 0,01$) de 70,5 %, 53,9 % et 51,15 % respectivement. Cependant, le niveau de HDL sérique n'a pas été affecté d'une manière significative.

Rajasekaran et Kalaivani, (2011) ont montré que l'administration orale de l'extrait aqueux de *Monascus purpureus* (1,2 et 2,4 g / kg / jour -poids corporel) aux rats ayant reçu un régime riche en cholestérol a entraîné des baisses importantes dans le taux plasmatique du cholestérol total ($P < 0,001$), par rapport au taux de cholestérol des rats de lot de contrôle (733 mg/dl). Les triglycérides, LDL et VLDL ont également montré une diminution importante par rapport aux rats de lot de contrôle.

La morbidité et la mortalité par les maladies cardio-vasculaires sont directement liées aux niveaux de cholestérol sérique. La consommation d'un régime alimentaire enrichi en cholestérol augmente le degré de peroxydation des lipides, ce qui est également l'un des débuts des processus de l'athérosclérose.

A partir des résultats des différents paramètres lipidiques obtenus on peut déduire le niveau de risque de l'apparition de l'athérosclérose par le calcul d'Index Athérogénique (IA) par la formule suivante (Nwagha, 2010 ; Kanthe *et al.*, 2012) :

$$\mathbf{IA} = \log (TG/HDL-C).$$

Dans le lot de contrôle, l'alimentation riche en cholestérol (1 %) provoque un Index Athérogénique (IA) (0.80 ± 0.04) très hautement significative ($P < 0,0001$) par rapport au lot témoin (0.48 ± 19.32).

Par ailleurs, les extraits aqueux et hydro-alcoolique des feuilles de *T. vulgaris* (IA: 0.42 ± 0.10 et 0.30 ± 0.03), d'*A. triphylla* (IA: 0.36 ± 0.08 et 0.32 ± 0.05), de *P. lentiscus* (IA: 0.40 ± 0.01 et 0.23 ± 0.00) et des graines de *T. foenum-graecum* (IA: 0.41 ± 0.14 et 0.21 ± 0.02) induisent une diminution très hautement significative ($P < 0,0001$) de l'IA par rapport au lot de contrôle (IA: 0.80 ± 0.04) (Figure 33).

L'extrait aqueux des feuilles d'*O. europaea* provoque une réduction très hautement significative ($P < 0,0001$) de l'IA (0.24 ± 0.08) par rapport au lot de contrôle (0.80 ± 0.04) ; tandis que l'extrait hydro-alcoolique de la même plante provoque une diminution significative ($P < 0,05$) de l'IA (0.56 ± 0.10).

En revanche, l'atorvastatine diminue très hautement significativement ($P < 0,0001$) l'IA dans le lot de référence (0.26 ± 0.15) par rapport au lot de contrôle (Figure 33).

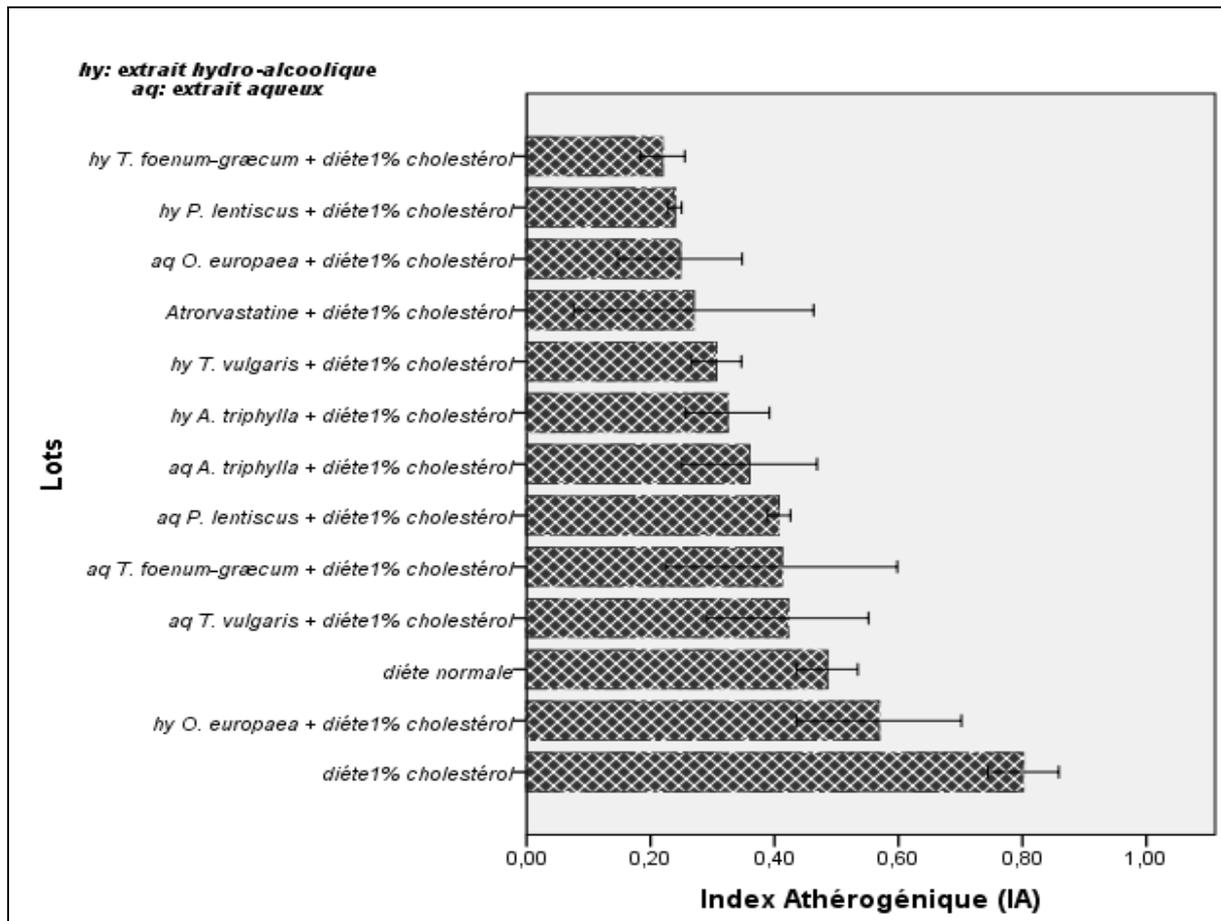


Figure 33 : L'Index Athérogénique (IA) des différents lots.

D'après les résultats obtenus, les extraits des différentes plantes testées ont montré une activité hypocholestérolémiant due à la présence des biomolécules qui diminuent le taux de cholestérol dans le sang.

Cette activité peut être due à l'action individuelle ou synergique des composés phénoliques. Le mécanisme possible est le contrôle de l'hydrolyse de certaines lipoprotéines, de leur absorption sélective et leur métabolisme par les différents tissus.

Bursill et *al.*, (2001) montrent que l'ingestion des polyphénols de thé vert augmente l'expression des gènes des récepteurs LDL dans les lignées cellulaires des hépatocytes humaines. En outre, Raederstorf et *al.*, (2003) ont montré que les polyphénols réduisent l'absorption du cholestérol et diminuent le taux des LDL.

Les flavonoïdes peuvent renforcer l'activité de la lécithine acyl transférase (LCAT) qui régule les lipides sanguins. La LCAT joue un rôle clé dans l'attachement et la liaison de cholestérol libre en HDL (ce qui peut augmenter le HDL) qui est repris par la suite dans les cellules hépatiques.

Les flavonoïdes pourraient représenter un autre groupe bénéfique des composés naturels hypolipidémiant (Cook et Samman, 1996). Ils semblent avoir des propriétés biologiques intensives qui favorisent une bonne santé pour l'humain et aident à la réduction des risques de maladies. Les flavonoïdes agissent comme des antioxydants qui protègent l'oxydation du cholestérol LDL, tout en inhibant l'agrégation plaquettaire, et ils agissent aussi comme des agents anti-inflammatoires et anti-tumorales (Cook et Samman, 1996 ; Manach et *al.*, 1996).

En plus de piégeage de l'oxydant directe, les flavonoïdes peuvent inhiber les enzymes impliquées dans la génération des molécules pro-oxydantes. Les flavonoïdes se sont révélés comme des inhibiteurs de la génération ou la libération de radicaux libres dérivés de la lipoxygénase (LOX). Il a été suggéré que LOX est impliqué dans les événements précoces de l'athérosclérose par l'induction de l'oxydation des LDL dans l'espace sous-endothélial de la paroi artérielle (Huang et *al.*, 1997).

Les flavonoïdes sont avérés des inhibiteurs de l'oxydation des LDL *in vitro* et, en outre, l'addition de flavonoïdes, la quercétine et la catéchine, dans l'alimentation ont montré une réduction de l'oxydation des LDL *in vivo* chez les rats et aussi ils ont provoqué une diminution de la surface de la lésion athérosclérotique chez les souris déficientes en apoE (Da Silva et *al.*, 1998 ; Fremont et *al.*, 1998; Borradaile et *al.*, 1999).

Sur la base des résultats obtenus, la présence des glycosides dans les extraits peut prévenir les maladies du cœur, par conséquent, les glycosides peuvent être responsables de l'activité antihypercholestérolémiant.

Par ailleurs, il est connu que les tanins ont un effet diurétique donc leur présence dans les extraits peut contribuer à l'effet antihypercholestérolémique (Katzung, 2004). De nombreuses études ont montré que les saponines réduisent les taux de cholestérol sérique chez une variété d'animaux, y compris des sujets humains (Southon et *al.*, 1988). Les saponines forment des micelles avec les stérols tels que le cholestérol et les acides de la bile et donc, ils peuvent fournir un épuisement du cholestérol du corps en empêchant sa réabsorption et en augmentant son excrétion (Sidhu et Oakenfull, 1986 ; Avcı et *al.*, 2006).

CONCLUSION

CONCLUSION

Les substances phytochimiques sont des composés naturels bioactifs qui agissent comme des agents protecteurs contre le stress chez les plantes. Ces composés phytochimiques peuvent être divisés en plusieurs catégories : Composés phénoliques, alcaloïdes, stéroïdes, des terpènes, des saponines, etc. ils pourraient également présenter d'autres activités biologiques tels que des propriétés antimutagène, anticancéreuse, antioxydante, antimicrobiennes, anti-inflammatoires.

Dans ce travail, on a étudié les extraits aqueux et hydro-alcoolique de quelques plantes afin d'évaluer leurs activités antibactérienne et antioxydante *in vitro*, et l'activité anti-inflammatoire et hypocholestérolémiant *in vivo* sur les souris *Swiss albino*.

L'analyse phytochimique des plantes étudiées montre la présence des polyphénols, flavonoïdes, tanins, stérols et glycosides dans tous les extraits. Le rendement le plus élevé a été enregistré avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *P. lentiscus* (15.88 %).

Le dosage des phénols totaux et des flavonoïdes montre une différence dans les teneurs d'une plante à une autre et aussi selon le type d'extrait. Les teneurs les plus élevées en phénols totaux (97.26 ± 0.003 mg Eq AG/ g) et en flavonoïdes (8.21 ± 0.008 mg Eq Q/ g) ont été trouvées avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *P. lentiscus*. Par contre les teneurs les plus basses ont été trouvées avec l'extrait aqueux de *T. foenum-græcum*.

L'analyse par HPLC des différents extraits a permis la détection de l'acide caféique, quercétine, rutine et lutéoline dans les extraits aqueux et hydro-alcoolique des feuilles de *T. vulgaris*. La quercétine a été détectée dans les extraits aqueux et hydro-alcoolique des feuilles d'*A. triphylla* et l'acide caféique a été trouvé dans l'extrait aqueux des graines de *T. foenum-græcum*. La rutine et la lutéoline ont été retrouvées dans les extraits aqueux et hydro-alcoolique des feuilles d'*O. europaea*.

L'activité antibactérienne des extraits étudiés a montré des diamètres des zones d'inhibition allant jusqu'à 16.00 ± 1.0 mm avec les extraits aqueux et des diamètres qui ne dépassent pas 13.00 ± 00 mm avec les extraits hydro-alcooliques. Cette activité peut être due à la présence des composés phénoliques comme l'acide caféique qui est connu pour son effet antibactérien.

La faible concentration qui peut inhiber 50 % du DPPH a été enregistrée avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *P. lentiscus* dont l'IC₅₀ est de 18.75 ± 0.017 mg/ml.

Conclusion

Les pourcentages de l'activité antioxydante avec la méthode du blanchissement de la β -carotène vont de 50.87 ± 0.09 à 88.13 ± 0.15 %. La Capacité anti-oxydante totale de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. triphylla* est significativement ($P < 0,05$) la plus élevée 270.13 ± 0.00 mg EAA/ g d'extrait.

Le potentiel antioxydant le plus élevé ($P < 0,05$) a été constaté avec les extraits hydro-alcoolique (61.37 ± 0.00 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) et aqueux (42.37 ± 0.00 moles de Fe^{2+} / g d'extrait) des feuilles de *P. lentiscus* ; mais avec la méthode de FTC, le pourcentage d'inhibition de la peroxydation le plus élevé (62.30 ± 0.00 %) a été constaté avec l'extrait aqueux des feuilles de *T. vulgaris* ($P < 0,05$).

D'après les résultats de l'activité antioxydante des différents extraits des plantes, on déduit que les composants actifs comme la quercétine et la rutine étaient capables de piéger les radicaux libres et de réduire les oxydants.

Les extraits testés pour leur activité anti-inflammatoire *in vivo* ont montré un effet dans la réduction de l'inflammation provoquée par l'injection de la carragénine. Ces extraits ont diminué le taux du cholestérol et des triglycérides plasmiqes chez les souris ayant reçu un régime riche en cholestérol, ce qui induit une diminution du risque de l'apparition de l'athérosclérose. Ces activités peuvent être dues à la présence des flavonoïdes y compris la quercétine.

Les plantes étudiées ont montré plusieurs activités biologiques donc elles possèdent des molécules bioactives importantes ; par conséquent, la continuité de ce travail s'avère primordiale et des travaux de recherches complémentaires, précis et approfondis restent nécessaires pour pouvoir confirmer les performances mises en évidence en se focalisant sur les points suivants:

- Séparer les composés bioactifs et étudier leurs mécanismes d'action séparément.
- Réaliser d'autres études *in vitro* et *in vivo* pour confirmer nos résultats.
- Exploiter ces résultats au niveau de l'industrie agro-alimentaire pour l'utilisation des ces composés bioactifs comme des additifs alimentaires naturels (conservateurs, antioxydants).

Conclusion

- Réaliser des études approfondies sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de ces composés actifs qui seraient utiles pour la détermination des doses préventives et thérapeutiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abu-Shanab B, Adwan G, Abu-Safiya D, Jarrar N, Adwan K. (2004).** Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Utilized in Popular Medicine in Palestine. *Turk J Biol*, **28**: 99-102.
- Acharya S.N, Acharya K, Paul S, et Basu S.K. (2011).** Antioxidant and antileukemic properties of selected fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) genotypes grown in western Canada. *Can. J. Plant Sci*, **91**: 99-105.
- Adlouni A. (2007).** Intérêt de l'huile d'Argan dans la prévention des maladies cardiovasculaires, *Les Technologies De Laboratoire*, (6) :12-16.
- Adwan G, Abu-Shanab B, Adwan K, Abu-Shanab F. (2009).** Antibacterial effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*. *Turk. J. Biol.* **30**: 239-242.
- AFNOR. (2000).** "Les huiles essentielles" Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». Paris, 661-663.
- Aggarwal B.B et al., (2006).** Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer, *Biochem Pharmacol*, **14;71**(10): 1397-421.
- Aguilar J.L. et al., (2002).** -inflammatory activity of two different extracts of *Uncaria tomentosa*, *Journal of Ethnopharmacology*, **81**: 271-276
- Alam K, Pathak D, Ansari. S.H. (2011).** Evaluation of Anti-inflammatory Activity of *Ammomum subulatum* Fruit Extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, **3**(1): 35-37.
- Alanis A.D, Calzada F, Cervantes J.A, Torres J, Ceballos G.M. (2005).** Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, **100**: 153–157.
- Al-dalain S, El-kutry M. S et Ibrahim H.S. (2008).** Inhibitory Effect of Aqueous Extracts of Barley and Fenugreek on Ulcer Induction in Rats. *World Applied Sciences Journal*, **5** (3): 332-339.

Références bibliographiques

- Al-Habbal M.J, Al-Habbal Z et Huwez H.U. (1984).** A double-blind controlled ethnical trial of mastic and placebo in the treatment of duodenal ulcer. *J Clin Exp Pharmacol Physiol*, **11**: 541-544.
- Allem R, et ElkebirFZ. (2010).** Infection à *Helicobacter pylori* et cancer gastrique. *Médecine & Nutrition*, **46**(3-4): 80-84.
- Allem R, et ElkebirFZ. (2012).** *Helicobacter pylori* dans la pathogénie de la maladie ulcéreuse et des gastrites. *Médecine & Nutrition*, **48**(1): 48-53.
- Al-Naqeeb G, Ismail M.S, Al-Zuba A. (2009).** Fatty acid profile, α -Tocopherol content and total antioxidant activity of oil extracted from *Nigella sativa* seeds. *Int. J. Pharmacol*, **5**(4): 244-250.
- Al-Said M.S, Aqeel A.M, Pamar N.S et Tariq M. (1986).** Evaluation of mastic, a crude drug obtained from *Pistacia lentiscus* for gastric and duodenal anti-ulcer activity. *J Ethnopharmacol*, **15**: 271-278.
- Amin A, (2005).** Chemopreventive activities of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek) against breast cancer, *Cell Biol Int*, **29**(8): 687-94.
- Amiot J. (2005).** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires. *Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie Montpellier*.
- Amrani N, Allouch A. (1995).** Les gastrites chroniques de l'adulte. Aspects endoscopiques et histologiques. Relation avec l'*Helicobacter pylori*. *L'objectif médical*, **5**:143.
- Anderson C.M, Halleberg A, et Hogberg T. (1996).** Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.* **28**: 65-180.
- Aravodis E. (2005).** Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, **4**(2):128-133.
- Archibald L, Phillips L, Monnet D, Mac Govan J.E, Tenover Jr.F et R. Gaynes b. (1997).** Antimicrobial resistance in isolates from in patients and outpatients in the United States. Increasing importance of the intensive care unit. *Clinic. Infect. Dis*, **24**: 211-215

Références bibliographiques

Armatu A, Colceru-Mihul S, Bubueanu C, Draghici E, Pirvu L. (2010). Evaluation of antioxidant and free scavenging potential of some Lamiaceae species growing in Romania. *Romanian Biotechnological Letters*, **15**(3): 5274-5280.

Arts I.C.W, Hollman P.C.H. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr*, **81**: 317-25.

Avcı G, Kupeli E, Eryavuz A, Yesilada E, Kucukkurt I. (2006). Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. **107**: 418–423.

Ayas N.T et al., (2003). A prospective study of sleep duration and coronary heart disease in women. *Archives International Medical*, **163**(2): 205-209.

Bahorun T, Grinier B, Trotin F, Brunet G, Pin T, Luncky M, vasseur J, Cazin M, Cazin C et Pinkas M.(1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, **46**(11): 1086-1089.

Baily L.H. (1935). The Standard Cyclopedia of Horticulture, New York. The Macmillan Company, **3**: 2638-2649.

Balaabirami S et Patharajan S. (2012). *In vitro* antimicrobial and antifungal activity of *catharthus roseus* leaves extract against important pathogenic organisms. *Int J Pharm Pharm Sci*, **4**(3): 487-490.

Balan K.V, Prince J, Han Z, Dimas K, Cladaras M, Wyche J.H, Sitaras N.M et Pantazis P. (2007). Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated *invitro* with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. chia. *Phytomedicine*, **14**: 263-272.

Balkwill F, Charles K.A et Mantovani A. (2005). Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell*, **7**(3): 211–217.

Balladin D.A, Headley O. (1999). Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herlos. *Renewable Energy*. **17**: 523-531.

Barreiros A.L.B.S, David J.M, David J.P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova*, **29**: 113-123.

Références bibliographiques

- Baskin S.I et Salem H. (1994).** Oxidant, Antioxidant and Free Radicals. *Academic press Inc*, **363**: 25-62.
- Basli A, Chibane M, Madani K, Oukil N. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, **10**: 2-9.
- Batlouni.M. (2010).** Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cardiovascular, cerebrovascular and renal effects. *ArquivosBrasileiros de Cardiologia*, **94**(4): 522–563.
- Bayoub K, Baibai T, Mountassif D, Retmane A, Soukri A. (2010).** Antibacterial activities of the crude ethanol extracts of medicinal plants against *Listeria monocytogenes* and some other pathogenic strains. *African Journal of Biotechnology*, **9**(27): 4251-4258.
- Bazylo A. et Strzelecka H. (2007).** A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitoterapia.*, **78**: 391-395.
- Beaudeau J.L et Dominique B.R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. internationales p : 550.
- Bekro J.A.M, Konan K.M, Békro Y-A., Djié Bi M.G, Zomi Bi T.J, Mambo V, Boua B.B. (2008).** Phytocompounds of the extracts of four medicinal plants of Cote D'ivoire and assessment of their potential antioxidant by thin layer chromatography. *Euro Journal Publishing*, **24**(2):219-228.
- Bellakhdar J. et al., (1994).** Composition of Lemon verbena (*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton) oil of moroccan origin. *J. Essent. Oil Res*, **6**(5): 523-526.
- Bendahou M, Muselli A, Grignon-Dubois M, Benyoucef M, Desjobert J.M, Bernardini A.F, Costa J. (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oils and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chem.***106**: 132–139.
- Ben Jannet H, Harzallah-skhiri F, Mighri Z, Simmonds M.S et Blaney W.M. (2000).** Responses of *Spodoptera littoralis* larvae to Tunisian plant extracts and to neo-clerodane diterpenoids isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves. *Fitoterapia*, **71**, 105-112.
- Benavente-Garcia O, Castillo J, Lorente J, Ortuno A, Del Rio J.A. (2000).** Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves, *Food Chemistry*, **68**: 457-462.

Références bibliographiques

- Bennani-Kabchi N, Fdhil H, Cherrah Y, El Bouayadi F, Kehel L, Marquie G. (2000).** Effet thérapeutique des feuilles d'*Olea europea* var. *oleaster* sur le métabolisme glucido-lipidique chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) obèse prédiabétique. *Ann Pharm Fr*, **58**: 271-277.
- Ben-Shaul V, Lomnitski L, Nyska A, Carbonatto M, Peano S, Zurovsky Y, Bergman M, Eldridge S.R, Grossman S. (2000).** Effect of natural antioxidants and apocynin on LPS-induced endotoxemia in rabbit *Hum.exp. Toxicol*, **19**(11): 604 – 614.
- Benzie I.F.F, Strain J.J. (1996).** The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power “The FRAP Assay”, *Anal. Biochem.* **239**: 70 –76.
- Berland Y, Dussol B. (2000).** Néphrologie pour l’interne (3). Faculté de Marseille édition Scientifiques et médicales Elsevier SAS. Paris.
- Bertrand C.A. and Frizzell R.A. (2003).**The role of regulated CFTR trafficking in epithelial secretion. *Am. J. Physiol Cell Physiol*, **285**: C1-18.
- Bharat B. et al., (2004).** Role of Resveratrol in Prevention and Therapy of Cancer: Preclinical and Clinical Studies, *Anticancer research*, **24**: p 5.
- Bhattacharjee I, Chatterjee S.K, Ghosh A, Chandra G. (2011).** Antibacterial activities of some plant extracts used in Indian traditional folk medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, (2011): S165-S169.
- Billerbeck V. G, Roques C, Vanière P, Marquier P. (2002).** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d’huiles essentielles. *Hygiènes*. **3**(10): 248-251.
- Birjees Bukhari S, Iqbal Bhangar M et Memon S. (2008).** Antioxidative Activity of Extracts from Fenugreek Seeds (*Trigonella foenum-graecum*).*Pak. J. Anal. Environ. Chem.* **9**(2): 78 – 83.
- Blažeković B, Vladimir-Knežević S, Brantner A et Bival Štefan M. (2010).** Evaluation of Antioxidant Potential of *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. 'Budrovka': A Comparative Study with *L. angustifolia* Mill. *Molecules*, **15**: 5971-5987.
- Borradaile N.M, Carroll K.K et Kurowska E.M. (1999).** Regulation of Hep G2 cell apolipoprotein B metabolism by the citrus flavanones hesperetin and naringenin.*Lipids*, **34**: 591–598.

Références bibliographiques

- Bossokpi I.P.L. (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloïdes* LAM (*Rutaceae*). *Thèse de doctorat en pharmacie*, Bamako, 133 p.
- Bouderbala S, Lamri-Senhadjia M, Prostb J, Lacaille-Duboisc M.A. et Bouchenak M. (2008).** Changes in antioxidant defense status in hypercholesterolemic rats treated with *Ajuga iva*. *Phytomedicine*, **15**: 453-461.
- Bouhdid S, Idaomar M, Zhiri A, Bouhdid D, Skali N.S, Abrini J. (2006).** Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès Intrntional de biochimies, Agadir*. 324-327.
- Boukeloua A. (2009).** Caracterisation botanique et chimique et evaluation pharmacotoxicologique d'une preparation topique a base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. (ANACARDIACEAE). *Thèse de Magister*. P: 4.
- Bourgeois C.M, Mescle J.F et Zucca J. (1996).** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed. Tec et Doc. Lavoisier, Vol (1), P 174.
- Braithwaite A, Smith F.J. (1999).** Chromatographic Methods. *5ème Ed Kluwer Academic Publishers*. London. 548 p.
- Bramley P, Elmadfa I, Kafatos A, Kelly F, Manios Y, Roxborough H, Schuch W, Sheehy P et Wagner K. (2000).** "Vitamin E." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**(7): 913-938.
- Brantner A.Z, MalesS, Pepeljnjak et Antolic A. (1996).** Antimicrobialactivity of *Paliurus spina-christi* mill. *J. Ethnopharmacol.*, **52**:119–122.
- Briens C, Grenet L. (2001).** Effet d'huiles essentielles sur des épisodes spontanés d'entérocolite. *9èmes Journ.Rech.Cunicole Fr.*, ITAVI Ed, Paris: 87-96.
- Broer J et al., (2002).** Immunosuppressant effect of IDS 30, a stinging nettle leaf extract, on myeloid dendritic cells *in vitro*. *J. Rheumatol.*, **29**: 659-66.
- Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie Phytochimie Plantes medicinales, *Tec&Doc*, Lavoisier, Paris, p : 915-916.

Références bibliographiques

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. *3ème Ed Tec&Doc. Paris.*

Budavari S, O'Neil M.J, Smith A, (1996). The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 12th edition, Whitehouse Station: Merck and Co, INC, 2350 p.

Bursill C, Roach P.D, Bottema C.D et Pal S. (2001). Green tea upregulates the low density lipoprotein receptor through the sterol-regulated element binding protein in HepG2 liver cells. *J. Agric.Food Chem.*, **49**: 5639-5645.

Büyükbalci A, et Nehir El S. (2008). Determination of *In Vitro* Antidiabetic Effects, Antioxidant Activities and Phenol Contents of Some Herbal Teas.*Plant Foods Hum Nutr*,**63**: 27–33.

Carnat A, Carnat A.P, Fraisse D, Lamaison J.L. (1999). The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. *Fitoterapia*,**70**: 44-49.

Cavin A. (1999). Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires, *Tinospora crispa* (Menispermaceae) ; *Merremiaemarginata* (convolvulaceae) et *Orphea enneandra* (Annonaceae). *Thèse de doctorat*. Lausanne, 243p.

Celio R, Martine B. (2005). Plantes aromatiques, épices, huiles essentielles. Ed : Lavoisier. Paris: 475.

Cerutti P.A. (1994). Oxy-radicals and cancer. *Lancet* **344**: 862.

Chang Q, Zuo Z, Harrisson F, Chow M.S. (2002). Hawthorn. *J. Clin. Pharmacol*, **42**: 605-612.

Chanwitheesuk A, Teerawutgulrag A, Rakariyatham N. (2005). Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chemistry*, **92**: 491–497.

Chebbi Mahjoub R, Khemiss M, Dhidah M, Dellaí A, Bouraoui A, et Khemiss F. (2011). Chloroformic and methanolic extracts of *Olea europaea* L. leaves present anti inflammatory and analgesic activities. *International Scholarly Research Network ISRN Pharmacology*, **2011**: 1-5.

Références bibliographiques

- Chenni A, Ait Yahia D, Boukortt F.O, Prost J, Lacaille-Dubois M.A. et Bouchenak M. (2007).** Effect of aqueous extract of *Ajuga reptans* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet. *J. Ethnopharmacol.* **109**: 207- 213.
- Cherbal A, Kebeiche M, Madani K, El-Adawi H. (2012).** Extraction and valorization of phenolic compounds of leaves of Algerian *Pistacia lentiscus*. *Asian journal of plant sciences*, **11**: 131-136.
- Cherif S., Rahal N, A (1996).** Clinical trial of a titrated *Olea* extract in the treatment of essential arterial hypertension. *J Pharm Belg*, **51**(2): 69-71.
- Cheurfa M, Allem R, Sebahia M, Belhiche S. (2013).** Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytothérapie*, **11**: 154-160.
- Choi Y.M, Noh D.O, Cho S.Y, Suh H.J, Kim K.M, Kim J.M. (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*, **39**: 756-761.
- Choi S.S. et al., (2003).** Antinociceptive profiles of crude extract from roots of *Angelica gigas* Nakai in various pain models, *Bio. Pharm. Bull.*, **26**(9): 1283-60.
- Chun S.S, Vatter D.A, Lin Y.T, Shetty K. (2005).** Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochem.*, **40**: 809-816.
- Conforti F, Rosa S, Marrelli M, Menichini F, Statti G, Uzunov D et al. (2009).** The protective ability of Mediterranean dietary plants against the oxidative damage: The role of radical oxygen species in inflammation and the polyphenol, flavonoid and sterol contents. *Food Chem*, **112**: 587-594.
- Cook N.C, and Samman S. (1996).** Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J. Nutr. Biochem*, **7**: 66–76.
- Cos P, Ying L, Calomme M, Hu J.P, Cimanga K, et al., (1998).** Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J. Nat. Prod*, **61**: 71-76.
- Coste H. (1937).** Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Second Tirage, Paris - Librairie des Sciences et des Arts.

Références bibliographiques

Cotelle N. (2000). Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr Top Med Chem*, **1**: 569-590.

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

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

Da Silva E.L, Tsushida T et Terao J. (1998). Inhibition of mammalian 15-lipoxygenase-dependent lipid peroxidation in low-density lipoprotein by quercetin and quercetin monoglucosides. *Arch. Biochem. Biophys*, **34**: 313–320.

Dadé M.M, Fioravanti D.E, Schinella G.R, Tournier H.A. (2009). Total antioxidant capacity and polyphenol content of 21 aqueous extracts obtained from native plants of Traslasierra valley (Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, **8**(6) : 529 – 539.

Daels-rakotoarison D. (1999). Extraits polyphénoliques d'aubépine, de cola et d'églatier. *Thèse de doctorat*. Université de Lille II. France. **172** (64).

Dash B.K, Sultana S, Sultana N. (2011). Antibacterial Activities of Methanol and Acetone Extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum*) and Coriander (*Coriandrum sativum*). *Life Sciences and Medicine Research*, **27**: 1-8.

Devasena T et al., (2007). Fenugreek seeds modulate 1,2-dimethylhydrazine-induced hepatic oxidative stress during colon carcinogenesis, *Ital J Biochem*, **56**(1): 28-34.

Devi P, Meera R. (2010). Study of antioxidant, anti-inflammatory and woundhealing activity of extracts of *Litsea glutinosa*. *J. Pharm. Sci. & Res*, **2**(2):155-163.

Dewick P.M. (2002). *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*. 2nd ed. John Wiley & Sons Ltd. England. pp: 1-515.

Dilmi Bouras A. (2006). Assimilation *in vitro* of cholesterol by yogurt bacteria. *Annals of agricultural and environmental medicine*, **13**: 49-53

Dilsiz N, (2006). Protective effects of various antioxidants during ischemia-reperfusion in the rat retina. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, **244**(5): 627-33.

Références bibliographiques

Diplock A.T. (1985). Fat soluble vitamins. William Heineman, London, UK. Ltd, pp: 154-224.

Dixit P.P et al., (2008). Formulated antidiabetic preparation has a strong antioxidant activity. *Eur J Pharmacol*, 26; **581**(1-2): 216-25

Djenane D, Yangüela J, Montañés L, Djerbal M, Roncalés P. (2011). Antimicrobial activity of Pistacia lentiscus and Satureja montana essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control*, **22**: 1046-1053.

Dohou N, Yamni K, Gmiran, Idrissi Hassani L.M. (2003). Etude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro Marocaine, *Thymelaea lychroides*. *Acta Botanica Malacitana*, **29**: 233- 239.

Donnelly L.E, Newton R, Kennedy G.E, Fenwick P.S, Leung R.H, Ito K, Russell R.E et Barnes P.J. (2004). Anti-inflammatory effects of resveratrol in lung epithelial cells: molecular mechanisms. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **287**(4): 774-783.

Dorsey C.W, Laarakker M.C, Humphries A.D, Weening E.H et Baumler A.J. (2005). *Salmonella enterica* serotype Typhimurium *MisL* is an intestinal colonization factor that binds fibronectin. *Mol Microbiol*, **57**: 196-211.

Dubreuil L, Sédallian A. (2000). Bactéries anaérobies à Gram négatif. In: Freney J, Renaud F, Hansen W, Bollet C, editors. *Précis de bactériologie clinique*. Paris: Eska; p. 1591-612.

Durackova Z, Djrolo F, Hougbe H, Avode G, Attoulou V, Addra B, Kodjoh N, Avimadj M. (2008). Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine. Gvozdkakova A (ed). P: 19-43.

Ebrahimzadeh M.A, Pourmmorad F, Hafezi S. (2008). Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish journal of biology*, **32**: 43-49.

Ebrahimzadeh M.A, Pourmorad F, Bekhradnia A.R. (2008). Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African Journal of Biotechnology*, **7** (18): 3188-3192.

El-Hela. A et Abdullah A. (2010). Antioxidant and Antimicrobial Activities of Methanol Extracts of some *Verbena* Species: *In Vitro* Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial

Références bibliographiques

Activity in Relation to Polyphenolic Content. *Journal of Applied Sciences Research*, **6**(6): 683-689.

Elqaj M, Ahami A. et Belghyti D. (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.

Essawi T. et Srour M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharm.* **70** : 343-349.

Ettayebi K, El Yamani J, Rossi-Hassani B.D. (2000). Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Letters*, **183**: 191-195.

Ezeonwumelu J.O.C, Omar A.N, Ajayi A.M, Okoruwa A.G, Tanayen J.K, Kiplagat D.M, Okpanachi O.A, Abba S, Ezekiel I, Onchweri A.N, Okonkwo C.O, Byarugaba F. (2012). Phytochemical screening, acute toxicity, anti-inflammatory and antipyretic studies of aqueous extract of the root of *Flueggea virosa* (Roxb. ex Willd.) in rats. *Int J Pharm Biomed Sci*, **3**(3): 128-135.

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdely C (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, **331**: 372-379.

Fares E.G. (1997). Extrait de « Données épidémiologiques sur l'hypertension artérielle en Algérie, partie I » - INSP – REM N°5.

Farombi E.O. (2003). African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents. *Journal of biotechnology*, **2**(12): 662-671.

Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.

Ferreira A, Proença C, Serralheiro M.L.M, Araújo M.E.M. (2006). The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J. Ethnopharmacology*. **108**: 31-37.

Références bibliographiques

Fong H.S, Bauman J.L. (2002). Hawthorn. *Journal of Cardiovascular Nursing*, **16**(4):1-8.

Frankel E.N. (1998). Hydroperoxide formation. In Lipid oxidation The Oily Press. *Dundee*, **10**: 23-41.

Fremont L, Gozzelino M.T, Franchi M.P et Linard A. (1998). Dietary flavonoids reduce lipid peroxidation in rats fed polyunsaturated or monounsaturated fat diets. *J. Nutr*, **128**: 1495–1502.

Fuhrman B, Lavy A, Aviram M. (1995). Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr*, **61**: 549-554.

Funes L et al., (2009). Correlation between plasma antioxidant capacity and verbascoside levels in rats after oral administration of lemon verbena extract. *Food Chem*, **117**(4): 589–598.

Gachkar L, Yadegari D, Rezaei M.B, Taghizadeh M, Astaneh S.A, Rasooli I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem*. **102**: 898-904.

Gaillard J.L et Simonet M. (1991). Bacteriologie. Les bacteries des infections humaines. Ed : Flammarion (Medecine et Sciences) .Paris.

Gamet-Payrastre L, Manenti S, Gratacap M.P, Tulliez J, Chap H, Payrastre B. (1999). Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *General Pharmacology*, **32**: 279-286.

Garcia P.F, Marin E, Catiigueral S, Adzet T. (1996). Anti-inflammatory action of *Pluchea sagittalis*: Involvement of an antioxidant mechanism. *Life Sci*, **59**: 2033-2040.

Gaziano J.M et Gibson C.M. (2006). Potential for drug-drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection. *Am J Cardiol*, **97**: 23-9.

Geraets L, Moonen H.J, Brauers K, Wouters E.F, Bast A et Hageman G.J. (2007). Dietary flavones and flavonoles are inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase-1 in pulmonary epithelial cells. *J Nutr*, **137**(10): 2190-2195.

Ghedira K, (2008). L'olivier, *Phytothérapie*, **6**: 83–89.

Références bibliographiques

- Ghedira, K. Goetz, P. and Le JeuneR, (2010).** Fenugrec: *Trigonella fænum-græcum* L. (*Fabaceae* ex. *Leguminosae*), *Phytothérapie*, **8** (3):180-184.
- Giovanelli G, Buratti S. (2009).** Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. *Food Chemistry*, **112**: 903-908.
- Gledel J. (1998).** Les salmonelles. In : Microbiologie alimentaire.Vol.1.Ed : Masson. Paris : 51-53.
- Goetz P. (2004).** Plaidoyer pour la tisane médicinale. *Phytothérapie*, **1**: 8-15.
- Goji A.D.T, Mohammed A, Tanko Y, Ezekie I, Okpanchi A.O et Dikko A.U.U. (2010).** A Study of the anti-inflammatory and analgesic activities of aqueous extract of *Nauclea latifolia* leaves in rodents. *Asian Journal of Medical Sciences*, **2**(6): 244-247.
- Golmakani M. T et Rezaei K. (2008).** Comparaison de microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chem*, **109**: 925-930.
- Gomes P.C.S. Oliveira H.R.C. Vicente A.M.S, Ferreira M.F. (2006).** Production, transformation and essential oils composition of leaves and stems of lemon verbena [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] grown in Portugal. *Rev. Bras. Pl. Med*, **8**: 130-135.
- Gonzalez M, Zarzuelo A, Gamez J.M, Utrilla M.P, Jimenez J, Osuna I. (1992).** Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta Med*, **58**: 513–515.
- Grzanna R et al., (2005).** Ginger, an herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. *J. Med. Food.*, **8** (2): 125-32.
- Guérin-Faubleé. V et carret .G. (1999).** L'antibiogramme : principe, méthodologie intérêt et limites. Journées national G-INRA. 5-12.
- Guillén M.D, Manzanos M.J. (1998).** Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L. plant. *Food chemistry*, **63**(3): 373-383.
- Guiraud J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris: 54-571.

Références bibliographiques

Gülçin İ, Elias R, Gepdiremen A, Boyer L, Köksal E. (2007). A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) extracts. *African Journal of Biotechnology*, **6**(4): 410-418.

Gülçin İ, Şat İ.G, Beydemir Ş, Elmastaş M, Küfrevioğlu Ö.İ. (2004). Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chem*, **87**:393- 400.

Gupta R.K, Nand P, Drabu S. (2012). *In vitro* antibacterial and antioxidant potential of medicinal plants used in the treatment of acne. *Int J Pharm Pharm Sci*, **4** (1): 185-190.

Gürbüz I, Üstün O, Yesilada E, Sezik E, Akyürek N. (2002). *In vivo* gastroprotective effects of five Turkish folk remedies against ethanol-induced lesions. *J. Ethnopharmacolog.* **83**: 241-244.

Gutman R, Let Ryn B.H. (1996). Rediscovering tea herbal. *Gram*, **37**: 33-42.

György E. (2010). Study of the antimicrobial activity and synergistic effect of some plant extracts and essential oils. *Revista Română de Medicină de Laborator*, **18**(1/4): 49-56.

Halliwel B et Gutteridge J.M.C, (1999). Free radicals in biology and medicine, Oxford University Press, *Oxford, UK*.

Hammond J.M.J, Potgieter P.D, Hanslo D, Scott H, Roditi D. (1995). The etiology and antimicrobial susceptibility patterns of microorganisms in acute community-acquired lung abscess. *Chest*, **108**: 937-41.

Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S. (1994). The correlation between active oxygen scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic. Biol. Med*, **16**: 845-850.

Hansen K, Adersen A, Christensen S.B, Jensen S.R, Nyman U, Smitt U.W. (1996). Isolation of an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor from *Olea europaea* and *Olea lancea*. *Phytomedicine*, **2**: 319-25.

Haristoy X, Angioi-Duprez K, Duprez A, Lozniewski A. (2003). Efficacy of sulforaphane in eradicating *Helicobacter pylori* in human gastric xenografts implanted in nude mice. *Antimicrob Agents Chemother*, **47**(12): 3982-4.

Références bibliographiques

- He M.L, Li A, Xu C.S, Wang S.L, Zhang M.L, Gu H, Yang Y.Q et Tao H.H. (2007).** Mechanism of antiprostata cancer by gum mastic: NFkappaB signal as target. *Acta Pharmacol Sin*, **28**: 446-462.
- Herber D. (2001).** Herbs and atherosclerosis. *Curr. Atheroscler. Rep.* **3**: 93–96.
- Hinneburg I, Damien Dorman H.J, Hiltunen R. (2006).** Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*, **97**: 122–129.
- Holden M.S, Crouch R.D, (1998).**The Pechmann Reaction, *J. Chem. Educ*, **75**, p 631.
- Hossam S, Hanaa F.M.A, Nasr N.F. (2011).** Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of *Aloysia triphylla*. *EJEAFChe*, **10**(8): 2689-2699.
- Hostettmann K. (1997).** Tout savoir sur le pouvoir des plantes, source de médicaments. Ed. Fabre S A, Lausanne, Suisse, 235 p.
- Hoult J.R, Moroney M.A, Paya M. (1994).** Actions of flavonoids and coumarins on lipooxygenase and cyclooxygenase. *Methods Enzymol*, **234**: 443–54.
- Hu S.G, Li L, He X.W. (2005).** Solid-phase extraction of esculetin from the ash bark of chinese traditional medicine by using molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography A*, **1062**: 31-37.
- Huang Z, Fasco M.J et Kaminsky L.S. (1997).** Inhibition of estrone sulfatase in human liver microsomes by quercetin and other flavonoids. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, **63**: 9–15.
- Huang, M.T et Ferraro T. (1991).** Phenolic compound in food and cancer prevention. Phenolic compounds in food and their effects on health. **3**. 83P.
- Hudaib M, Speroni E, Pietra A.M.D, Carvin V. (2002).**GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during vegetative cycle. *J. Pharmaceutical and Biomedicul Analysis*,**29**: 691-700.
- Huwez F.U, Thirlwell D, Cockayne A et Ala'Aldeen D.A. (1998).** Mastic gum kills *Helicobacter pylori*. *N Engl J Med*, **339**: 1946.
- Ichikawa D, Matsui A, Imai M, Sonoda Y et KasaharaT. (2004).** Effect of various catechins on the IL-12 production by murine peritoneal macrophages and a macrophage cell line. *Biol Pharm Bull*, **27**(9): 1353-1358.

Références bibliographiques

Iserin P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226.

Islam M.M, Zaman M.M.U, Aktar R et Ahmed N.U. (2011). Hypocholesterolemic Effect of Ethanol Extract of *Ananas comosus* (L.) Merr. Leaves in High Cholesterol Fed Albino Rats. *International Journal of Life Sciences*, **5**(1): 1-6.

Jainu M et al., (2005). Attenuation of neutrophil infiltration and pro-inflammatory cytokines by *Cissus quadrangularis*: a possible prevention against gastric ulcerogenesis. *J. Herb. Pharmacother*, **5**(3): 33-42.

Jang M, Liing C, Udeani G.O, Slowing K.V et Pezzuto J.M. (1997). Cancer chemiopreventive activity of resveratrol. *A natural product derivated from grapes science*, **275**: 218-220.

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

Jordán M.J, Martínez R.M, Goodner K.L, Baldwin E.A, Stomayor J.A. (2006). Seasonal Variation of *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops and products*, **24**: 253-263.

Joseph J.A, Shukitt-Hale B et Lau, F.C. (2007). Fruit polyphenols and their effects on neuronal signaling and behavior in senescence. *In Annals of the New York Academy of Sciences*, **1100**: 470–485.

Justino C.G, Santosa M.R, Canarioa S, Borgesa C, Florencio M.H, Miraa L. (2004). Plasma quercetin metabolites: structure-antioxidant activity relationships. *Arch Biochem Biophys*, **432**: 109-121.

Kablan B.J, Adiko M, Abrogoua D.P. (2008). Evaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire. *Phytothérapie*, **6**: 282–288.

Kähkönen M.P, Hopia A.I, Vuorela H.J, Rauha J-P, Pihlaja K, Kujala T.S, and Arina Heinonen M. (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem*, **47**: 3954-3962.

Références bibliographiques

Kamazawa S et al., (2002). Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *Journal of agricultural and food chemistry*, **50**: 373-377.

Kanthe P.S, Patil B.S, Bagali S, Deshpande A, Shaikh G.B, Aithala M. (2012). Atherogenic Index as a Predictor of Cardiovascular Risk among Women with Different Grades of Obesity. *International Journal of Collaborative Research on Internal Medicine & Public Health*, **4**(10): 1767-1774.

Kanyonga P.M, Faouzi M.A, Meddah B, Mpona M, Essassi E.M et Cherrah Y. (2011). Assessment of methanolic extract of *Marrubium vulgare* for antiinflammatory, analgesic and anti-microbiologic activities. *J. Chem. Pharm. Res.*, **3**(1):199-204.

Karthikeyan A, Shanthi V, Nagasathaya A. (2009). Preliminary phytochemical and antibacterial screening of crude extract of the leaf of *Adhatoda vasica*. L. *International J. Green Pharmacy*, **3**: 78-79.

Karumi Y, Onyeyili P.A, Oyugbuaja V.O. (2004). Identification of active principals of *M. Balsamia* (Balsam Apple) leaf extract. *J.Med.Sci.* **4**(3): 179 -182.

Katzung B.G. (2004). Basic and clinical pharmacology.9th ed., the McGraw- Hill Companies, Inc.

Kavishankar G.B, Lakshmidevi N et Mahadeva Murthy S. (2011). Phytochemical analysis and antimicrobial properties of selected medicinal plants against bacteria associated with diabetic patients.*International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **2**(4): 509-518.

Khabbal Y, Ait El Cadi M, Alaoui K, Faouzi Mg.A, Cherrah Y. (2006). Activité anti-inflammatoire de *Zygophyllum goetulum*. *Phytothérapie*, **5**: 227-229.

Khera N et Bhatia A. (2012). Antihyperlipedemic Activity of *Woodfordia fruticosa* Extract in High Cholesterol Diet Fed Mice. *Int.J.Pharm.Phytopharmacol.Res*, **2**(3): 211-215.

Kim H.P, Son K.H, Chang H.W et Kang S.S. (2004). Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms.*J Pharmacol Sci*, **96**: 229 – 245.

Kim J.A, Kim D.K, Kang O.H, Choi Y.A, Park H.J et al., (2005). Inhibitory effect of luteolin on TNF-alpha-induced IL-8 production in human colon epithelial cells.*Int Immunopharmacol*, **5**:209–17.

Références bibliographiques

Kim J.H et al., (2006). Decursin inhibits induction of inflammatory mediators by blocking nuclear factor kappa-b activation in macrophages, *Mol. Pharmacol.*, **69**(6): 1783-90.

Kim N, Lee D.S. (2004). Headspace solid-phase microextraction for characterization of fragrances of lemon verbena (*Aloysia triphylla*) by gas chromatography-mass spectrometry. *J Sep Sci*, **27**(1-2): 96-100.

Kimura H, Sawada T, Oshima S, Kozawa K, Ishioka T, Kato M. (2005). Toxicity and Roles of Reactive Oxygen Species. *Current Drug Targets - Inflammation and Allergy*, **4**: 489-495.

Kirck othman. (1983). Encyclopedia of chemical technology. Volume 16. Ed M.G.Hill.

Klingelhofer S et al., (1999). Antirheumatic effect of IDS23, a stinging nettle leaf extract on *in vitro* expression of T helper cytokines. *J. Rheumatol*, **26**: 2517-22.

Kohlmeier L, Hastings S.B. (1995). Epidemiologic evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention. *Am J Clin Nutr*, **62**: 1370-6.

Koné M.W, Kamanzi Atindehou K, Traoré D. (2002). Plantes et médecine traditionnelle dans la région de Ferkessedougou (Côte d'Ivoire). *Annales de Botanique de l'Afrique de l'Ouest* 2 : pp 13-23.

Kong A.N, Yu R, Chen C, Mandlekar S et Primiano T. (2000). Signal transduction events elicited by natural products: role of MAPK and caspase pathways in homeostatic response and induction of apoptosis. *Arch Pharm Res*, **23**(1): 1-16.

Korukluoglu M, Sahan Y, Yigit A, Tumay Ozer E, Gücer S, (2010). Antibacterial activity and chemical constitutions of *olea europaea* L. leaf extracts. *Journal of food processing and preservation*, **34**(3): 383-396 [Abstract].

Kovacevic N. (2004). *Osnovi farmakognozije*, Srpska školska knjiga, ISBN 86-83565-19-X,

Krane S.M, Conca W, Stephenson M.I, Amento E.P et Goldring M.B. (1990). Mechanisms of matrix degradation in rheumatoid arthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **580**: 340-354.

Kratchanova M, Denev P, Ciz M, Lojek A et Mihailov A. (2010). Evaluation of antioxidant activity of medicinal plants containing polyphenol compounds. Comparison of two extraction systems. *ACTA biochimica polonica*, **57**(2): 229-234.

Références bibliographiques

Krinsky N.I. (1989). Antioxidant functions of carotenoids. *Free Rad. Biol. Med.* **7**: 617-635.

Kubola J, Siriamornpun S. (2008). Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts *in vitro*. *Food Chemistry*, **110**: 881–890.

Kulšić T, Dragovic-Uzelac V, Miloš M. (2006). Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol. Biotechnol.***44** (4): 485-492.

Kumaran A, Karunakaran R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, **97**: 109–114.

Larson R.A. (1995). Antioxidant Mechanisms of secondary Natural Products, in *Oxidative Stress and Antioxidant defense in Biology*. Ed. Ahmad, London.

Lemonica I. P, Damasceno D. C et Di-Stasi L.C.(1996). Study of the embryotoxic effects of an extract of Rosmary (*Rosmarinus officinalis*). *Brazilian journal of medical and biological research*, **29**(2): 223-227.

Lenoir L. et al., (2011). Lemon Verbena Infusion Consumption Attenuates Oxidative Stress in Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis in the Rat. *Dig Dis Sci*, **56**: 3534–3545.

Li H.B, Cheng K.W, Wong C.C, Fan K.W, chen F, Tian Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*, **102**: 771-776.

Libby P. (2001). Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation*, *Nature*, **104**: 365-72.

Libby P. (2002). Inflammation in atherosclerosis. *Nature*,**420**: 868-874.

Lior H. (1994). Classification of *Escherichia coli*. In : Gyles C.L. (Ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International : Wallingford, 31-72.

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

Références bibliographiques

- Ljubuneire P, portonaya I, Cognan U, Azaich H et Bomzon A. (2005).** Antioxydant activity of *Crataegus aronia* aqueous extract used in traditional Arab medicine in Israel. *Journal of Ethnopharmacology*, **101**: 153-161.
- Lobel B, (1998).** Stratégies dans l'infection urinaire de la femme. *Annales d'Urologie*, **6 -7** (32): 353-358.
- Lock O, Cabello I, Doroteo V.H. (2006).** Analysis of flavonoids in plants. *Current Medicinal Chemistry*, **20**: 6-11.
- Longo L, Scardino A et Vasapollo G. (2007).** Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrine* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologie*, **8**(3): 360–364.
- Loo A.Y, Jain K, Darah I. (2008).** Antioxidant activity of compounds isolated from the pyroligneous acid, *Rhizophora apiculata*. *Food Chemistry*, **107**: 1151–1160.
- Loutrari H, Magkouta S, Pyriochou A, Koika V, Kolisis F.N, Papapetropoulos A et Roussos C. (2006).** Mastic oil from *Pistacialentiscus* var. chia inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. *Nutr Cancer*, **55**: 86- 93.
- Luqman S, Rizvi S I. (2006).** Protection of lipid peroxidation and carbonyl formation in proteins by capsaicin in human erythrocytes subjected to oxidative stress. *Phytother Res*, **20**: 303-6.
- Lusis A.J, Mar R et Pajukanta P. (2004).** Genetics of atherosclerosis. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, **5**: 189-218.
- Madhavavi D.L, Deshpande S et Salunkle D. K. (1996).** Food antioxidants technological, toxicological and health perspectives. Ed. Marcel Dekker, New York, 101 p
- Mallika J et al., (2005).** *In vitro* and *in vivo* evaluation of free radical scavenging potential of *Cissus quadrangularis*. *African Journal of Biomedical Research*, **8**(2): 95-99.
- Manach C, Regeat F, et Texier O. (1996).** Bioavailability, metabolism and physiological impact of 4-oxo-flavonoids. *Nutr. Res*, **16**: 517–544.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C et Jimenez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, **79** (5): 727-747.

Références bibliographiques

- Manjeet K.R et Ghosh B. (1999).** Quercetin inhibits LPS-induced nitric oxide and tumor necrosis factor- α production in murine macrophages. *Int J Immunopharmacol*, **21**(7): 435-443.
- Manna S.K, Mukhopadhyay A et Aggarwal B.B. (2000).** Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF- κ B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. *J Immunol*, **164**(12): 6509-6519.
- Marchand L. (2002).** Cancer preventive effects of flavonoids. *Biomed Pharmacother*, **56**: 296-301.
- Mărculescu A, Vlase L, Hanganu D, Drăgulescu C, Antonie I et Neli-Kinga O. (2007).** Polyphenols analyses from *Thymus* species. *Proc. Rom. Acad., Series B*, **3**: 117–121.
- Maria A, Vera V, Juan A, Monotoya S, Calva G, Emma G, Raminrez R. (2005).** Extraction, thermal stability and kinetic behavior of pectin methylesterase from hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit. *LWT*, **5**: 2-6.
- Mariod A.A, Ibrahim R.M, Ismail M, Ismail N. (2009).** Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*, **116**: 306–312.
- Mašković P. Z, Manojlović N.T, Mandić A.I, Mišan A.Č, Milovanović I.Lj, Radojković M.M, Cvijović M.S, Solujić S.R. (2012).** Phytochemical screening and biological activity of extracts of plant species *Halacsya sendtneri* (Boiss.) Dörf. *Hem. Ind*, **66**(1): 43–51.
- Matrone P, Bono L, Leone E, Bona S, Carretto E et Perversi L. (2001).** Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* mastic gum against *Helicobacter pylori*. *J Chemother*, **13**: 611-614.
- Mecocci P, Polidori M.C, Troiano L, Cherubini A, Cecchetti R et Pini G. (2000).** Plasma antioxidants and longevity: a study on health centenarians. *Free Radical Biology and Medicine*, **28**: 1243-1248.
- Mehrafarin A, Qaderi A, Rezazadeh S.h, Naghdi Badi H, Noormohammadi G.h et Zand E. (2010).** Bioengineering of Important Secondary Metabolites and Metabolic Pathways in Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.). *J. of Medicinal Plants*, **9**(35): 1 – 18.

Références bibliographiques

- Meirinhos J, Silva B, Valentão P, Seabra R.M, Pereira J.A, Dias A, Andrade P.B, Ferreres F. (2005).** Analysis and quantification of flavonoidic compounds from Portuguese olive (*Olea europaea* L.) leaf cultivars. *Nat. Prod. Res.*, **19**: 189-195.
- Mendoza L, Wilkens M et Urzua A. (1997).** Antimicrobial study of the resinous exudates and of diterpenoids and flavonoids isolated from some Chilean *Pseudognaphalium* (Asteraceae). *J. Ethnopharmacol*, **58**: 85–88.
- Middleton E, Kandaswami C, Theoharides T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev*, **52**: 673– 751.
- Miron T L, Gazi I, Plaza Del Moral M. (2010).** Romanian aromatic plants as sources of antioxidants. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, **6**: 18-24.
- Mirzoeva O.K, Grishanin R.N, Calder P.C. (1997).** Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiol Res*, **152**: 239–46.
- Modak M et al., (2007).** Indian herbs and herbal drugs used for the treatment of diabetes. *J Clin Biochem Nutr*, **40**(3): 163-73.
- Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **26** : 211-219.
- Morales R. (2002).** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : *Thyme : the genus Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.
- More D et White J. (2005).** Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde, Flammarion, pp18 ; 797.
- Mori A, Nishino C, Enoki N, Tawata S. (1987).** Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, **26**: 2231–4.
- Morozova et al., (2004).** Modulateurs du métabolisme du cholestérol et avenir du traitement de l'athérosclérose. *Medecine/Sciences*, **20**: 685-90.

Références bibliographiques

Mozaffarian D. et al., (2003). Cereal, fruit, and vegetables fiber intake and the risk of cardiovascular disease in elderly individuals. *JAMA*. **289**(13): 1659-1666.

Mujić I, Živković J, Nikolić G, Vidović S, Trutić N, Kosić U, Jokić S, Ruznić A. (2011). Phenolic Compounds in Olive Leaf Extract as a Source of Useful Antioxidants. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, **6** (3-4): 129-133.

Mulla A.W et al., (2010). Evaluation of antiinflammatory and analgesic activities of ethanolic extract of roots *Adhatodavasica* Linn. *International Journal of PharmTech Research*, **2**(2):1364-1368.

Murray P. R, Rosenthal K. S et Pfaller M.A. (2005). Medical microbiology, 5th ed. Elsevier Mosby, Philadelphia.

Nantel F, denis D, Gordon R, Northey A, Cirino M, Metters K.M, Chan C.C. (1999). Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation. *Br. J. Pharmacol*, **128**: 853–859.

Nazar A, Nasri E.I et El Tinay A.H. (2007). Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. *Food Chemistry*, **103**(2): 582- 589.

Ndhlala A.R, Moyo M, Van Staden J. (2010). Natural antioxidants: fascinating or mythical biomolecules?. *Molecules*, **15**: 6905-6930.

Ndiaye M, SY G.y, Dièye A.M, Touré M.T, Faye B. (2006). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'*Annona reticulata* (annonaceae) sur l'oedème aiguë de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharm. Méd. Trad. Afr*, **14**: 179-186.

Ndip R.N, Tarkang A.E.M, Mbullah S.M, Luma H.N, Malongue A, Ndip L.M, Nyongbela K, Wirmum C, Efang S.M.N. (2007). *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of extracts of selected medicinal plants from North West Cameroon. *J. Ethinopharmacol*, **114**(3): 452-457.

Newall C.A, Anderson L.A et Phillipson J.D. (1996). Herbal Medicines: A guide for Health-Care Professionals. The Pharmaceutical Press, London.

Nickavar B, Alinaghi A, Kamalinejad M. (2008). Evaluation of the Antioxidant Properties of Five *Mentha* Species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **7**(3): 203-209.

Références bibliographiques

Njus D et Kelley P.m. (1991). "Vitamins C and E donate single hydrogen atoms *in vivo*." *FEBS Letters*, **284**(2): 147-151.

Nofer J.R, Kehrel B, Fobker M, Levkau B, Assmann G, Von Eckardstein A. (2002). HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*, **161**: 1–16.

Noyan A (1996). Lipid Metabolizması.Yaşam ve Hekimlikte Fizyoloji.8.baskı, Meteksan yayınları.

Nwagha U.I. (2010). Atherogenic index of plasma as useful predictor of cardiovascular risk among postmenopausal women in Enugu, Nigeria. *African Health Sciences*, **10**(3): 248-252.

Offord E.A, Macé K, Ruffieux C, Malnoë A et Pfeifer A.M. (1995). Rosmary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchical cells. *Carcinogenesis*, **16** (9): 2057-2062.

Ohnishi M, Morishita H, Toda S, Shirataki Y, Kimura M et Kido R. (1994). Inhititory effects of chlorogenic acids on linoleic peroxidation and haemolysis. *Phytochemistry*, **36**: 579 - 583.

Ojala T, Remes S, Haansuu P, Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K et Vuorela P. (2000).Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*, **73**(1-2): 299-305.

O'Leary K.A, de Pascual-Tereasa S, Needs P.W, Bao Y.P, O'Brien N.M et Williamson G. (2004). Effect of flavonoids and vitamin E on cyclooxygenase-2 (COX-2) transcription. *Mutat Res*, **551**(1-2): 245-254.

Olinski R, Gackowski D, Foksinski M, Rozalski R, Roszkowski K, Jaruga P. (2002). Oxidative DNA damage: Assessment of the role in carcinogenesis, atherosclerosis and acquired immunodeficiency syndrome. *Free Radic Bio Med*, **33**: 192-200.

O.M.S. (2002). Promoting the Role of Traditional Medicine in Health Systems: a Strategy for the African Region 2001–2010. Harare, (référence document AFR/RC50/Doc.9/R).

Ouédraogo N, Tibiri A, Sawadogo R.W, Lompo M, Hay A.E, Koudou J, Dijoux M.G et Guissou I.P. (2011). Antioxidant anti-inflammatory and analgesic activities of aqueous extract from stem bark of *Pterocarpus erinaceus* Poir.(Fabaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, **5**(10): 2047-2053.

Références bibliographiques

- Oussou K.R, Yolou S.F, Tue Bi B, Kanko C, Boti J.B, Ahibo C et Casanova J. (2010).** Etude Chimique Bio-Guidée de L'huile Essentielle de *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae). *European Journal of Scientific Research*, **40**(1): 50 -59.
- Pandey K.B, Rizvi S.I. (2009).** Protective effect of resveratrol on markers of oxidative stress in human erythrocytes subjected to *in vitro* oxidative insult. *Phytother Res*, **24**(1): 11-14.
- Paraschos S, Magiatis P, Mitakou S, Petraki K, Kalliaropoulos A, Maragkoudakis P, Mentis A, Sgouras D et Skaltsounis A.L. (2007).** *In vitro* and *in vitro* activities of Chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother*, **51**: 551-559.
- Park H.J, Cha H.C. (2003).** Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean journal of biological society*, **7**: 327-330.
- Parsonnet J et al., (1991).** *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med*, **325**: 1127-1131.
- Pascual M.E, Slowing K, Carretero E, Mata D.S, Villar A. (2001).** Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, **276**: 201-214.
- Pastre J, Priymenko N. (2007).** Intérêt des antioxydants de l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Med. Vet*, **158**(4): 180-189.
- Patel A.S. (2011).** Evaluation of anti-inflammatory activity of fruits of *Trapa natans* Linn. *IJPRD*, **3**(6): 97-102.
- Peixoto J.R.O, Silva G.C, Costa R.A, Fontenelle J.L.S, Vieira G.H.F, Filho A.A.F et al., (2011).** *In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, (2011): 201-204.
- Pereira A.P, Ferreira I.C.F.R, Marcelino F, Valentão P, Andrade P.B, Seabra R, Estevinho L, Bento A et Pereira J.A. (2007).** Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecules*, **12**: 1153-1162
- Perry N.B et al., (1999).** Essential oils from dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.): variation among individuals, plant parts, seasons, and sites – *J Agric Food Chem.*, **47**(5): 2048-54.

Références bibliographiques

Plaper A, Golob M, Hafner I, Oblak M, Solmajer T, Jerala R. (2003). Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. *Biochem Biophys Res Commun*, **306**: 530–6.

Potterat O. (1997). Antioxidants and free radical scavengers of natural origin. *Current organic chemistry*, **1**: 415-417.

Premanath R, Sudisha J, Lakshmi Devi N et Aradhya S.M. (2011). Antibacterial and Anti-oxidant Activities of Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) Leaves. *Research Journal of Medicinal Plant*. **5**: 695-705.

Prieto P, Pineda M, Aguilar M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem*, **269**: 337–341.

Qnais E.Y, Elokda A.S, Abu Ghalyun Y.Y et Abdulla F.A. (2007). Antidiarrheal Activity of the Aqueous Extract of *Punica granatum* (Pomegranate) Peels. *Pharmaceutical Biology*, **45**(9): 715–720.

Quezel P, Santa S. (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. In : CNRS (Ed.), Vol. **1-2**. Paris.

Quirantes-Piné. L et al., (2009). High-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time-of-flight and ion-trap tandem mass spectrometry to identify phenolic compounds from a lemon verbena extract. *J Chromatogr A*, **1216** (28):5391-5397.

Qusti S.Y, Abo-khatwa A.N et Bin Lahwa M.A. (2010). Screening of antioxidant activity and phenolic content of selected food items cited in the holly quran. *EJBS*, **2**(1): 40-51.

Raederstorff D.G, Schlachter M.F, Elste V et Weber P. (2003). Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats. *J. Nutr. Biochem.*, **14**: 326-332.

Ragone M, Sella M, Conforti P, Volonté M, Consolini A. (2007). The spasmolytic effect of *Aloysia citriodora*, Palau (South American cedar) is partially due to its vitexin but not isovitexin on rat duodenum. *Journal of Ethnopharmacology*, **113**: 258–266.

Rai A. (2006). Correlation between vegetable consumption and gallbladder cancer. *Eur J Cancer Prev*, **15**(2):134-7.

Références bibliographiques

- Rajasekaran A, Kalaivani M. (2011).** Hypolipidemic and antioxidant activity of aqueous extract of *Monascus purpureus* fermented Indian rice in high cholesterol diet fed rats. *Turk J Med Sci*, **41** (1): 25-32.
- Raju J et al., (2004).** Diosgenin, a steroid saponin of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek), inhibits azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation in F344 rats and induces apoptosis in HT-29 human colon cancer cells, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **13**(8):1392-8.
- Ramarao N, Lereclus D. (2005).** The InhA1 metalloprotease allows spores of the *B. cereus* group to escape macrophages. *Cell. Microbiol*, **7**(9): 1357-1364.
- Ravi V, Saleem T.S.M, Patel S.S, Raamamurthy J, Gauthaman K. (2009).** Anti-Inflammatory Effect of Methanolic Extract of *Solanum nigrum* Linn Berries. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, **2**(2): 33-36.
- Reena R, Yuan-Tong L et Kalidas S. (2004).** Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Asia Pac J Clin Nutr*, **13** (3): 295-307.
- Rehman A, Nourooz J, Moller W. (1999).** Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mellitus. *EEBS*, **488**: 120-122.
- Rezaeizadeh A, ABZ Z, Abdollahi M, Goh Y.M, Noordin M.M, Hamid M et Azmi1 T.I. (2011).** Determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extracts of *Momordica charantia*. *African Journal of Biotechnology*, **10**(24): 4932-4940.
- Ricco R.L et al., (2010).** Análisis de polifenoles, actividad antioxidante y genotoxicidad en especies argentinas de *Lippia* y *Aloysia* (Verbenaceae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, **9**(5): 388 – 396.
- Rigano D, Formisano C, Basile A, Lavitola A, Senatore F, Rosselli S, Bruno M. (2006).** Antibacterial activity of flavonoids and phenylpropanoids from *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum*. *Phytother. Res.* **21**: 395 – 397.
- Romani P, Pinelli C, Galardi N, Mulinacci M et Tattini. (2002).** Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochem Anal.* **13**(2): 79-86.

Références bibliographiques

- Ronald A. (2002).** The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Am J Med*; **113** (Suppl 1A):14S-19S.
- Saadabi A.M.A, Moglad E.H. (2011).** Experimental Evaluation of Certain Sudanese Plants Used in Folkloric Medicine for Their Antibacterial Activity (*In- Vitro* Tests). *Journal of Applied Sciences Research*, **7**(3): 253-256.
- Sahu A.N et Laloo D. (2011).** Antioxidant activities of three Indian commercially available Nagakesar: An *in vitro* study. *J. Chem. Pharm. Res*, **3**(1):277-283.
- Salvatore M.J, King A.B, Graham A.C et al., (1998).** Antibacterial activity of lonchocarpol A. *J Nat Prod*, **61**: 640–2.
- Sampietro D.A, Catalan C.A.N, Vattuone M.A. (2009).** Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Products, Enfield, New Hampshire 03748 United States of America, p: 136.
- Sanchez-Moreno C. (2002).** Method used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, **8**:121-137.
- Sandoval-Chacin J.H. et al., (1998).** Anti-inflammatory actions of cat's claw: the role of NF-kB. *Aliment Pharmacol. Ther.*, **12**:1279-1289.
- Sansonetti P. (2000).** Les maladies infectieuses.oai:canal-u.fr:103126, http://www.canal-u.tv/video/universite_de_tous_les_savoirs/les_maladies_infectieuses.921. (Résumé).
- Santos A.C, Uyemura S.A, Lopes J.L, Bazon J.N, Mingatto F.E, Cutti C. (1998).** Effects of naturally occurring flavonoids on lipid peroxidation and membrane permeability transition in mitochondria. *Free Radic Biol Med*, **24**: 1455-61.
- Sartoratto A, Machado A.L.M, Delarmelina C, Figueira G.M, Duarte M.C et Rehder V.L. (2004).** Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Braz. J. Microbiol*, **35**: 275–280.
- Sauvaire Y et al., (1991).** Implication of steroid saponins and sapogenins in the hypocholesterolemic effect of fenugreek. *Lipids*. **26**(3): 191-7.
- Scalbert A. (1991).** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, **30**: 3875–3883.

Références bibliographiques

- Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C. (2005).** Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **45**: 287-306.
- Schryver T. (2002).** Fenugreek. *Total Health*, **24**: 42-44.
- Shan B, Cai Y.Z, Brooks J.D, Corke H. (2007).** The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*, **117**: 112–119.
- Sharma R.K, Chatterji S, Rai D.K, Mehta S, Rai P.K, Sing2 R.K, Watal G et Sharma B. (2009).** Antioxidant activities and phenolic contents of theaqueous extracts of some Indian medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, **3**(11): 944-948.
- Sharma U.S, Sharma U.K, Sutar N, Singh A et Shukla D.K. (2010).** Anti-inflammatory activity of *Cordia dichotoma forst f.* seeds extracts. *International Journal of Pharmaceuticals Analysis*, **2**(1): 01-04.
- Shrififar F, Yassa N, ShafieeA. (2003).** Antioxidant Activity of *Otostegia persica* (Labiatae) and its constituents. *IJPR*, **2**: 235-239.
- Sidhu G.S, Oakenfull D.G. (1986).**A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins. *British Journal of Nutrition*, **55**: 643–649.
- Sies H et Sthahl W. (1995).** Vitamins E and C, bcarotene and other carothenoids as antioxidant. *Am. J. Clin. Nutr.* **62**: 1315.
- Singleton V.L, Orthofer R, Lamuela-Raventos R.M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, **299**: 152-178.
- Skandamis P, Koutsoumanis K, Fasseas K, Nychas G.J.E. (2001).** Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *Escherichia coli* O157: H7. *Ital J Food Sci*, **13**: 65–75.
- Sobel J.D, Kaye D. (2000).** Urinary Tract Infections. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Mandell, Doublas, and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, **II**: 773-805.
- Sohal R.S, Mockett R.J, Orr W.C. (2002).** Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Rad. Biol. Med.*, **33**(5): 575.

Références bibliographiques

- Somova L.I, Shode F.O, Ramnanan P, Nadar A. (2003).** Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, sub species *Africana* leaves. *J Ethnopharmacol*, **84**(2-3): 299–305.
- Soobrattee M.A, Neergheen V.S, Luximon-Ramma A, Aruoma O.I, Bahorun T. (2005).** Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutat Res*, **579**: 200-213.
- Southon S, Johnson I.T, Gee J.M, Price K.R. (1988).** The effect of Gypsophila saponins in the diet on mineral status and plasma cholesterol concentration in the rat. *British Journal of Nutrition*, **59**: 49–55.
- Souza C. R. F, Schiavetto I. A, Thomazini F. C. F et Oliveira W. P. (2008).** Processing of *Rosmarinus officinalis* linne extract on spray and spotted bed dryers. *Brazilian journal of chemical engineering*, **25** (1): 59-69.
- Spiridon I, Bodirlau R, Teaca C.A. (2011).** Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Cent. Eur. J. Biol*, **6** (3): 388-396.
- Stamm W.E, Hooton T.M. (1993).** Management of urinary tract infections in adults. *N Engl J Med*, **329**: 1328-1334.
- Stankovic M.S, Niciforovic N, Topuzovic M, Solujic S. (2011).** Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity, of the whole plant and plant parts extracts from *teucrium montanum* l.var. *montanum*, f. *supinum* (l.) reichenb. *Biotechnol. & Biotechnol*, **25**(1): 2222–2227.
- Sudha S.S, Karthic R, Rengaramanujam J et Athulya. (2011).** Antimicrobial activity of *Spirulina platensis* and *Aphanothece* sp. on selected clinical bacterial isolates and its Antioxidant activity. *South As. J.Biol.Sci*, **1**(2): 87 – 98.
- Sur P et al., (2001).** *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) seed extract as an antineoplastic agent. *Phytother Res*, **15**(3): 257-9.
- Svedstroma U, Vuorela H, Kostianen R, Leak I, Hiltunen R. (2006).** Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoides prior to high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **11**(12): 103-111.

Références bibliographiques

- Tabak M, Armon R, Potasman I, Neeman I. (1996).** *In vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. *J. Appl. Bacteriol*, **8**: 667-672.
- Takeuchi H, Lu Z.G et Fujita T. (2004).** New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L). *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, **68**(5): 1113-1134.
- Thuille N, Fille M, Nagl M. (2003).** Bactericidal activity of herbal extracts. *Int. J. Hug. Environ. Health*, **206**: 217-221.
- Tohidi M, Khayami M, Nejati V, Meftahizade H. (2011).** Evaluation of antibacterial activity and wound healing of *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5** (17): 4310-4314.
- Tordera M, Ferrandiz M.L, Alcaraz M.J. (1994).** Influence of anti-inflammatory flavonoids on degranulation and arachidonic acid release in rat neutrophils. *Z Naturforsch [C]*, **49**: 235–40.
- Tortora G.J, Funke B.R et Case C.L. (2003).** Introduction à la microbiologie. Edition du renouveau pédagogique. Canada. 945p.
- Trease G.E, Evans W.C. (1989).** Textbook of Pharmacognosy. 13th Edn. Balliere Tindall, London.
- Treki A.S. Merghem R, Dehimat L (2009).** Etude Phytochimique et Evaluation De L'Activite Antibacterienne D'une Labiee : *Thymus hirtus*, *Sciences & Technologie C*, **(29)**: 25-29.
- Trovato A, Forestieri A.M, Tauk L, Barbera R, Monforte M.T, Galati E.M. (1993).** *Plantes médicinales et phytothérapie*, **4**:300.
- Tsuchiya H, Sato M, Miyazaki T, Fujiwara S, Tanigaki S, Ohyama M et al., (1996).** Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Ethnopharmacol*, **50**: 27–34.
- Tzung-Hsun T, Po-Jung T et Su-Chen H. (2005).** Antioxidant and anti inflammatory activities of several commonly used spices. *Journal of Food Science*, **70**(1): 93-97.

Références bibliographiques

Ursini F, Tubaro F, Rong J et Sevanian A. (1999). Optimization of nutrition: Polyphenols and vascular protection. *Nutrition reviews*, **57**(8): 241-249.

Valentão P, Fernandes E, Carvalho F, Andrade P.B, Seabra R.M et Bastos M.L. (2002). Studies on the antioxidant activity of *Lippia citriodora* infusion: Scavenging effect on superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Biol. Pharm. Bull*, **25**: 1324–1327.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M.T.D, Mazur M, Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, **39**: 44–84.

Van Acker S.A, Koymans L.M, Bast A. (1993). Molecular pharmacology of vitamin E: structural aspects of antioxidant activity. *Free Rad Biol Med*, **15**: 311-328.

Van Acker S.A, Van den Berg D.J, Tromp M.N, Griffioen D.H, van Bennekom W.P, van der Vijgh W.J et al., (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic Biol Med*, **20**(3): 331-42.

Wain J, House D, Parkhill J, Parry C et Dougan G. (2002). Unlocking the genome of the human typhoid *bacillus*. *Lancet Infect Dis* (**2**):163-70.

Wang W, Wu N, Zu Y.G et Fu Y.J. (2008). Antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis* L oil compared to its main compounds. *Food chemistry*, **108**(3): 1019-1022.

Wangcharoen W et Morasuk W. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of chilies. *Kasetsart J. Nat. Sci*, **41**: 561–569.

Weiser H et Vecchi M. (1982). "Stereoisomers of alpha-tocopheryl acetate.II. Biopotencies of all eight stereoisomers, individually or in mixtures, as determined by rat resorption-gestation tests. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, **52**(3): 351-370.

Weissburger J.H. (1997). Tea and health: a historical perspective. *Cancer Lett.* **114**: 315-317.

Wichtl M, Anton R . (1999). Plantes thérapeutiques. Ed : *TEC & DOC*, Paris, pp: 636.

Wichtl M, Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. *TEC & DOC*. Paris, pp: 692.

Références bibliographiques

- Willatgamuwa S.A, Platel K, Saraswathi G, Srinivasan K. (1998).** Antidiabetic influence of dietary cumin seeds in streptozotocin induced diabetic rats. *Nutrition Research*, **18**: 131-142.
- Wilson T, Porcari J.P, Harbin D, (1998).** Cranberry extract inhibits low density lipoprotein oxidation. *Life Sciences*, **62**(24): 381-386.
- Wine J. J. (1999).** The genesis of cystic fibrosis lung disease. *J. Clin. Invest*, **103**: 309-312.
- Wiseman S, Mulder T et Rietveld A. (2001).** Tea flavonoids: bioavailability *in vivo* and effects on cell signaling pathways *in vitro*. *Antioxid Redox Signal*, **3**(6): 1009-1021.
- Wojdyło A, ski J.O, Czemerys R. (2007).** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, **105**: 940–949.
- Wong S.P, Leong L.P, William Koh J.H.(2006).** Antioxidant activities of extracts of selected plants. *Food chemistry*, **99**: 775-783.
- Wu N, Fu K, Fu Y.J, Zu Y.G, Chang F.R, Chen Y.H et al. (2009).** Antioxidant Activities of Extracts and Main Components of Pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] Leaves. *Molecules*, **14**:1032-1043.
- Yeh C.H et al., (2005).** Inhibition of NF-kB activation with curcumin attenuates plasma inflammatory cytokines surge and cardiomyocytic apoptose following cardiac ischemia/reperfusion. *J. Durg. Res*, **125**(1): 109-16.
- Yoo K.M, Lee C.H, Lee H, Moon B, Lee C.Y. (2008).** Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry*, **106**: 929–936.
- Zabri H, Kodjo C, Beni A, Marnyrbekova B, Ko J, Bekro Y.A. (2008).** Phytochemical screening and determination of flavonoids in *Secamone afzeli* (Asclepiadaceae) extracts. *African journal of Pure and Applied Chemistry*, **2**(8): 80 82.
- Zamorano-Ponce E, Fernández J, Vargas G, Rivera P et Carballo M. (2004).** Protective activity of cedron (*Aloysia triphylla*) infusion over genetic damage by cisplatin evaluated by the cornet assay technique. *Toxicol. Lett*, **152**: 85–90.

Références bibliographiques

- Zargar M, Azizah A.H, Roheeyati A.M, Fatimah A.B, Jahanshiri F, Pak-Dek M.S. (2011).** Bioactive compounds and antioxidant activity of different extracts from *Vitex negundo* leaf. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5** (12): 2525-2532.
- Zarzuelo A, Duarte J, Jimenez J, Gonzalez M, Utrilla M.P. (1991).** Vasodilator effect of olive leaf. *Planta Med*, **57**(5): 417–419.
- Zhang D.L, Zhang Y.T, Yin J.J, zhao B.L. (2004).** Oral administration of Crataegus flavonoids protects against ischemia reperfusion brain damage in gerbils. *Journal of Neurochemistry*, **90**: 211-219.
- Zhang Z, Hoa K.K, Huang Y, Cena zhen Y. (2006).** Hypocholesterolemic activity of hawthorn fruit in mediated by regulation of cholesterol-7- hydroxylase and acyl coa: cholesterol acyl transferase. *Food Research*, **35**: 885-891.
- Zhao C, Dodin G, Yuan C, Chen H, Zheng, R, Jin Z, Fan B.T. (2005).** *In vitro* protection of DNA from Fenton reaction plant polyphenol verbascoside. *Biochim Biophys Acta*, **1723**: 114-123.
- Zheng W, Wang S.Y. (2001).** Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J.Agric.Food Chem*, **49**(11): 5165-5170.
- Zhou X, Peng J, Fan G, Wu Y. (2005).** Isolation and purification of flavonoid glycosides from *Trollius lebebouri* using high-speed counter-counter chromatography by stepwise increasing the

Publications

Publication: 1



Original Article

Study of hypocholesterolemic activity of Algerian *Pistacia lentiscus* leaves extracts *in vivo*



Mohammed Cheurfa*, Rachida Allem

Laboratory of Natural Bioresources, Department of Biology, Faculty of Science, University of Hassiba Ben Bouali Chlef, Box 151, 02000 Chlef, Algeria

ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 September 2014

Accepted 1 February 2015

Available online 31 March 2015

Keywords:

Aqueous extract

Ethanol extract

Hypocholesterolemic activity

Pistacia lentiscus leaves

ABSTRACT

Plants are a large source of new bioactive molecules with therapeutic potentials. However, only a small amount of worldwide plants have been phytochemically investigated. The aqueous and ethanolic extracts of *Pistacia lentiscus* L., Anacardiaceae, leaves were evaluated for hypocholesterolemic activity *in vivo*. In this study, hypercholesterolemia was induced in animals by feeding them high cholesterol (1%) food. The extracts of *P. lentiscus* were orally administered at a dose of 200 mg/kg body weight along with a high cholesterol diet for thirty successive days. Lipid parameters such as total cholesterol, triacylglyceride, low density lipoprotein, very low density lipoprotein and high density lipoprotein were measured in the plasma. Total phenol and flavonoid contents were also evaluated. Flavonoid content was found to be more present in the ethanolic extract (8.218 ± 0.009 mg of QE/g) compared to the aqueous extract (3.107 ± 0.014 mg of QE/g). The administration of *P. lentiscus* extracts produced a significant decrease in total cholesterol, triacylglyceride and low density lipoprotein-cholesterol (154.6 ± 18.10 , 71.2 ± 4.38 and 99.36 ± 18.77 mg/dl respectively) in the ethanolic extract, while the aqueous extract showed a significant decrease in total cholesterol and triacylglyceride (203.6 ± 9.18 and 97.6 ± 3.57 mg/dl respectively). The results of the investigation demonstrated that *P. lentiscus* leaf extract has hypocholesterolemic properties and might be used for the prevention of hypercholesterolemia associated disorders.

© 2015 Sociedade Brasileira de Farmacognosia. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introduction

Increases in cholesterol levels (hypercholesterolemia) have become a significant health concern in recent years. Hypercholesterolemia is known to be a risk factor for the development of cardiovascular diseases including atherosclerosis, myocardial infarction and cerebral paralysis (Avci et al., 2006). This dysfunction also enhances free radical generation in various ways (Prasad and Kalra, 1993), as well as the formation of oxygen free radicals, such as superoxide anion radical or peroxy nitrite, which play a significant role in the pathogenesis of many other diseases including, cancer and inflammatory disorders (Das et al., 2000).

Curing hypercholesterolemia without any side effects remains a challenge for modern medicine. Plant-derived products are frequently considered to be less toxic, with few or no side effects, than their synthetic equivalents. Plants play a major role in the introduction of new therapeutic agents, and have received much attention as sources of biologically active substances. Mastic (*Pistacia lentiscus*) is one such example.

P. lentiscus is very common in the Mediterranean region. In Algeria, mastic is found in both the Tell region and in forested areas. The aerial portion has traditionally been used as both a stimulant and a diuretic in the treatment of hypertension, coughs, sore throats and stomach aches. *P. lentiscus* leaves contain bioactive molecules such as phenolic compounds (proanthocyanidin tannins and gallic), flavonoid glycosides and anthocyanins.

The aim of this study is hence to study the hypocholesterolemic activity *in vivo* of aqueous and ethanolic extracts of Algerian *P. lentiscus* leaves.

Materials and methods

Plant material

Pistacia lentiscus L., Anacardiaceae, leaves were collected locally from the Chlef region of Algeria in 2012. Voucher specimens were collected under the registration number FSDB 12.189, at the herbarium of Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Hassiba Ben Bouali-Chlef. They were identified by Ms. Medjahed K, a botanist at the Institute of Agronomy, University of Hassiba Ben Bouali-Chlef. After drying in a shadow at room temperature, the plant materials were fragmented.

* Corresponding author.

E-mail: m.cheurfa@univ-chlef.dz (M. Cheurfa).

Preparation of aqueous extract

The aqueous extract was prepared by decoction. Fragmented leaves (100 g) were immersed in one liter of water at 100 °C for 15 min. The aqueous extract was filtered through Whatman paper N° 1. The filtrate was concentrated in a rotary vacuum evaporator at 55 °C. The extraction yield was 11.88%.

Preparation of ethanolic extract

The ethanolic extract was prepared by homogenizing 100 g of fragmented leaves in 900 ml of ethanol solution (50%) for three days, with frequent agitation. The ethanolic extract was filtered through Whatman paper N° 1. The solvent was removed from the sample using a rotary vacuum evaporator at 48 °C (Peixoto et al., 2011). The extraction yield was 15.88%. All of the above dry extracts were stored at 4 °C in sterile glass jars and, sealed for use in further studies.

Phytochemicals screening of the leaves extracts

Determination of total flavonoid content

The total flavonoid content in the extracts was determined spectrophotometrically using an aluminum chloride method involving the formation of a flavonoid–aluminum complex at 420 nm (Zhou et al., 2005). The concentration of the total flavonoid content was calculated by comparison with the absorbance of different concentrations of quercetin (QE), and the result was expressed as milligrams of QE equivalents per gram of plant powder. Samples were prepared in triplicate for each analysis, and the mean value of absorbance was obtained.

Assay of hypocholesterolemic activity in vivo

Animals

Twenty-five male Swiss albino mice weighing between 25 and 30 g were used in the present study. They were housed in polypropylene cages with controlled levels of temperature (24 ± 2 °C) and light (a 12 h light, 12 h dark photoperiod), and fed with standard laboratory pellets. Food and water were given ad libitum.

The protocol employed was approved by the laboratory of toxicology and pharmacology (Antibiotic group – Medea, Algeria), following the recommendations of the European Pharmacopoeia 8.0 under reference number 215/2013.

Experimental design

Hypercholesterolemia was induced in the mice via administering of food containing high cholesterol (1%) for thirty days. All mice had free access to food and water for the duration of the experiment. The test group received 200 mg/kg body weight plant extracts at 10 ml/kg every morning, administered orally. The mice were divided into five groups of five animals each as follows:

Group 1: Received normal diet (control group).

Group 2: Fed with a high cholesterol diet and received 0.5 ml of sterile water, administered orally.

Group 3: Fed with a high cholesterol diet and received aqueous extract of *P. lentiscus*, 200 mg/kg body weight for 30 days, administered orally.

Group 4: Fed with a high cholesterol diet and received ethanolic extract of *P. lentiscus*, 200 mg/kg body weight for 30 days, administered orally.

Group 5: Fed with a high cholesterol diet and received reference drug Atorvastatin, 10 mg/kg body weight (Khera and Bhatia, 2012) for thirty days, administered orally.

At the end of the experiment, blood samples were collected from the mice in all groups in vials without anti-coagulant. Biochemical parameters measured in the study were TC (total cholesterol), TG (triacylglyceride), LDL (low density lipoprotein), HDL (high density lipoprotein) and VLDL (very low density lipoprotein), using assay kits (Beckman Coulter, Ref: 467825, 445850, 969706, and 650207 – USA.).

Statistical analysis

The experimental results were expressed as mean SEM (standard error of the mean). Data were assessed by ANOVA. Tukey's test was then applied using XL Stat Pro 7.5 software. A *p* value of <0.05 was considered to be statistically significant.

Results

Flavonoid content

Flavonoid levels in the aqueous and ethanolic extracts of *P. lentiscus* leaves were 3.107 ± 0.014 and 8.218 ± 0.009 mg of QE/g respectively. Ebrahimzadeh et al. (2008) tested the gum of *P. lentiscus*. They found the flavonoid levels to be 30.52 ± 1.10 mg of QE/g. A flavonoid content of 38.7 ± 0.02 mg of QE/g was found by Cherbal et al. (2012) for the methanol extract of *P. lentiscus* leaves.

Hypocholesterolemic activity in vivo

Table 1 shows the values of serum lipid profile in the normal, hypercholesterolemic, control and extract treated groups.

Cholesterol and triacylglyceride are important building blocks in the structure of biological membranes. They are also used in the biosynthesis of steroid hormones. However, high cholesterol concentration in the blood increases the risk of developing atherosclerosis and related cardiovascular diseases.

In the present study, mice fed with a high cholesterol diet had higher (*p* < 0.05) levels of total cholesterol in the serum (253 ± 31.60 mg/dl) than mice fed with a normal diet (116 ± 0.89 mg/dl).

The treatment of group 3 with aqueous extract of *P. lentiscus* at 200 mg/kg body weight, significantly decreased TC (203.6 ± 9.18 mg/dl) and TG (97.6 ± 3.57 mg/dl) compared to the hypercholesterolemic control (group 2). However, there was no significant decrease in LDL-cholesterol.

In the cholesterol-fed mice (group 4), the treatment with 200 mg/kg body weight of *P. lentiscus* ethanolic extract also significantly decreased TC (154.6 ± 18.10 mg/dl), TG (71.2 ± 4.38 mg/dl) and LDL-cholesterol (99.36 ± 18.77 mg/dl).

TC, TG and LDL-cholesterol also showed a significant decrease as compared to the high cholesterol-fed mice receiving 10 mg/kg body weight doses of atorvastatin (group 5).

P. lentiscus leaf extracts showed a non-significant increase of HDL-cholesterol level in comparison to the hypercholesterolemic control (group 2).

Discussion

From the results obtained, it is apparent that phenolic and flavonoid contents differ according to the plant and solvent used during the extraction. Many factors can affect the content of phenolic compounds. Recent studies have shown that extrinsic factors

Table 1Effect of aqueous and ethanolic extract of *P. lentiscus* on serum lipid profile of mice fed with high cholesterol diet after 30 days.

Groups	Dose (mg/kg)	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)	HDL-c (mg/dl)	LDL-c (mg/dl)	VLDL-c (mg/dl)
Control group		116 ± 0.89	146.4 ± 10.89	48.2 ± 6.40	38.52 ± 8.13	29.28 ± 2.17
Hypercholesterolaemic group		253 ± 31.60 [#]	200 ± 12.32 [#]	31.6 ± 1.74 [#]	160 ± 31.60 [#]	40 ± 2.46 [#]
Aq <i>P. lentiscus</i>	200	203.6 ± 9.18 [*]	97.6 ± 3.57 ^{***}	38.2 ± 1.48	145.88 ± 9.76	19.52 ± 0.71 ^{**}
Et <i>P. lentiscus</i>	200	154.6 ± 18.10 ^{***}	71.2 ± 4.38 ^{***}	41 ± 1.87	99.36 ± 18.77 [*]	14.24 ± 0.87 ^{**}
Atorvastatin	10	130.6 ± 8.14 ^{***}	121.8 ± 42.65 ^{***}	62.8 ± 3.49 ^{***}	43.44 ± 9.35 ^{***}	24.36 ± 8.53

Aq: aqueous extract.

Et: ethanolic extract.

^{*} $p < 0.05$ significant from hypercholesterolaemic control.^{**} $p < 0.01$ significant from hypercholesterolaemic control.^{***} $p < 0.001$ significant from hypercholesterolaemic control.[#] $p < 0.05$ significant from control animals.

(such as geographic and climatic factors), genetic factors, degrees of maturation of the plant, and storage time all have a strong influence on the content of phenolic compounds (Falleh et al., 2008).

High levels of cholesterol in the diet have been shown to elevate total cholesterol, and may increase the risk of cardiovascular complications.

Regarding the cholesterol-lowering effect of *P. lentiscus* leaf extracts in mice fed with a high-cholesterol diet, the *P. lentiscus* extracts showed hypocholesterolemic properties. This may be due to either the individual or the synergistic action of the phenolic components. A possible mechanism here may be the hydrolysis control of certain lipoproteins and their selective uptake and metabolism by different tissues.

Flavonoids may enhance the lecithin acyl transferase (LCAT) by increasing their activity, which regulates blood lipids (Yoo et al., 2008). LCAT plays a key role in the incorporation of free cholesterol into HDL (this may increase HDL) and its transfer back to VLDL and LDL, which are later returned in liver cells (Dobiášová and Frohlich, 1999).

Flavonoids might represent another beneficial group of naturally occurring hypolipidemic compounds (Cook and Samman, 1996), and they appear to have intensive biological properties that promote human health and help reduce the risk of disease. Flavonoids act as antioxidants, protect LDL cholesterol from oxidation, inhibit platelet aggregation, and act as anti-inflammatory and anti-tumor agents (Cook and Samman, 1996; Manach et al., 1996).

In addition to direct oxidant scavenging, flavonoids may inhibit the enzymes involved in generating pro-oxidant molecules. For example, flavonoids have been shown to inhibit the generation or release of free radicals derived from lipoxygenase (LOX). It has been suggested that LOX is involved in the early events of atherosclerosis by inducing plasma LDL oxidation in the subendothelial space of the arterial wall (Huang et al., 1997).

In conclusion, the present study clearly demonstrates that *P. lentiscus* leaf extract is rich in phenolic compounds. Furthermore, in terms of hypercholesterolemic activity, *P. lentiscus* extracts significantly decrease TC levels in plasma. Future studies are proposed in order to confirm these results.

Authors' contributions

MC did the analysis, interpretation and acquisition of the data and drafted the paper. RA designed the study, supervised the laboratory work and contributed to critical reading of the manuscript.

Both the authors have read the final manuscript and approved for submission.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank Mr. Benona M, Boukhelkhal K and Ms. Negab I, from Antibiotic group, Medea, Algeria.

References

- Avci, G., Kupeli, E., Eryavuz, A., Yesilada, E., Kucukkurt, I., 2006. Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine. *J. Ethnopharmacol.* 107, 418–423.
- Cherbal, A., Kebeiche, M., Madani, K., El-Adawi, H., 2012. Extraction and valorization of phenolic compounds of leaves of Algerian *Pistacia lentiscus*. *Asian J. Plant Sci.* 11, 131–136.
- Cook, N.C., Samman, S., 1996. Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J. Nutr. Biochem.* 7, 66–76.
- Das, S., Vasishth, S., Das, S.N., Srivastava, L.M., 2000. Correlation between total antioxidant status and lipid peroxidation in hypercholesterolaemia. *Curr. Sci.* 78, 486–487.
- Dobiášová, M., Frohlich, J., 1999. Advances in understanding of the role of lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT) in cholesterol transport. *Clin. Chim. Acta* 286, 257–271.
- Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., Bekhradnia, A.R., 2008. Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *Afr. J. Biotechnol.* 7, 3188–3192.
- Falleh, H., Ksour, R., Chaieb, K., Karry-Bourou, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdely, C., 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biol.* 331, 372–379.
- Huang, Z., Fasco, M.J., Kaminsky, L.S., 1997. Inhibition of estrone sulfatase in human liver microsomes by quercetin and other flavonoids. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 63, 9–15.
- Khera, N., Bhatia, A., 2012. Antihyperlipidemic activity of *Woodfordia fruticosa* extract in high cholesterol diet fed mice. *Int. J. Pharm. Phytopharmacol. Res.* 2, 211–215.
- Manach, C., Regeat, F., Texier, O., 1996. Bioavailability, metabolism and physiological impact of 4-oxo-flavonoids. *Nutr. Res.* 16, 517–544.
- Peixoto, J.R.O., Silva, G.C., Costa, R.A., Fontenelle, J.L.S., Vieira, G.H.F., Filho, A.A.F., Fernandes Vieira, R.H.S., 2011. *In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 4, 201–204.
- Prasad, K., Kalra, J., 1993. Oxygen free radicals and hypercholesterolaemic atherosclerosis: effect of Vitamin E. *Am. Heart J.* 125, 958–973.
- Yoo, C.L., Su, P.Q., Zhou, X.X., 2008. Study on effect and mechanism of *Scutellaria baicalensis* stem-leaf total flavonoid in regulating lipid metabolism. *Zhongguo Zhong Yao Zhi* 33, 1046–1056.
- Zhou, X., Peng, J., Fan, G., Wu, Y., 2005. Isolation and purification of flavonoid glycosides from *Trollius lebebouri* using high-speed counter-counter chromatography by step wise increasing the flow rate of the mobile phase. *J. Chromatogr. A* 1092, 216–221.

Publication: 2

Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) d'Algérie *in vitro*

Evaluation of antioxidant activity of different extracts of *Aloysia triphylla* leaves (L'Hérit.) from Algeria *in vitro*

M. Cheurfa · R. Allem

© Lavoisier SAS 2015

Résumé Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des composés bioactifs tels que les composés phénoliques antioxydants naturels. L'objectif de cette étude est la détermination et la comparaison de l'activité anti-oxydante de l'extrait aqueux et hydro-alcoolique des feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) *in vitro*. L'évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla* se fait par cinq méthodes différentes : test au DPPH, test de blanchissement du β -carotène, la capacité anti-oxydante totale par la méthode de phosphomolybdate, méthode de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) et méthode de FTC (*Ferric thiocyanate method*) avec le dosage des phénols totaux et de flavonoïdes. Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait hydro-alcoolique d'*A. triphylla* sont significativement plus élevées à celles de l'extrait aqueux. Une valeur d'IC 50 plus importante ($27,40 \pm 0,1$ mg/ml) a été trouvée pour l'extrait aqueux par rapport à l'extrait hydro-alcoolique pour le piégeage du radical libre DPPH, en revanche l'extrait hydro-alcoolique a montré un pourcentage de l'activité anti-oxydante et une capacité anti-oxydante totale significativement élevées ($88,13 \pm 0,153\%$ et $270,14 \pm 0,1$ mg Eq AA/g d'extrait) respectivement. Alors que l'extrait aqueux d'*A. triphylla* a présenté un potentiel antioxydant et un pourcentage d'inhibition de peroxydation significativement élevés avec les méthodes de FRAP et FTC. La présente étude a montré que les extraits des feuilles d'*A. triphylla* ont une activité anti-oxydante due à la présence des composés phénoliques notamment les flavonoïdes qui peuvent être exploités dans l'industrie alimentaire ou pharmaceutique.

Mots clés *Aloysia triphylla* (L'Hérit.) · Extrait aqueux · Extrait hydro-alcoolique · Activité anti-oxydante · Phénols totaux · Flavonoïdes

Abstract Medicinal plants are an inexhaustible source of bioactive compounds such as phenolic compounds natural antioxidants. The objective of this study is the determination and comparison of the antioxidant activity of aqueous extract and hydroalcoholic leaves of *Aloysia triphylla* (L'Hérit.) *In vitro*. Evaluation of the antioxidant activity of the extracts of the leaves of *Aloysia triphylla* is by five different methods: the DPPH test, β - carotene bleaching test, the total antioxidant capacity by the phosphomolybdate method, method FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) and method of FTC (*Ferric thiocyanate method*) with measurement of total phenols and flavonoids. The contents of total phenols and flavonoids hydro-alcoholic extract of *A. triphylla* are significantly higher than those of the aqueous extract. A higher IC 50 value (27.40 ± 0.1 mg/ml) was found for the aqueous extract compared to the hydro-alcoholic extract for the scavenging of the free radical DPPH, however the hydro-alcoholic extract showed a percentage of the antioxidant activity and a significantly higher total antioxidant capacity ($88.13 \pm 0.153 \pm 0.1\%$ and 270.14 mg AA Eq / g of extract) respectively. While the aqueous extract of *A. triphylla* presented antioxidant potential and a percentage of inhibition of peroxidation with significantly elevated methods FRAP and FTC. The present study showed that the extracts of leaves of *A. triphylla* have antioxidant activity due to the presence of phenolic compounds such as flavonoids that can be exploited in the food or pharmaceutical industry.

M. Cheurfa (✉) · R. Allem
Laboratoire de Bio ressources Naturelles, Faculté des Sciences,
Département de Biologie, Université H.B.Chlef, BP 151, Chlef
02000, Algérie
e-mail : abou_yazid@hotmail.fr

Keywords *Aloysia triphylla* (L'Hérit.) · Aqueous extract · Hydro-alcoholic extract · Antioxidant activity · Total phenols · Flavonoid

Introduction

Les radicaux libres en général et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en particulier sont impliqués dans plusieurs pathologies humaines allant de l'inflammation au cancer tout en passant par les maladies cardiovasculaires, l'arthrite rhumatoïde, le diabète et le processus d'apoptose, en plus de leur action directe en réagissant avec la plupart des macromolécules (glucides, protéines et lipides). Pour cela, il est très intéressant de rechercher et d'identifier des antioxydants naturels à partir de plantes [1,2].

L'activité anti-oxydante des composés phénoliques présents dans les plantes est principalement due à leurs propriétés redox qui leurs permettent d'agir en réduisant les agents donneurs d'hydrogène et d'extinction de l'oxygène singulet. Les composés phénoliques peuvent aussi avoir des propriétés de chélation des métaux [3].

Parmi les plantes médicinales ayant un intérêt thérapeutique important figure la verveine citronnelle [*Aloysia triphylla* (L'Hérit.)] qui appartient à la famille des Verbenaceae. C'est un arbuste vivace à branches droites, cannelées, anguleuses et ramifiées, dont la partie utilisée de cette plante sont les feuilles vertes pâles, allongées (7-10 cm) ressemblant à celles du pêcher, glabres et pointues, verticillées par trois ou quatre sur les tiges [4]. Plusieurs études ont montré que l'infusion des feuilles d'*Aloysia triphylla* possède une activité antispasmodique [5] et une activité anti-inflammatoire [6].

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) *in vitro* en utilisant cinq méthodes différentes.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Les feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) ont été récoltées le mois de novembre 2011 de la région de Ain Defla Algérie. Après le séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, les feuilles sont transformées en poudre à l'aide d'un moulin électrique.

Préparation des extraits des feuilles d'*A.triphylla*

Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux des feuilles d'*A. triphylla* est une infusion de 10 g de poudre. Après 15 minutes de contact, l'extrait aqueux est récupéré par filtration sur papier Wattman. Le filtrat obtenu est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 55°C [7].

Préparation de l'extrait hydro-alcoolique

La préparation de l'extrait hydro-alcoolique d'*A. triphylla* a été effectuée par macération de 10 g de matière végétale dans une solution hydro-alcoolique à 50%. Après 72 heures de contact, le macérât est filtré et concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 48°C [8].

Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été déterminé selon la méthode de [9] avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

A chaque 200 µl d'extrait, 1 ml de solution de Folin Ciocalteu est ajouté, suivi par l'addition de 0,8 ml d'une solution de carbonate de sodium (7,5%). après 30 minutes d'incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 765 nm [10]. La concentration en phénols totaux des extraits a été exprimée en milligrammes d'acide gallique (AG) équivalents par gramme de plante.

Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes dans les extraits a été déterminée par la spectrophotométrie en utilisant la méthode de chlorure d'aluminium [11].

Une solution éthanolique d'AlCl₃ (1 ml) a été ajoutée à 1 ml de chaque extrait. Après 1 h d'incubation à une température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 420 nm [12]. La concentration en flavonoïdes a été exprimée en milligrammes de quercétine (Q) équivalents par gramme de plante.

Évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits *in vitro*

Test au DPPH

L'activité anti-oxydante de chaque extrait a été mesurée en utilisant le radical DPPH.

250 µl de diverses concentrations des extraits aqueux et hydro-alcoolique ont été ajoutés à 1 ml de solution méthanolique de 0,004% de DPPH. Le mélange a été agité vigoureusement et laissé reposer à une température ambiante dans l'obscurité pendant 30 minutes ; l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le BHT a été utilisé comme un contrôle positif.

Le pourcentage d'inhibition de DPPH a été calculé en utilisant l'équation suivante [13] :

$$\% \text{ d'inhibition de DPPH} = \{(A_B - A_A) / A_B\} \times 100$$

A_B : Absorbance de solution du DPPH sans extrait

A_A : Absorbance en présence d'extrait ou standard

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de DPPH et les IC₅₀ (concentration correspondant à 50%

d'inhibition de DPPH) sont déterminées à partir d'une courbe graphique de l'absorbance de DPPH en fonction de la concentration de l'extrait ou le BHT.

Test de blanchissement du β -carotène

Dans cette analyse la capacité anti-oxydante est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydro-péroxydes conjugués résultant de l'oxydation de l'acide linoléique [14].

Brièvement 1 ml d'une solution de β -carotène dans le chloroforme a été introduit dans un ballon contenant 40 μ l d'acide linoléique et 400 mg de Tween 40. Après évaporation du chloroforme, 100 ml d'eau oxygénée ont été ajoutés avec agitation vigoureuse. De cette nouvelle solution 2,5 ml sont transférés dans des tubes, et 200 μ l de l'extrait ou du témoin BHT sont ajoutés. Tous les tubes sont incubés dans un bain marie à 50°C pendant 3 heures et la lecture se fait à 470 nm.

Le pourcentage de l'activité anti-oxydante est calculé selon l'équation suivante [15] :

$$AA\% = [1 - (A_0 - A_t) / (A_0^1 - A_t^1)] \times 100$$

A_0 et A_0^1 : Absorbance mesurée au temps zéro d'incubation de l'extrait ou BHT et de contrôle (200 μ l d'éthanol absolu) respectivement

A_t et A_t^1 : Absorbance mesurée de l'extrait et de contrôle respectivement après incubation

La capacité anti-oxydante totale par la méthode de phosphomolybdate

Cette méthode est basée sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) en présence des composés antioxydants et donc la formation d'un complexe vert de phosphate/Mo (V) à un pH acide [16].

0,3 ml de chaque extrait a été mélangé avec 3 ml de solution réactif (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium).

Les tubes contenant la solution de réaction ont été incubés à 95 °C pendant 90 minutes. Ensuite, l'absorbance de la solution a été mesurée à 695 nm en utilisant le spectrophotomètre contre le blanc [17]. La capacité anti-oxydante totale a été exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait.

Méthode de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

La méthode FRAP consiste à mesurer la capacité d'un échantillon à réduire le complexe ferrique tripyridyltriazine au tripyridyltriazine à un faible pH. Ce complexe de tripyridyltriazineferreux a une couleur bleu intense mesuré par un spectrophotomètre à 593 nm.

Le réactif FRAP a été préparé en mélangeant du tampon acétate de sodium (300 mM, pH 3,6), une solution 10 mM TPTZ dans 40 HCl mM et 20 mM FeCl₃ en raison de 10:01:01 (v / v / v). 200 μ l de chaque extrait ont été ajoutés à 3 ml de réactif de FRAP. Après incubation dans l'obscurité à 37°C pendant 30 minutes, l'absorbance a été mesurée à 593 nm contre le blanc [2] [18]. Les concentrations ont été calculées en fonction de la courbe d'étalonnage, qui a été obtenue en utilisant des solutions de FeSO₄. Les résultats ont été exprimés en moles de Fe (II) par gramme d'extrait.

Méthode de FTC (*Ferric thiocyanate method*)

Cette méthode est basée sur l'oxydation de l'acide linoléique qui génère la formation des peroxydes qui s'oxyde Fe²⁺ en Fe³⁺. Ces derniers ions forment un complexe avec le thiocyanate mesuré à une absorbance maximale de 500 nm [19].

Les différents extraits (40 mg) et standards (40 mg, la vitamine C et l'acide gallique) ont été mélangés avec 4ml d'éthanol absolu, 4,1 ml de l'acide linoléique de 2,52%, 8 ml de 0,02 M de tampon phosphate (pH 7,0) et 3,9 ml d'eau distillée. La solution mélangée est incubée à 37°C.

A des intervalles réguliers au cours de l'incubation, 0,1 ml du mélange a été dilué avec 3,7 ml d'éthanol, suivi par l'addition de 0,1 ml de 30% de thiocyanate d'ammonium et 0,1 ml de 20 mM de chlorure ferreux dans de l'acide chlorhydrique. Le niveau de peroxydation a été déterminé par la lecture de l'absorbance à 500 nm. Cette étape a été répétée toutes les 24 h jusqu'à ce que le contrôle négatif ait atteint sa valeur maximale d'absorption. Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation des lipides a été calculé par l'équation suivante:

$$\text{Inhibition de peroxydation des lipides (\%)} = 100 - [(A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{contrôle}}) \times 100]$$

$A_{\text{contrôle}}$: Absorbance du contrôle négatif

$A_{\text{Echantillon}}$: Absorbance en présence de l'échantillon ou de standards.

Etudes statistiques

Les analyses de la variance ont été réalisées par le logiciel statistique XL Stat Pro 7.5.

Les expériences ont été faites en double et d'autres en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart-type.

La détermination des taux de signification est effectuée par le test Anova. Les différences ont été considérées significatives à $P < 0,05$.

Résultats

Dosage des phénols totaux et flavonoïdes

Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits des feuilles d'*A. triphylla* sont représentées dans la figure 1. L'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. triphylla* a présenté des teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes significativement ($P < 0,05$) plus élevées à celle trouvées dans l'extrait aqueux dont les teneurs sont respectivement $61,13 \pm 0,0$ (mg Eq AG/g), $6,81 \pm 0,1$ (mg Eq Q /g) et de $30,84 \pm 0,1$ (mg Eq AG/g), $6,42 \pm 0,1$ (mg Eq AG/g).

Un résultat similaire a été trouvé par [20], avec l'extrait méthanolique d'*A. triphylla* par rapport à celui de l'extrait aqueux dont la teneur en phénols totaux est de $770,7 \pm 2,2$ (mg GAE/100g). Par contre les résultats d'autres travaux [21] ont montré que l'extrait d'*A. triphylla* contient $1,55 \pm 0,10$ (mg GAE/g de poids frais) de phénols totaux. Dadé et al., [22] ont testé les extraits aqueux de 21 plantes, ils ont trouvé que la teneur en flavonoïdes de $0,50 \pm 0,04$, $0,33 \pm 0,03$ et $0,41 \pm 0,01$ ($\mu\text{mol Eq rutine /mg}$) respectivement pour les trois espèces de la famille de Verbenaceae (*A. triphylla*, *A. gratissima* et *A. polystachya*).

Activité anti-oxydante des extraits *in vitro*

Test au DPPH

L'activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux et hydro-alcoolique des feuilles d'*A. triphylla* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune.

Les résultats peuvent être exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire ou peuvent également être exprimés en utilisant le paramètre IC₅₀ [23]. L'IC₅₀ est inversement lié à la capacité anti-oxydante d'un composé,

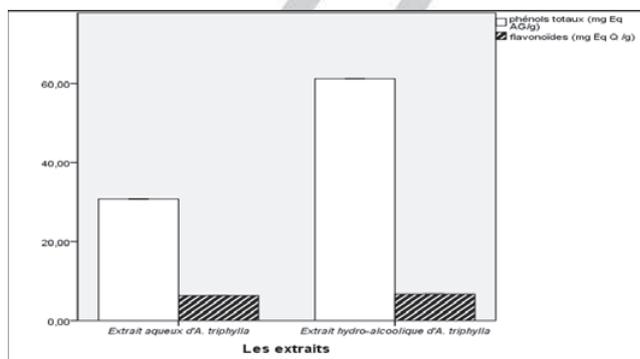


Fig. 1 Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits d'*A. triphylla*

donc plus la valeur d'IC₅₀ est basse, l'activité anti-oxydante d'un composé est grande.

L'IC₅₀ trouvée avec l'extrait aqueux d'*A. triphylla* ($27,40 \pm 0,1$ mg/ml) est significativement supérieure ($P < 0,05$) à celle trouvée avec l'extrait hydro-alcoolique ($23,52 \pm 0,035$ mg/ml). En revanche la valeur d'IC₅₀ trouvée avec le BHT est significativement inférieure ($P < 0,05$) à celle trouvée avec les deux extraits ($6,96 \pm 0,1$ mg/ml).

Test de blanchissement du β -carotène

Dans le test de blanchissement du β -carotène, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux libres due à l'abstraction d'un atome d'hydrogène à partir des groupes méthylène de l'acide linoléique [24]. Puis le radical libre va oxyder le β -carotène hautement insaturé. La présence des antioxydants dans l'extrait permet de minimiser l'oxydation du β -carotène par les hydro-péroxydes qui sont neutralisés [25].

L'extrait aqueux et hydro-alcoolique des feuilles d'*A. triphylla* ont montré un pourcentage de l'activité anti-oxydante de $82,87 \pm 0,141$ et $88,13 \pm 0,153\%$ respectivement. Ces valeurs sont significativement inférieures ($P < 0,05$) par rapport au BHT ou le pourcentage de l'activité anti-oxydante est de $96,19 \pm 0,195\%$ (Fig. 2).

Selon [26], un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et un antioxydant secondaire.

La capacité anti-oxydante totale

La capacité anti-oxydante totale a été mesurée par un spectrophotomètre en utilisant la méthode de phosphomolybdate qui est basée sur la réduction de Mo(VI) en Mo(V) en présence des antioxydants et la formation d'un complexe phosphate/Mo(V) d'une couleur verte mesuré à 695 nm. La capacité anti-oxydante totale des extraits des feuilles d'*A.*

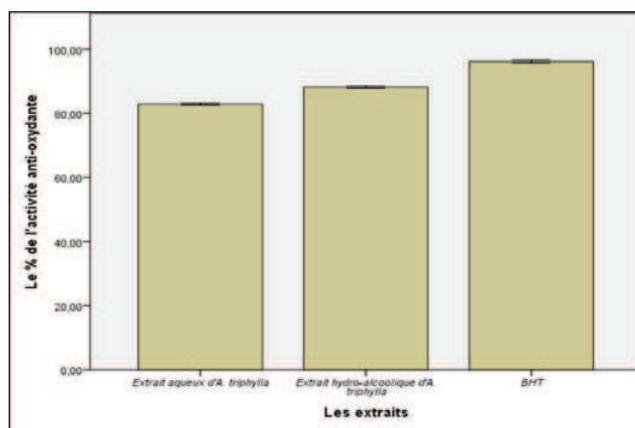


Fig. 2 Pourcentage de l'activité anti-oxydante de différents extraits d'*A. triphylla* par le test de blanchissement du β -carotène

triphylla est exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg Eq AA/g d'extrait) (Fig. 3). La capacité anti-oxydante totale trouvée avec l'extrait aqueux est de 173.50 ± 0.044 mg Eq AA/g d'extrait, tandis que l'extrait hydro-alcoolique a montré une capacité anti-oxydante totale significative ($P < 0,05$) par rapport à celle trouvée avec l'extrait aqueux (270.14 ± 0.1 mg Eq AA/g d'extrait). Par contre le BHT a révélé une capacité anti-oxydante totale significative ($P < 0,05$) par rapport à celle des extraits d'*A. triphylla* ($401,01 \pm 1,24$ mg Eq AA/g). Cette bonne capacité anti-oxydante peut être attribuée à la présence des composés phénoliques dans ces extraits.

Méthode de FRAP

Le potentiel antioxydant des extraits des feuilles d'*A. triphylla* a été déterminé par la méthode de FRAP basée sur l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le TPTZ-Fe (III) à TPTZ-Fe (II).

Cette étude a montré que le potentiel antioxydant de l'extrait aqueux d'*A. triphylla* ($12,90 \pm 0,1$ moles de Fe(II)/g d'extrait) a été significativement ($P < 0,05$) en comparaison avec celui de l'extrait hydro-alcoolique ($6,63 \pm 0,1$ moles de Fe (II)/g d'extrait).

Ces résultats démontrent que les extraits d'*A. triphylla* ont marqué la capacité de réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) et donc neutraliser les radicaux libre en donnant des électrons.

Méthode de FTC

La figure 4 montre le pourcentage d'inhibition de la peroxydation des lipides exercé par les deux extraits. L'extrait aqueux d'*A. triphylla* a présenté significativement ($P < 0,05$) le pourcentage d'inhibition le plus élevé ($59,91 \pm 0,011\%$) suivi par l'acide gallique $59,30 \pm 0,1\%$, par contre il n'y a pas une différence significative entre l'extrait hydro-alcoolique et l'acide ascorbique où les pourcentages d'inhi-

bition enregistrés sont respectivement de $52,93 \pm 0,1$ et $52,81 \pm 0,1\%$.

Discussion

Les composés phénoliques présents dans les plantes sont des bons antioxydants naturels [27], la plupart des thérapies médicamenteuses implique l'utilisation des extraits de plantes ou de leurs composants actifs, dont certains ont été présentés pour afficher une activité anti-oxydante [28].

D'après cette étude, il a été observé que l'extrait hydro-alcoolique d'*A. triphylla* a présenté significativement ($P < 0,05$) la teneur la plus élevée en phénols totaux et en flavonoïdes. Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différents solvants et de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études. Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques, des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en composés phénoliques [29].

Nos résultats indiquent que les antioxydants contenus dans les extraits des feuilles d'*A. triphylla*, notamment les composés phénoliques et les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres et réduire les oxydants.

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques qui sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes. Ils sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées [30].

L'action anti-oxydante de ces phytonutriments ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation des traces

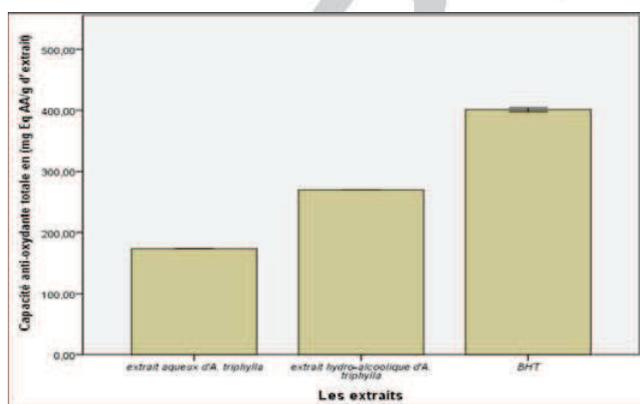


Fig. 3 Capacité anti-oxydante totale (en mg Eq AA/g d'extrait) des extraits d'*A. triphylla*

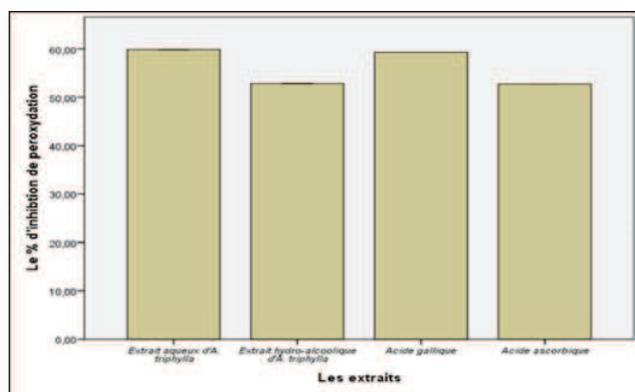


Fig. 4 Pourcentage d'inhibition de peroxydation des lipides des extraits d'*A. triphylla* par la méthode FTC

d'ions métalliques responsables de la production de ROS [31].

D'autres études ont montré que les flavonoïdes sont des bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase qui est une source biologique importante du radical superoxyde [32,33].

Les flavonoïdes sont également connus pour modifier les activités des enzymes comme la protéine kinase C, la protéine tyrosine kinase, aldose-réductase, la myéloperoxydase, la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, la phospholipase, la transcriptase inverse, l'ornithine décarboxylase, lipoxygénase et cyclooxygénase. Certaines de ces enzymes sont impliquées dans les fonctions immunitaires, la cancérogénèse, les transformations cellulaires, la croissance tumorale et les métastases. La fonction anti-oxydante et la modification d'action enzymatique des flavonoïdes expliquent beaucoup leurs activités pharmacologiques [34,35].

Le nombre de groupes hydroxyle phénoliques peut jouer un rôle important dans l'activité de piégeage des radicaux libres [36,37]. Les rapports de la littérature montrent que les composés hydroxyle dans la position ortho-aromatique, comme la quercétine, ont une activité anti-oxydante contre les ROS [38]. En présence d' H_2O_2 , des composés phénoliques tel que l'ortho-quinol subit une réaction de réduction à générer les ortho-quinones et de l'eau en tant que produits [38,39]. Le verbascoside est un principe actif d'*A. triphylla* [40] a quatre groupes hydroxyle dans leurs structures sont capables de subir des réactions d'oxydation en présence de peroxydes [38,41].

Les composés phénoliques peuvent aussi protéger les constituants cellulaires contre les dommages oxydatifs et, par conséquent, de limiter les risques dégénératives des maladies associées au stress oxydatif [42].

Conclusion

D'après nos résultats, nous pouvons suggérer que les extraits des feuilles d'*A. triphylla* ont une importante activité anti-oxydante qui est due à la présence des composés phénoliques tels que les flavonoïdes. Sur la base de ces propriétés et la réalisation d'autres études *in vitro* et *in vivo* pour connaître mieux les propriétés pharmacologiques de cette plante, il sera possible de l'utiliser comme une matière première pour formuler de nouveaux produits (antioxydants naturels, conservateurs) destinés à l'industrie pharmaceutique où l'industrie agro-alimentaire.

Liens d'intérêts : Texte à venir

Références

- Paganga G, Miller N, Rice-Evans CA (1999) The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute? *Free Radical Res* 30: 153–62
- Scalbert A, Williamson G (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols, *J Nutr* 130: 2073S–85S
- Spiridon I, Bodirlau R, Teaca CA (2011) Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Cent.Eur J Biol* 6(3): 388–96
- Bruneton J (1993) *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales*, Tec&Doc, Lavoisier, Paris p 915–6
- Ragone M, Sella M, Conforti P, et al (2007) The spasmolytic effect of *Aloysia citriodora*, Palau (South American cedron) is partially due to its vitexin but not isovitexin on rat duodenum. *J Ethnopharmacol* 113: 258–66
- Pascual ME, Slowing K, Carretero E, et al (2001) *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol* 276: 201–14
- Büyükbacı A, Nehir El S (2008) Determination of In Vitro Antidiabetic Effects, Antioxidant Activities and Phenol Contents of Some Herbal Teas. *Plant Foods Hum Nutr* 63: 27–33
- Peixoto JRO, Silva GC, Costa RA, et al (2011) *In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. *Asian Pac J Trop Med* 201–4
- Wong SP, Leong LP, William KJH (2006) Antioxidant activities of extracts of selected plants. *Food Chem* 99: 775–83
- Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, et al (1999) Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *J Agric Food Chem* 47: 3954–62
- Zhou X, Peng J, Fan G, Wu Y (2005) Isolation and purification of flavonoid glycosides from *Trollius lebebouri* using high-speed counter-counter chromatography by stepwise increasing the flow-rate of the mobile phase. *J Chromatogr A* 1092 : 216–21
- Wu N, Fu K, Fu YJ, et al (2009) Antioxidant Activities of Extracts and Main Components of Pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] leaves. *Molecules* 14:1032–43
- Miliauskas G, Venskutonis PR, van Beck TA (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem* 85: 231–7
- Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA, et al (2006) Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem* 95: 200–4
- Anusuya N, Gomathi R, Manian S, et al (2012) Evaluation of *basella rubra* L., *Rumex nepalensis* Spreng. and *Commelina benghalensis* L. for antioxidant activity. *Int J Pharm Pharm Sci* 4(3): 714–20
- Sahu AN, Laloo D (2011) Antioxidant activities of three Indian commercially available Nagakesar: An *in vitro* study. *J Chem Pharm Res* 3(1): 277–83
- Mašković PZ, Manojlović NT, Mandić AI, et al (2012) Phytochemical screening and biological activity of extracts of plant species *Halacsya sendtneri* (Boiss.) Dörf. *Hem. Ind* 66 (1): 43–51
- Benzie IFF, Strain JJ (1996) The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power "The FRAP Assay". *Anal Biochem* 239: 70–6
- Gülçin İ, Elias R, Gepdiremen A, et al (2007) A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) extracts. *Afr J Biotechnol* 6(4): 410–8
- Yoo KM, Lee CH, Lee H, et al (2008) Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chem* 106: 929–36
- Zheng W, Wang SY (2001) Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J Agric Food Chem* 49 (11): 5165–70

22. Dadé MM, Fioravanti DE, Schinella GR, et al (2009) Total antioxidant capacity and polyphenol content of 21 aqueous extracts obtained from native plants of Traslasierra valley (Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 8 (6): 529–39
23. Markowicz Bastos DH, Saldanha LA, et al (2007) Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguayensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules* 12: 423–32
24. Kumaran A, Karunakaran RJ (2006) Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem* 97: 109–14
25. Mariod AA, Ibrahim RM, Ismail M, et al (2009) Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chem* 116: 306–12
26. Liyana-Pathirana CM, Shahidi F (2006) Antioxidant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivium* L.) and their milling fractions. *J Sci Food Agr* 86: 477–85
27. Wangcharoen W, Morasuk W (2007) Antioxidant capacity and phenolic content of chilies. *Kasetsart J Nat Sci* 41: 561–9
28. Craig WJ (1999) Health-promoting properties of common herbs. *Am J Clin Nutr* 70: 491S–9S
29. Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, et al (2008) Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *CR Biologies* 331: 372–9
30. Fuhrman B, Lavy A, Aviram M (1995) Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am J Clin Nutr* 61: 549–54
31. Cotelle N (2000) Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr Top Med Chem* 1: 569–90
32. Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S (1994) The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic Biol Med* 16: 845–50
33. Cos P, Ying L, Calomme M, Hu JP, et al (1998) Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J Nat Prod* 61: 71–6
34. Kohlmeier L, Hastings SB (1995) Epidemiologic evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention. *Am J Clin Nutr* 62: 1370–6
35. Santos AC, Uyemura SA, Lopes JL, et al (1998) Effects of naturally occurring flavonoids on lipid peroxidation and membrane permeability transition in mitochondria. *Free Radic Biol Med* 24: 1455–61
36. Van Acker SA, Koymans LM, Bast A (1993) Molecular pharmacology of vitamin E: structural aspects of antioxidant activity. *Free Rad Biol Med* 15: 311–28
37. Justino CG, Santosa MR, Canario S, et al (2004) Plasma quercetin metabolites: structure-antioxidant activity relationships. *Arch Biochem Biophys* 432: 109–21
38. Soobrattee MA, Neergheen VS, Luximon-Ramma A, et al (2005) Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutat Res* 579: 200–13
39. Dewick PM (2002) *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*. 2nd ed. John Wiley & Sons Ltd. England
40. Carnat A, Carnat AP, Fraisse D, et al (1999) The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. *Fitoterapia* 70: 44–9
41. Zhou A, Sadik AO (2008) Comparative analysis of quercetin oxidation by electrochemical, enzymatic, autoxidation, and free radical generation techniques: A mechanistic study. *J Agric Food Chem* 56: 12081–91
42. Luqman S, Rizvi SI (2006) Protection of lipid peroxidation and carbonyl formation in proteins by capsaicin in human erythrocytes subjected to oxidative stress. *Phytother Res* 20: 303–6

Annexes

ANNEXES

Annexe I : Les tests *in vitro*

1/ Les courbes d'étalonnages

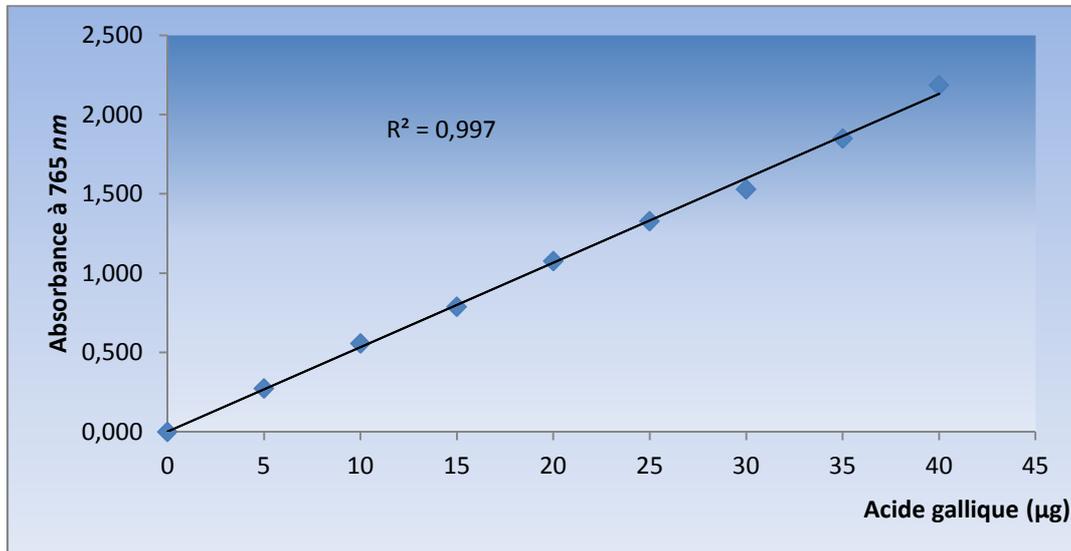


Figure 34 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique à 765 nm.

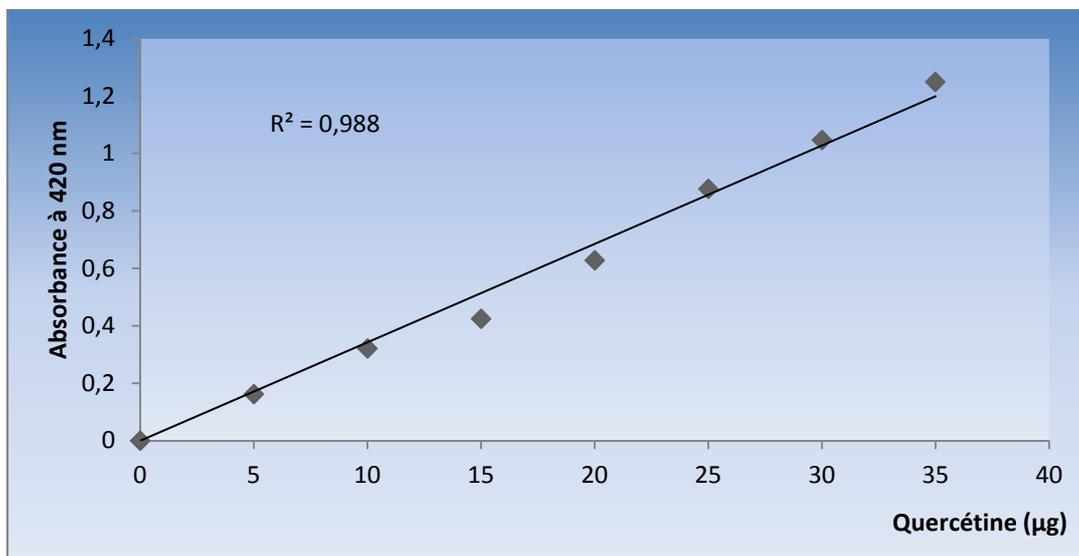


Figure 35 : Courbe d'étalonnage de la quercétine à 420 nm.

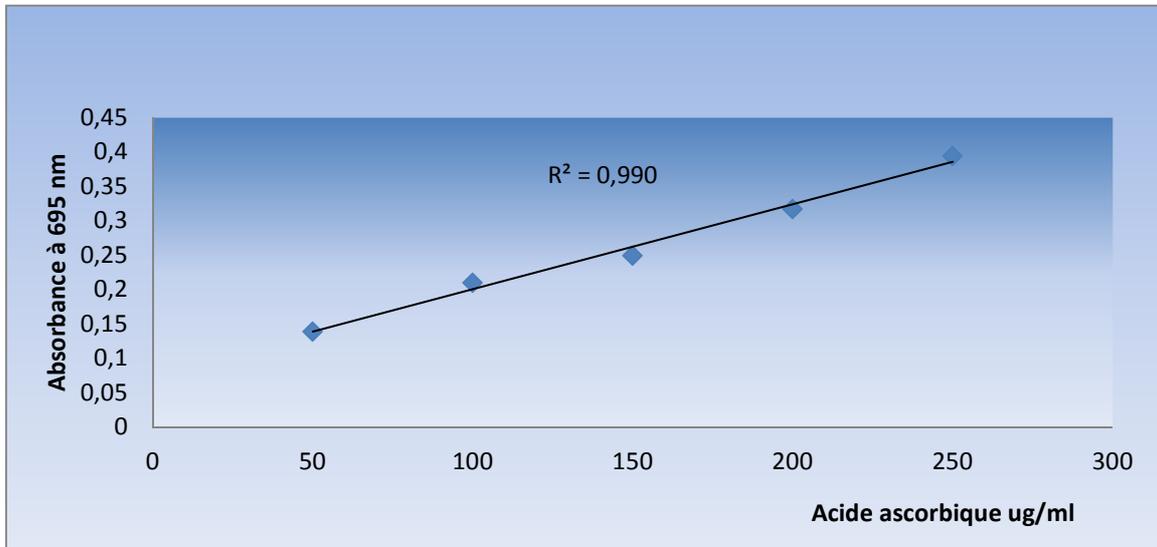


Figure 36 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique à 695 nm.

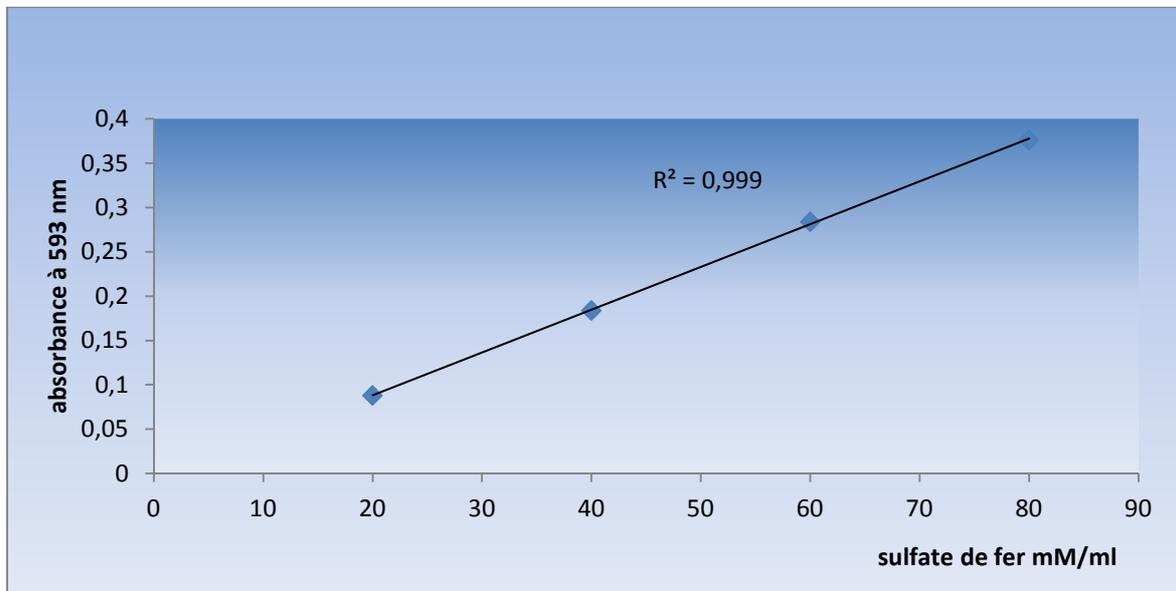


Figure 37 : Courbe d'étalonnage de Sulfate de fer à 593 nm.

2/ Figures des résultats de l'activité antibactérienne des différents extraits testés.



Figure 38 : Effets des extraits aqueux sur *C. freundii*.

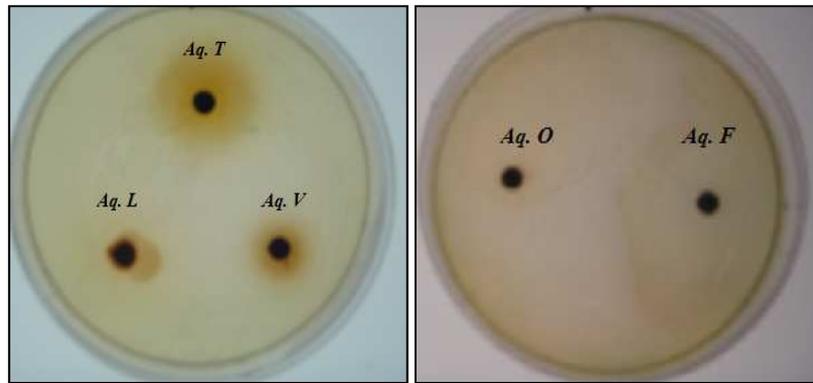


Figure 39 : Effets des extraits aqueux sur *P. aeruginosa* ATCC 27853.

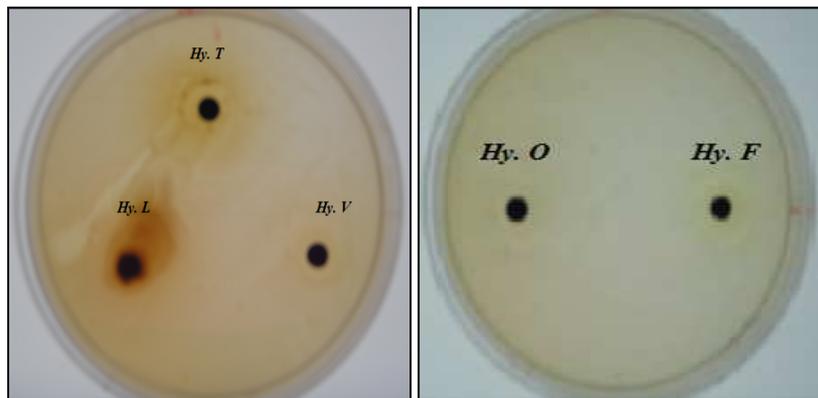


Figure 40 : Effets des extraits hydro-alcooliques sur *E. coli*.

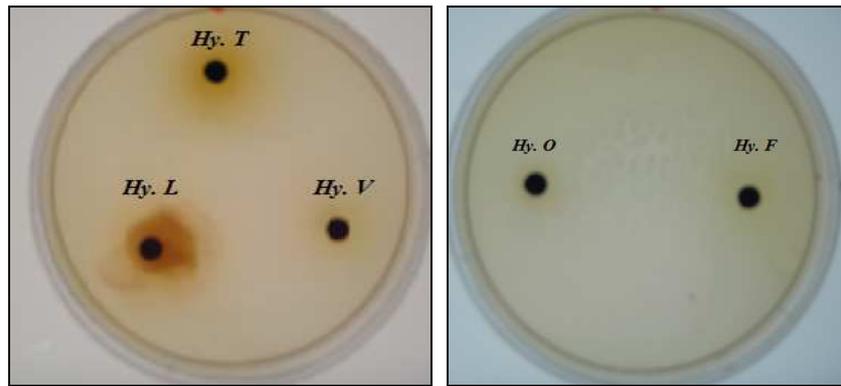


Figure 41 : Effets des extraits hydro-alcooliques sur *P. vulgaris*.

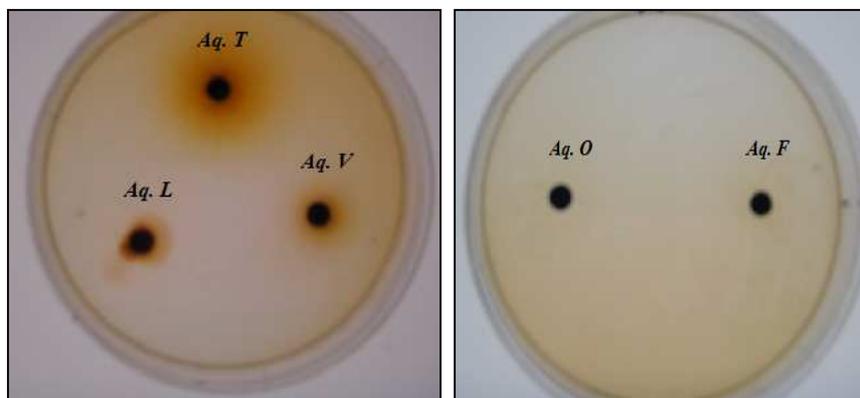


Figure 42 : Effets des extraits aqueux sur *P. mirabilis*.

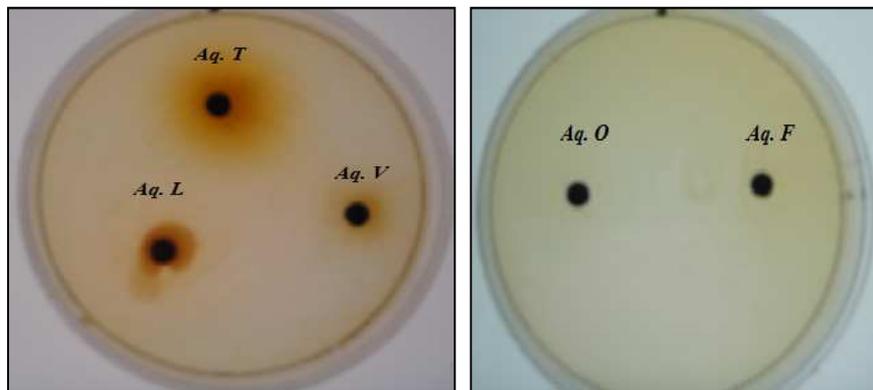


Figure 43 : Effets des extraits aqueux sur *S. typhimurium*.

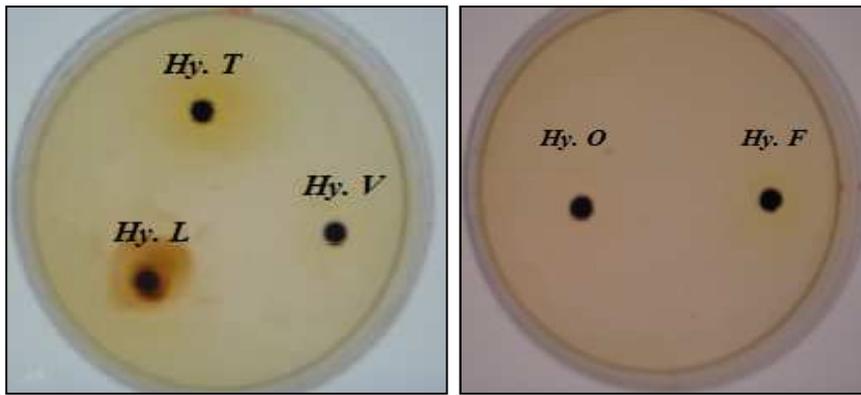


Figure 44 : Effets des extraits hydro-alcooliques sur *S. aureus* ATCC25923.

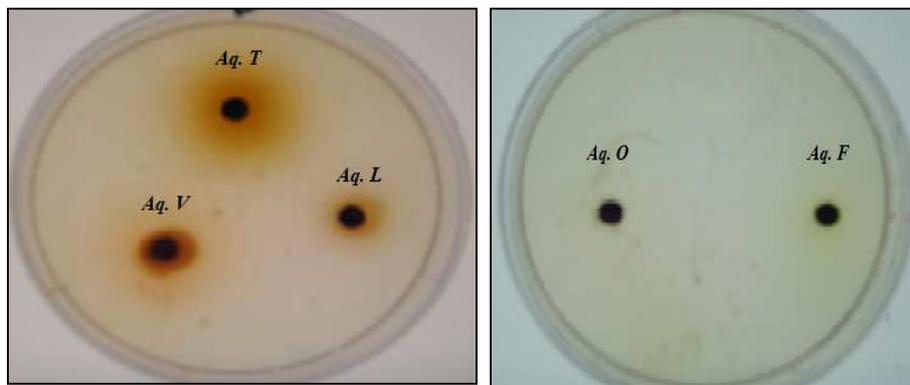


Figure 45 : Effets des extraits aqueux sur *E. coli* ATCC25922.

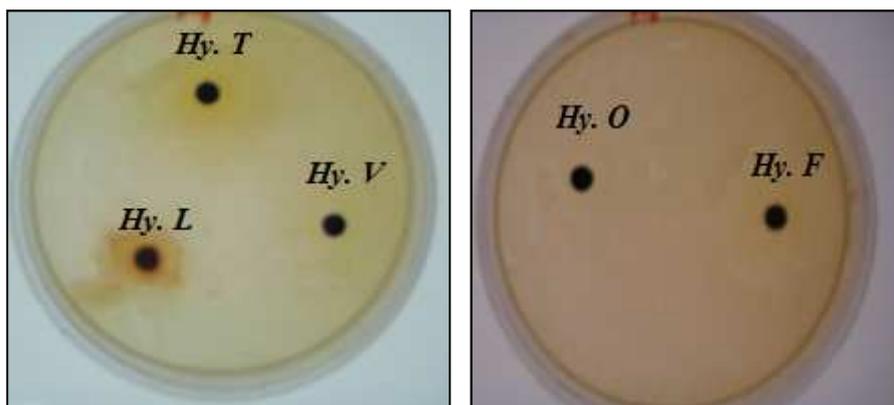


Figure 46 : Effets des extraits hydro-alcooliques sur *P. mirabilis*.

Annexes

Tableau 9 : Résultats de l'Antibiogramme.

Bactéries	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.freundii</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.mirabilis</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
								<i>ATCC25922</i>	<i>ATCC25923</i>	<i>ATCC 27853</i>
Extraits										
Ampicilline (A)	00.00 ± 00	21.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00
Pénicilline (P)	19.00 ± 00	52.00 ± 00	13.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	15.00 ± 00	00.00 ± 00	18.00 ± 00	14.00 ± 00	00.00 ± 00
Tobramycine(Tob)	29.00 ± 00	21.00 ± 00	36.00 ± 00	28.00 ± 00	08.00 ± 00	08.00 ± 00	18.00 ± 00	26.00 ± 00	24.00 ± 00	28.00 ± 00
Kanamycine (K)	28.00 ± 0.0	00.00 ± 00	32.00 ± 00	16.00 ± 00	00.00 ± 00	09.00 ± 00	00.00 ± 00	26.00 ± 00	00.00 ± 00	15.00 ± 00
Spectinomycine(SH)	30.00 ± 0.0	28.00 ± 00	29.00 ± 00	30.00 ± 00	32.00 ± 00	20.00 ± 00	19.00 ± 00	31.00 ± 00	25.00 ± 00	30.00 ± 00
Gentamycine (GN)	28.00 ± 00	27.00 ± 00	27.00 ± 00	27.00 ± 00	29.00 ± 00	25.00 ± 00	25.00 ± 00	28.00 ± 00	22.00 ± 00	00.00 ± 00
Oxacilline (OX)	00.00 ± 00	21.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	00.00 ± 00	00.50 ± 00	00.00 ± 00



Figure 47 : Résultats de l'antibiogramme de *S. aureus*.



Figure 48 : Résultats de l'antibiogramme de *P. aeruginosa* ATCC 27853.

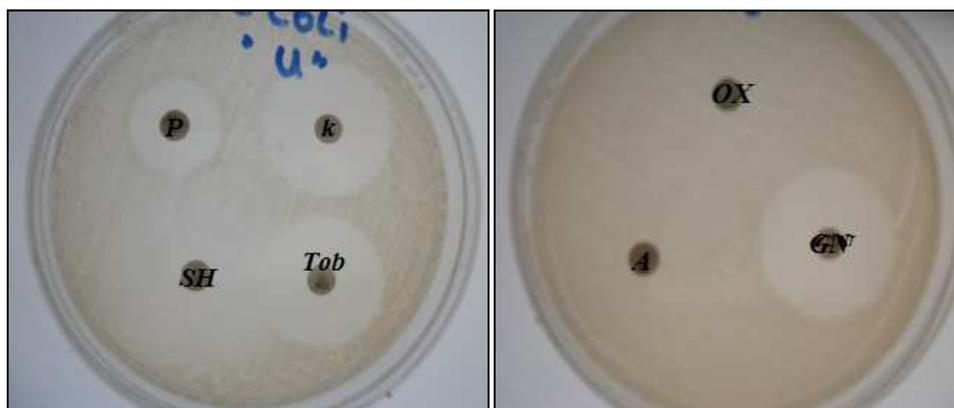
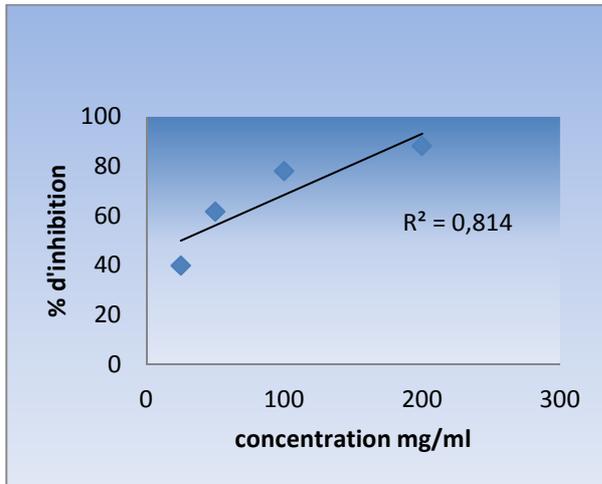
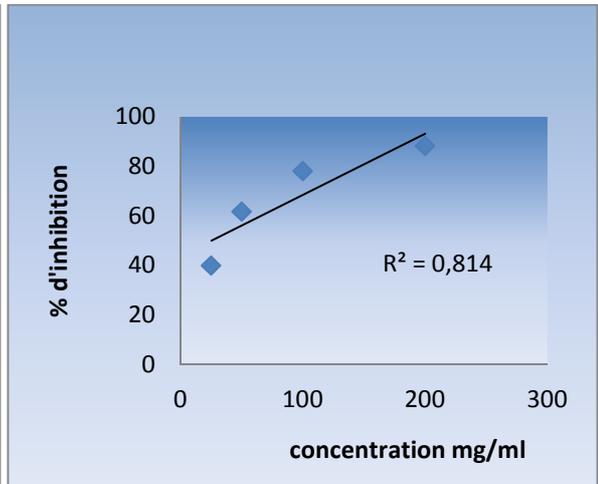


Figure 49 : Résultats de l'antibiogramme d'*E. coli*.

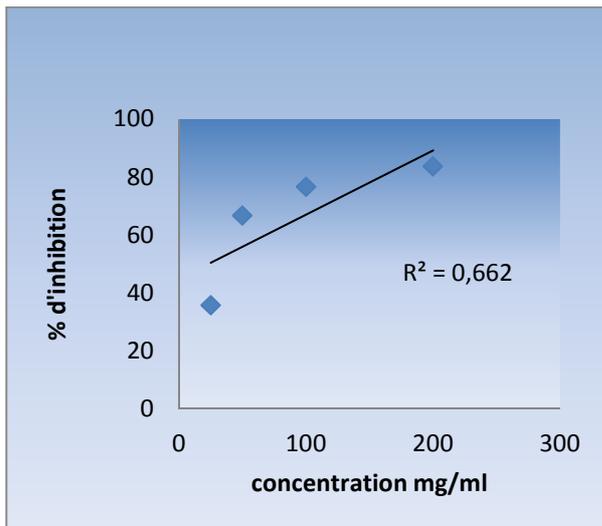
3/ Figures 50 : des courbes [% inhibition = f (concentration)] pour le calcul des IC50 (Test au DPPH)



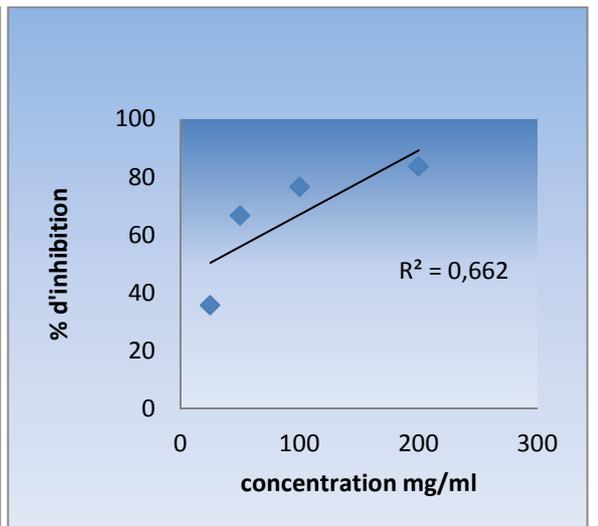
Courbe de l'extrait aqueux de Thym



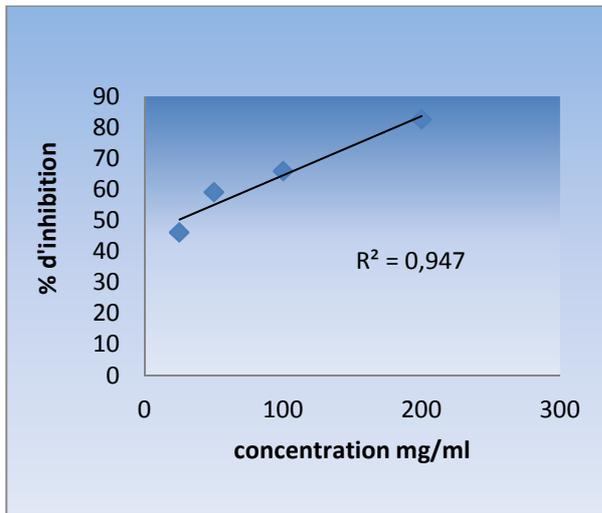
Courbe de l'extrait hydro-alcoolique de Thym



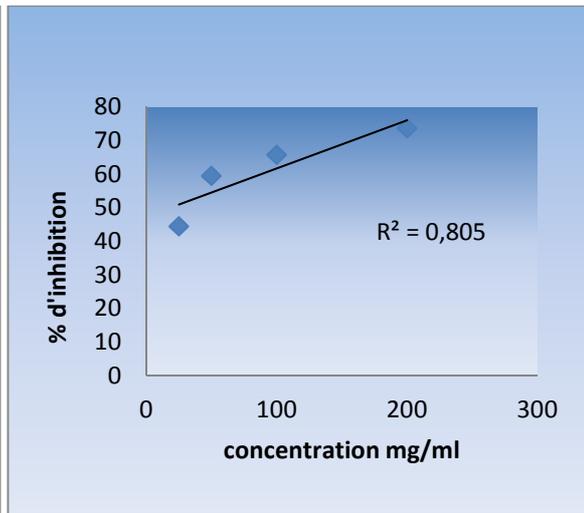
Courbe de l'extrait aqueux de Verveine



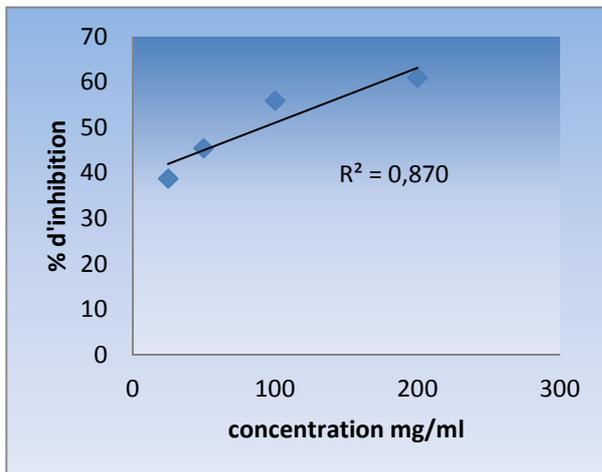
Courbe de l'extrait hydro-alcoolique de Verveine



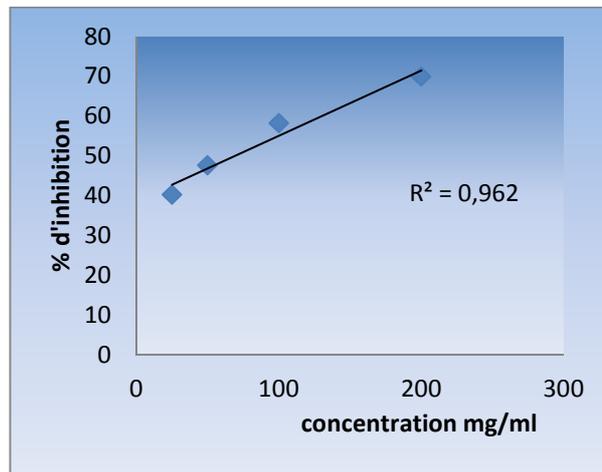
Courbe de l'extrait aqueux de Lentisque



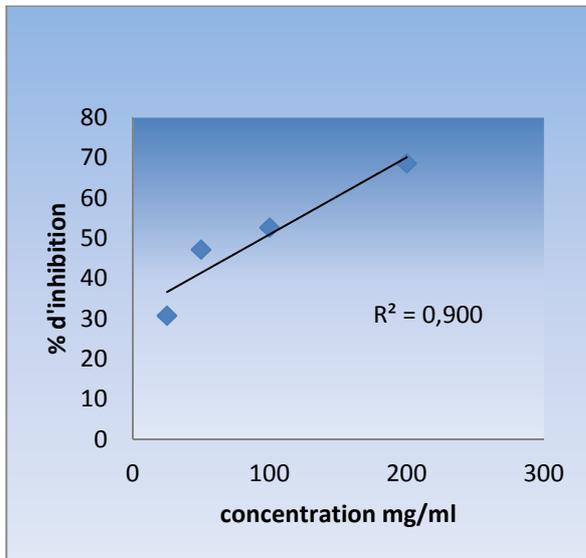
Courbe de l'extrait hydro-alcoolique de Lentisque



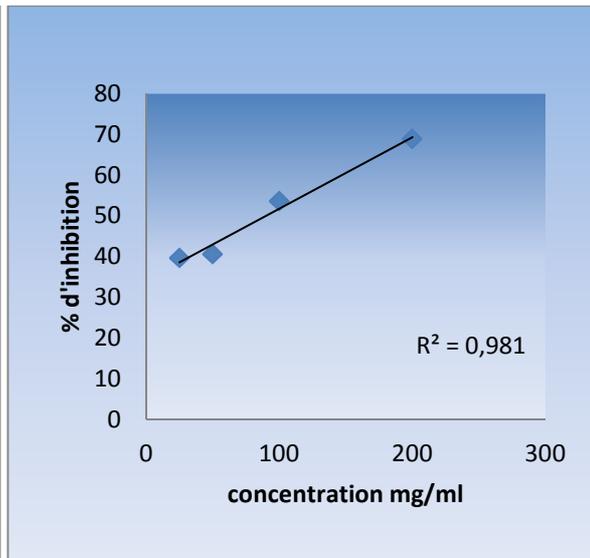
Courbe de l'extrait aqueux de l'Olivier



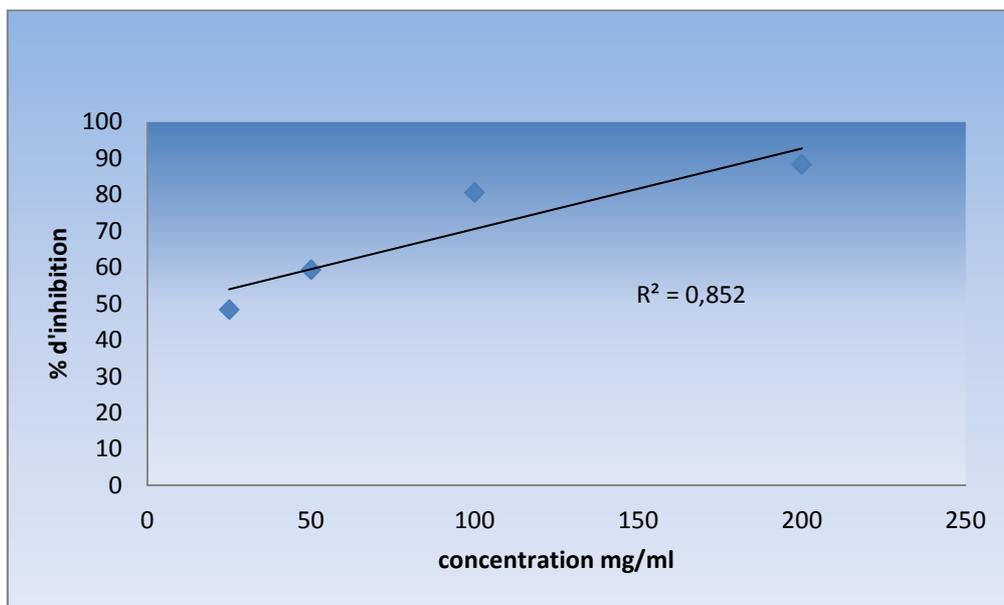
Courbe de l'extrait hydro-alcoolique de l'Olivier



Courbe de l'extrait aqueux de Fenugrec



Courbe de l'extrait hydro-alcoolique de Fenugrec



Courbe de standard BHT

Annexe II : Les tests *in vivo*



Figure 51 : Les souris *swiss albino*.



Figure 52 : L'injection de la carragénine.



Figure 53 : L'administration orale des extraits des plantes.



Figure 54 : Mesure du volume de la patte par le pied à coulisse.



Figure 55 : Echantillons du sang des souris pour déterminer le bilan lipidique.

المخلص

أظهرت المنتجات الطبيعية والمركبات الثانوية للنباتات إمكانيات كبيرة في علاج الأمراض التي تصيب الإنسان مثل السرطان والسكري والأمراض المعدية. من أجل هذا كان الهدف من هذا العمل هو لإختبار النشاط المضاد للبكتيريا وتقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال خمس طرق مع تحديد محتوى الفينولات الإجمالية، الفلافونيدات و التركيب الكيميائي باستخدام HPLC ، وكذلك دراسة النشاط المضاد للإلتهابات و المضاد لنسبة الكوليستيرول العالية في الدم، و أجريت هذه الدراسة على المستخلصات المائية والهيدروكحولية لأوراق الزعتر الشائع ، اللوزة، الضرو، الزيتون و بذور الحلبة. تم العثور على أعلى محتوى من الفينولات الإجمالية والفلافونيدات مع المستخلص الهيدروكحولي لأوراق الضرو 97.26 ± 0.003 ملغ معادلة للأسيد غاليك / غ و 8.21 ± 0.008 ملغ معادلة للكارستين / غ، على التوالي . وأظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا على وجود نشاط معتدل ضد البكتيريا المدروسة حيث لم تتجاوز أقطار المناطق المثبطة 16.00 ملم . فيما يخص لنشاط المضاد للأكسدة أظهرت المستخلصات الهيدروكحولية نشاطا عاليا ($P < 0.05$) بالمقارنة مع المستخلصات المائية وهذا في اختبار DPPH ، تبييض β كاروتين، القدرة المضادة للأكسدة الإجمالية وطريقة FRAP. أما باستخدام أسلوب FTC، فإن المستخلصات المائية مارست أعلى نشاط ($P < 0.05$) ، حيث وجدت أعلى نسبة تثبيط للبيروكسيدات مع المستخلص المائي للزعتر الشائع 62.30 ± 0.00 % . *In vivo* ' فقد أثبتت المستخلصات من النباتات المختبرة نشاطا ضد الإلتهاب الناجم عن حقن الكاراجينان، وكذلك القدرة على خفض نسبة الكوليسترول الكلي، الدهون الثلاثية و LDL من خلال إتباع نظام غذائي يحتوي على كمية مرتفعة من الكوليستيرول. في ضوء هذه النتائج، فإننا نقترح استخدام هذه النباتات أو مكوناتها في الوقاية من العديد من الأمراض.

مفاتيح البحث: المستخلصات النباتية، HPLC، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للإلتهابات، نشاط خفض الكوليستيرول.

Abstract

Natural products and secondary metabolites showed great potential in the treatment of human diseases such as cancer, diabetes and infectious diseases. The objective of this work is to test the antibacterial activity; antioxidant activity through five methods to determine the content of total phenols, flavonoids; the determination of the chemical composition by HPLC and study the anti-inflammatory and hypocholesterolemic activity (*in vivo*) of aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Thymus vulgaris*, *Aloysia triphylla*, *Pistacia lentiscus*, *Olea europaea* leaves and *Trigonella foenum-graecum* seeds.

The highest levels of total phenols (97.26 ± 0.003 mg AG Eq / g) and flavonoids (8.21 ± 0.008 mg Q Eq / g) were found with the hydro-alcoholic extract of leaves of *P. lentiscus*. The results of antibacterial activity showed inhibition zone diameters of not more than 16.00 mm. The hydro-alcoholic extracts showed higher antioxidant activity ($P < 0.05$) compared to aqueous extracts with four methods (test of DPPH, bleaching of β -carotene, total antioxidant capacity and method of FRAP). In contrast with the FTC method, the aqueous extracts exert the highest activity ($P < 0.05$) the percentage of inhibition of the largest peroxidation was found with the aqueous extract of *T. vulgaris* ($62.30 \pm 0.00\%$). The extracts of the plants tested have showed *in vivo* an activity against inflammation induced by injection of carrageenan, and the ability to reduce total cholesterol, triglycerides and LDL in the blood at a high cholesterol diet. In light of these results, we suggest the use of these plants or their components in the prevention of several diseases.

Keywords: Plant extracts, HPLC, Antibacterial activity, Antioxidant activity, Anti-inflammatory activity, Hypocholesterolemic activity.