

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie
Spécialité/Option: Immunologie approfondie
Département: Biologie

Thème

Etude phytochimique et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de certains extraits d'une plante médicinale : *Myrtus communis L.*

Présenté par :

BRAHMIA Amina

CHENICHENE Asma

KEHILI Zineb

Devant la commission composée de :

MESSIED.R

BOUDEN.I

MAAIRIF.S

BOUSNANE.H

DJAMAA.F

KAIDLS

Président

Encadreur

Examineur

Membre

Membre

Membre

Université de Guelma

Juin 2017

Remerciements

Nous exprimons d'abordons profonds remerciements à ALLAH, le tout puissant, qui nous a données le courage et la volonté d'achever ce travail.

Nous remercions vivement Mme Messied R, d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de notre mémoire de master.

Nous exprimons nos profonds remerciements à Mme .MAAIRJF. S, pour avoir accepté d'examiner et juger ce modeste travail.

Nos sincères remerciements vont à notre encadreur Monsieur BOUDEN ISMAIL, pour son orientation ficelée tout au long de notre recherche, sa confiance, ses précieux conseils, sa grande disponibilité, sa patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon port.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant l'assistance Et de l'enrichir par leurs propositions Mme :BOUSNANE H, DJEMAA .F, KAIDIS

Aux responsables de laboratoire Mme: RATIBA, GHANIA, HOURIA, ASMA ET leur aide.

Qu'elle trouve ici nos sentiments de gratitude et de déférence.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Nous remercions nos collègues et nos amis pour les sympathiques moments qu'on a passés Ensemble.

ASMA

ZINEB

AMINA

Dédicaces

A mes chers parents, pour leur amour, leur soutien et tous leurs sacrifices

A mon mari

A mes chères sœurs

A mes chers frères

A mes tantes et mes oncles.

A mes cousins et cousines.

Avec qui j'ai partagé les moments les plus durs et les

plus beaux. Au nom de notre amitié et des liens

fraternels qui nous unissent.

Amina

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes parents, qui tout au long de mon existence m'ont couvert d'amour et d'affection et pour leur efforts pour faire de moi ce que je suis.

*A Mes très chère frères et sœurs : Hakim, Amar,
Sabrina, Amel*

*A tous mes amies et collègues : Amina, Zineb, Rima,
Samah, Basma.....*

*A tous ceux que j'ai oublié de citer mais Qui existent au fond de mon
cœur et de ma pensée.*

Asma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma
MÈRE.

A mon PÈRE, écolle de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années d'études, et qui a veillé au long de ma vie à m'encourager, à m'aider et à me protéger.

Que dieu les garde et les protège.

A Mes adorables sœurs : FARAH, NOUR AL HOUDA, HADIL

A tous mes amies surtout : MARWA, RANIA, FARAH, LOUBNA

A mes chères camarades de travail : AMINA et ASMA

À tous ceux qui me sont chères et qui m'aiment

Je dédie ce travail.

Zineb

الملخص

جزء كبير من الاهتمام في البحوث الجارية على دراسة الجزيئات المضادة للالتهابات ومضادات الأكسدة من مصادر طبيعية.

يهدف عملنا في إجراء دراسة فيتو كيميائية وتقدير النشاط المضاد للالتهاب لبعض المستخلصات الخام لكل من الأوراق والثمار لنبات الريحان (*Myrtus communis*).

وقد أبرزت الاختبارات الفيتو كيميائية عن وجود مركبات الفلافونويدات، العفص، الستيروول، التربينات، الكومارين وحليكو سيدات في غياب كلي للقلويدات.

المحتوى الاجمالي للفينولات والفلافونيدات متغير بين مختلف اجزاء النبات حيث تم تقدير أعلى معدل من البوليفينول في المستخلص المائي للفاكهة حيث قدر ب ($94,02 \pm 2.13$ mg GAE/g) يليها مستخلص الميثانولي للأوراق ($129,23 \pm 2.30$ mg GAE/g). وفيما يتعلق بلفلافونويد، لاحظنا مستويات متقاربة بين مختلف المستخلصات الخام المدروسة لكل من الاوراق و الثمار حيث قدر ب (16.56 ± 2.05 mg EC/g و $15,25 \pm 0.53$ mg EC/g) على التوالي.

تم تقييم النشاط المضاد الالتهاب مخبريا لمختلف المستخلصات الخام للنبته المدروسة و ذلك بطريقة تخريب البنية الفراغية للبروتين مصل البومين البقر (BSA) والاستقرار في أغشية خلايا الدم الحمراء البشرية.

اظهرت المستخلصات الخام المستخرجة من نبات الريحان قدرة معتبرة في خفض مستوى تخريب البنية الفراغية للبروتين حيث تم تسجيل اقصي حد للتثبيط التخريب بواسطة المستخلص الميثانولي للفاكهة 73.06% و ذلك بجرعة 2000 ميكروغرام / مل. كما أن لديها القدرة على حماية تحلل الغشاء و قد تم تسجيل اعلى معدل لتثبيط و حماية الغشاء مع المستخلص الميثانولي بنسبة 69.66% جرعة 1500 ميكروغرام / مل.

الكلمات المفتاحية : الريحان، دراسة الفيتو كيميائية ، النشاط المضاد للالتهابات في المختبر.

Résumé

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules anti-inflammatoire et antioxydants d'origine naturelle.

Notre travail vise à faire une étude phytochimique et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts de deux parties de *Myrtus communis* L. Feuilles et fruits.

Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence des flavonoïdes, des tanins, des stérols et triterpènes, des coumarines et des glycosides et l'absence des alcaloïdes dans les deux parties de la plante étudiée.

La teneur des phénols totaux et des flavonoïdes est variable entre les différentes parties de *Myrtus communis* L. La teneur la plus élevée des polyphénols est constatée dans l'extrait infusé des fruits avec une teneur de $94,02 \pm 2.13$ mg GAE/g suivi par les feuilles dans l'extrait de méthanol 70 %, elle est de l'ordre de $129,23 \pm 2.30$ mg GAE/g. Concernant les flavonoïdes, nous avons observé des teneurs rapprochées pour l'extrait infusé dans la partie feuille et fruit de la plante, elles représentent une teneur de 16.56 ± 2.05 mg EC/g et $15,25 \pm 0.53$ mg EC/g respectivement.

L'activité inflammatoire in vitro des différents extraits a été évaluée par deux méthodes ; la dénaturation du BSA et la stabilisation des membranes des globules rouges humains. Les extraits bruts de *Myrtus communis* présentent une capacité intéressante pour réduire le taux de la dénaturation des protéines, un maximal taux d'inhibition a été enregistré avec l'extrait méthanolique des fruits avec une valeur de 73.06 % à la dose 2000 µg/ml. Ils présentent aussi une capacité de la protection de la lyse de la membrane, un maximal taux d'inhibition et de protection de la membrane enregistré avec l'extrait méthanolique des feuilles avec 69.66% à la dose 1500 µg/ml.

Mots clés : *Myrtus communis* L., étude phytochimique, activité anti inflammatoire in vitro

Abstract

A large part of the interest of the current research focuses on the study of molecules anti-inflammatory and antioxidants of natural origin.

Our work aims to make a study phytochemical and the anti-inflammatory activity of crude extracts of two parts of *Myrtus communis* L. Leaves and fruit.

The phytochemical tests carried out have helped to highlight of flavonoids, tannins, sterols and triterpenes, coumarins and glycosides and the absence of alkaloids in the two parts of the plant studied.

The content of total phenols and flavonoids is variable between the different parts of *Myrtus communis* L. The content the higher of the polyphenols is found in the extract infused fruit with a content of 94.02 ± 2.13 mg GAE/g followed by the sheets in the methanol extract 70%, it is of the order of $129, 23 \pm 2.30$ mg GAE/g. Concerning the flavonoids, we observed levels reconciled for the extract infused in part sheet and fruit of the plant, they represent a content of 16.56 ± 2.05 mg EC/G and 15.25 ± 0.53 mg EC/g respectively.

The inflammatory activity in vitro of different extracts was assessed by two methods; denaturation of the BSA and the stabilization of the Membranes of red blood cells humans. The crude extracts of *Myrtus communis* have a capacity interesting for reducing the rate of denaturation of proteins, maximum rate of inhibition was recorded with the methanolic extract of the fruits with a value of 73.06 % has the dose of 2000 $\mu\text{g/ml}$. They also have a capacity of the protection of the lysis of the membrane, maximum rate of inhibition and of protection of the registered membrane with the methanolic extract of the leaves with 69.66% has the dose 1500 $\mu\text{g/ml}$.

Key words: *Myrtus communis* L., phytochemical, activity anti-inflammatory in vitro.

Liste des abréviations

AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens.

AIS : Anti-Inflammatoires Stéroïdiens.

APG : Angiosperms Phylogeny Group.

BSA : Sérum Bovine Albumine.

CH Cl₃ : Trichlorométhane.

CLHP : Chromatographie Liquide à Haute performance

DO : Densité Optique.

EAcMc : Extrait Acétonique *Myrtus communis*.

EAG : Equivalent Acide Gallique.

EAMc : Extrait Aqueux *Myrtus communis*.

EC : Equivalents Catéchine.

EMMc : Extrait Méthanolique *Myrtus communis*.

EOR: Espèces Oxygénées Réactives.

ESL : Extraction Solide –Liquide.

Fe Cl₃ : Chlorure de fer.

GA : Acide Gallique.

GRH : Globule rouge Humains.

H₂SO₄: Acide Sulfurique.

H₃PMo₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique

Hcl : Acide Chlorhydrique.

HIV : Virus 'Immunodéficience Humaine.

HV : Virus'Herpès.

LB: Lymphocyte B.

LT: Lymphocyte T.

M : Molaire.

Mc : *Myrtus communis*.

MeOH : Méthanol.

mg EC/g MS : milligramme Equivalent Catéchine par gramme de Matière Sèche.

mg GAE/g MS : milligramme Equivalent d'Acide Gallique par gramme de Matière sèche.

MS : Matière Sèche.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NH₃ : Ammoniac.

NH₄ OH : Hydroxyde d'ammonium.

nm: nanomètre.

ns : non significatif.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

P : Poids.

PAF : Facteur Activateur des Plaquettes.

PBS : Phosphate Buffer Saline.

PH : Potentielle Hydrogène.

PK : Pyruvate kinase.

PNNs : Polynucléaires Neutrophiles.

Rdt : Rendement.

RMN : Spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire

SIDA : Syndrome d'Immuno Déficience Acquise.

Tr : Tour.

UV : Ultraviolet.

µg : Microgramme.

µL : Microlitre

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Les phénomènes de la réaction vasculo-exsudative.	5
Figure 2	Processus de migration des neutrophiles à travers les vaisseaux sanguins	6
Figure 3	L'homéostasie tissulaire dans le cas de l'inflammation aigue (A) et l'inflammation chronique (B)	8
Figure 4	Distribution de <i>Myrtus communis</i>	34
Figure 5	Caractéristiques botaniques de <i>Myrtus communis</i>	35
Figure 6	Carte géographique de la willaya de Jijel	38
Figure 7	Aspects morphologique de l'espèce <i>Myrtus communis</i> . (A) : Partie aérienne ; (B) : feuilles ; (C) : fruits.	39
Figure 8	Rendements des extraits bruts obtenus à partir des deux parties de la plante.	50
Figure 9	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.	51
Figure 10	Teneurs en phénols totaux pour les extraits bruts des feuilles de la plante étudiée.	52
Figure 11	Teneurs en phénols totaux pour les extraits bruts des fruits de la plante étudiée.	52
Figure 12	Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes	53

Figure 13	Teneurs en flavonoïdes pour les extraits bruts des feuilles de la plante étudiée.	54
Figure 14	Teneurs en flavonoïdes pour les extraits bruts des fruits de la plante étudiée.	54
Figure 15	L'effet de <i>Myrtus communis</i> (feuilles) sur la dénaturation du BSA.	56
Figure 16	L'effet de <i>Myrtus communis</i> (fruits) sur la dénaturation du BSA.	58
Figure 17	L'effet des extraits bruts des feuilles de <i>M. communis</i> sur l'hémolyse des GRH.	61
Figure 18	L'effet des extraits bruts des fruits de <i>M. communis</i> sur l'hémolyse des GRH.	61
Figure 19	L'effet des extraits bruts des feuilles de <i>M. communis</i> sur l'inhibition de l'hémolyse des GRH.	62
Figure 20	L'effet des extraits bruts des fruits de <i>M. communis</i> sur l'inhibition de l'hémolyse des GRH.	63

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs inflammatoires	11
Tableau 2	Exemples de maladies liées à l'inflammation	13
Tableau 3	Les formes d'emploi des plantes médicinales	20
Tableau 4	Effet de certains principes actifs des plantes médicinales	27
Tableau 5	La position systématique de la famille <i>Myrtaceae</i>	32
Tableau 6	Activités biologiques de certaines espèces de la famille des <i>Myrtacées</i> .	32
Tableau 7	Taxonomie de <i>Myrtus communis</i>	33
Tableau 8	Les paramètres géographiques et bioclimatiques de la région de Settara	38
Tableau 9	Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la poudre de différentes parties de la plante.	49
Tableau 10	Les rendements en extraits obtenus à partir des deux parties de la plante	50
Tableau 11	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA des extraits bruts des feuilles de <i>Myrtus communis</i> .	55
Tableau 12	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA des extraits bruts des fruits de <i>Myrtus communis</i> .	57

Tableau13

Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse des GRH des extraits bruts des feuilles
et fruits de *Myrtus communis*.

59

Sommaire

Remerciements

المخلص

Résumé

Abstract

Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale01

Première partie : Etude bibliographique

Chapitre I : L'inflammation

1. L'inflammation.....	03
1.1. Définition de l'inflammation	03
1.2. Manifestations clinique.....	03
1.3. Étiologie.....	03
1.4. Types d'inflammation.....	04
1.4.1. L'inflammation aiguë	04
1.4.1.1. La phase vasculaire (réaction vasculo-exudative).....	04
1.4.1.2. La phase cellulaire (recrutement des leucocytes).....	05
1.4.1.3. La phase de réparation.....	07
1.4.2. L'inflammation chronique.....	07
1.5. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire.....	08
1.5. 1. Les polynucléaires neutrophiles (PNN).....	09
1.5. 2. Les mastocytes.....	09
1.5.3. Les monocytes macrophages circulants et macrophages tissulaires.....	09
1.5. 4. Les plaquettes sanguines.....	09

1.5. 5. Les Polynucléaire basophiles.....	09
1.5. 6. Les polynucléaires éosinophiles.....	10
1.5. 7. Les fibroblastes.....	10
1.5. 8. Les lymphocytes.....	10
1.5.9. Les cellules de l'endothélium des vaisseaux de petit et moyen calibre.....	10
1.6. Les médiateurs de l'inflammation.....	11
1.7. Implications pathologiques de l'inflammation.....	13

Chapitre II. La phytothérapie et les plantes médicinales

1. La phytothérapie.....	15
1.1. Définition.....	15
1.2. Différents types de la Phytothérapie.....	15
1.3. Les avantages de la phytothérapie.....	16
1.4. Phytothérapie en Algérie.....	16
2. Les plantes médicinales.....	17
2.1. Définition.....	17
2.2. Historique des plantes médicinales.....	17
2.3. Les domaines d'applications des plantes médicinales.....	18
2.4. Formes d'emploi des plantes médicinales.....	20
2.5. Importance des plantes médicinales.....	21
3. Les principes actifs.....	21
3.1. Les polyphénols.....	22
3.1.1. Les flavonoïdes.....	23
3.1.2. Les tanins.....	24
3.1.3. Les coumarines.....	24
3.2. Les composés terpéniques.....	25

3.2.1 Stéroïdes, stérols et terpénoïdes.....	25
3.2.2. Saponosides.....	25
3.2.3. Les huiles essentiel	26
3.3. Composés azotés.....	26
3.3.1. Les alcaloïdes.....	26
4. L'inflammation et les substances actives.....	28
4.1. Polyphénols et inflammation.....	28
4.2. Les flavonoïdes et l'inflammations.....	29

Chapitre III : Etude botanique de *Myrtus communis* L

1. Généralités.....	31
1. 1. Le monde végétal.....	31
1. 2. Une famille d'origine tropicale: les <i>Myrtaceae</i>	31
1.2.1 Position systématique.....	32
1.2.2. Intérêt biologique de la famille Myrtaceae.....	32
1. 3. Une espèce circum-méditerranéenne: <i>Myrtus communis</i> L.....	33
1. 3. 1. Dénominations selon la nomenclature.....	33
1. 3. 2. Position systématique.....	33
1. 3. 3. Description botanique et écologie.....	33
1.3.4. Utilisation médicinale et traditionnelle.....	36
1.3.5 . Aspect économique.....	36
1.3.6. Travaux antérieurs.....	36

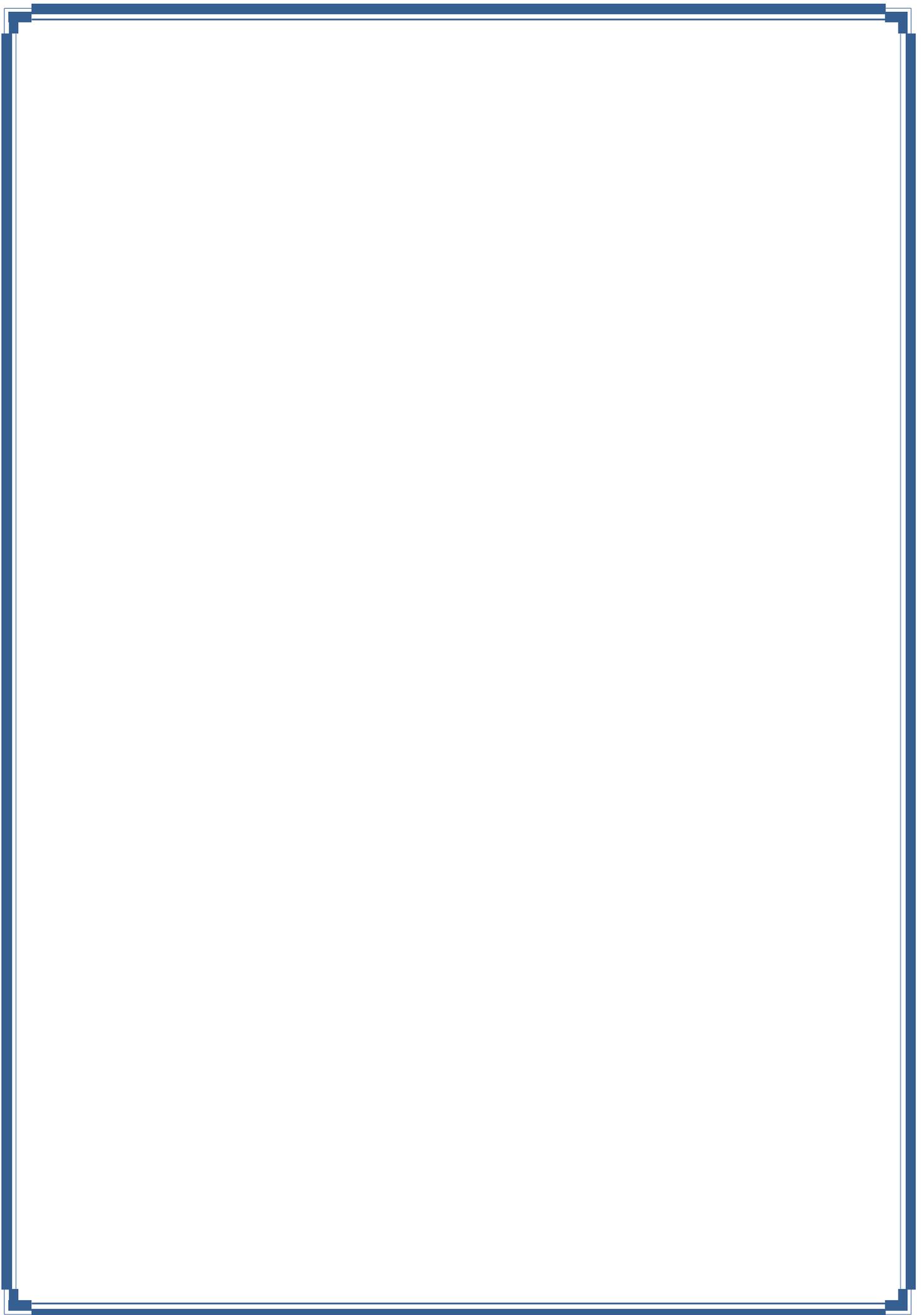
Deuxième partie : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	38
2. Criblage phytochimique.....	39
2.1. Test des alcaloïdes.....	39
2.2. Test des saponosides.....	40

2.3. Test des flavonoïdes.....	40
2.4. Test des coumarines.....	40
2.5. Test des stérols et triterpènes.....	40
2.6. Test des Tanins.....	41
2.7. Test des glycosides.....	41
3. Préparation des extraits.....	41
3.1. Un point bibliographique sur l'importance des solvants dans l'extraction des composés phénoliques.....	41
3.2. Préparation des extraits bruts par Extraction Solide - Liquide (ESL).....	42
3.3. Détermination de la teneur en composés phénoliques.....	43
3.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	44
3.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux.....	44
4. Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro.....	45
4. 1. Inhibition de la dénaturation des protéines.....	45
4.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges humains.....	46
5. Analyse statistique.....	47

Troisième partie : Résultats et discussion

1. Screening phytochimique.....	48
2. Rendements en extrait sec.....	49
3. Dosage des phénols totaux.....	51
4. Dosage des flavonoïdes.....	53
5. Activité Anti-inflammatoire.....	55
5.1. Inhibition de la dénaturation du BSA.....	55
5.2. Stabilisation des membranes des globules rouge humains.....	58
Discussion.....	64
Conclusion	66
Référence bibliographiques	



Introduction générale

Introduction

L'inflammation est de loin le problème de santé le plus fréquent auquel nous sommes confrontés au cours de nos vies. Elle est associée à chaque infection qui se produit dans le corps, telles que la grippe ou des infections pulmonaires. Mais l'inflammation ne se limite pas uniquement à des infections, elle est également associée à des maladies courantes telles que l'artériosclérose, l'arthrite, ainsi que des processus cancéreux.

Devant l'augmentation considérable du nombre de pathologies inflammatoires et les effets secondaires des médicaments synthétiques anti-inflammatoires, de nombreux chercheurs de part le monde, s'associent dans la recherche des composés d'origine végétale qui pourraient palier ces cotés négatifs (**Mansour ,2015**).

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs datant du XIX^{ème} siècle, en améliorant la connaissance des structures, a fait progressivement se séparer et parfois s'opposer une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue. Cette thérapeutique officielle accepte parfois avec une certaine méfiance l'emploi de végétaux ou d'extraits complexes de végétaux dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à une molécule type (**Bahorun, 1997**).

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse (**Bahorun, 1997**).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures in vivo et in vitro de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires (**Bahorun, 1997**).

Introduction

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**Boizot et Charpentier, 2006**).

En Algérie, l'industrie pharmaceutique, mais également des médecins et des chimistes cherchent à mieux connaître le patrimoine des espèces spontanées utilisées en médecine traditionnelle. Leurs modes d'utilisation, leurs indications dans diverses pathologies ainsi les principes actifs sont étudiés depuis une vingtaine d'années (**Djebaili, 1984, Bouattoura, 1988, Maizak et al, 1993**).

Elles ont été utilisées dans de nombreux domaines incluant par exemple la médecine, la nutrition, l'assaisonnement, les boissons, les teintures et les cosmétiques. L'effet conservateur de plusieurs plantes aromatiques (épices, condiments) suggère la présence de constituants anti-oxydants et antimicrobiens (**Hirasa et Takemasa, 1998**).

Ces dernières années, nous avons assisté à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en oeuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les flavonoïdes, ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (**Chebil, 2006**).

L'espèce *Myrtus communis* L., famille des myrtacées est connue par ces propriétés antiseptiques désinfectantes et astringentes (diarrhées, dysenterie) ainsi par leur effet hypoglycémique. Reconnu également dans le traitement des maladies des voies urinaires et respiratoires (**Mimica-Dukic et al, 2010 ; Baba Aissa, 1999**).

Notre travail a été divisé en trois parties ; nous aborderons dans une première partie une étude bibliographique qui regroupe trois chapitres dont le premier concerne de l'inflammation. Le deuxième chapitre est consacré de La phytothérapie et les plantes médicinales. Nous donnerons dans le troisième chapitre une étude botanique détaillée de la plante étudiée.

La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :

Introduction

- Les tests phytochimiques des différentes parties de la plante ;
- Préparation des extraits bruts par l'extraction Solide –Liquide (ESL) ;
- Dosage des phénols et des flavonoïdes totaux ;
- Une étude de l'activité anti-inflammatoire in-vitro des extraits de cette plante, par deux méthodes : L'inhibition de la dénaturation des protéines et la stabilisation de la membrane des globules rouges humains.

Enfin dans la troisième partie nous présenterons les résultats obtenus et leurs discussions. En terminant par une conclusion générale.

Première partie :

Etude

bibliographique

Chapitre I

1. L'inflammation

1.1. Définition de l'inflammation

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé (**Nathan, 2002; Barton, 2008**).

La fonction principale de l'inflammation est d'éliminer l'agent agresseur et de permettre la réparation des tissus. L'inflammation de courte durée dite inflammation aiguë est un phénomène bénéfique pour l'organisme qui lui permet de retrouver son intégrité physiologique. Alors que l'aspect négatif de l'inflammation intervient quand cette dernière se pérennise et devient une inflammation chronique (**Weill et al., 2003**).

1.2. Manifestations cliniques

La réaction inflammatoire est responsable de phénomènes locaux caractérisés par quatre signes cardinaux qui sont la rougeur, la chaleur, la douleur et l'œdème. Mais elle peut aussi entraîner de multiples effets biologiques et cliniques généraux qui sont d'intensité plus importante en cas de persistance de la réaction inflammatoire. Les effets cliniques généraux sont une altération de l'état général, associant une asthénie, une anorexie, un amaigrissement, une fièvre, des troubles du sommeil et une cachexie avec fonte musculaire (**Rousselet et al., 2005**).

1.3. Étiologie

La réaction inflammatoire peut être déclenchée par plusieurs éléments:

- Des micro-organismes comme des bactéries, des virus, des champignons ou des parasites ;
- Des corps étrangers (des protéines étrangères, par ex., les pollens, des cristaux de silice ou d'amiante) ;
- Des lésions tissulaires avec formation de débris de tissus comme après une atteinte mécanique (coupure, piqûre, frottement, ou corps étranger), chimique (acides et bases) ou physique (chaleur, froid ou rayonnement [UV, X, radioactifs]), ou encore sous l'influence d'inducteurs endogènes comme les cellules tumorales tuées,

hémorragies, réactions auto-immunes, ou cristaux formés dans l'organisme (urée, oxalate ou phosphate de calcium, cholestérol) (**Silbemagi et al., 2000**).

1. 4. Types d'inflammation

L'inflammation est classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires

1.4. 1. L'inflammation aiguë

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Charles et al., 2010**). Les étapes de la réponse inflammatoire aiguë sont toujours les mêmes quelque soient le stimulus inflammatoire et le tissu enflammé. Des modifications vasculaires, telles que l'augmentation de la perméabilité de la paroi vasculaire apparaissent au niveau du tissu enflammé. Cette augmentation de la perméabilité permet au liquide plasmatique de s'échapper vers le milieu extravasculaire, phénomène connu sous le terme d'exsudation plasmatique. Ces modifications vasculaires permettent le recrutement des leucocytes dans le milieu extravasculaire qui se déplacent en suite vers le site inflammatoire. Ces leucocytes détruisent et éliminent les stimuli nocifs qui s'y présentent, laissant place à la réparation du tissu endommagé (**Rankin, 2004**). L'inflammation aigue se constitue en trois phases :

1.4.1.1. La phase vasculaire (Réaction vasculo-exsudative)

Elle se traduit cliniquement par les quatre signes cardinaux classiques de l'inflammation aiguë: rougeur, chaleur, tuméfaction, douleur. Elle comporte trois phénomènes: une congestion active, un oedème inflammatoire (l'exsudat), une diapédèse leucocytaire (**Rousselet et al., 2005**).

➤ Congestion active

Il s'agit d'une modification du calibre vasculaire qui apparaît très rapidement, après une brève vasoconstriction, et consiste en une vasodilatation artériolaire puis capillaire dans la zone atteinte. Localement, il en résulte une augmentation de l'apport sanguin et un

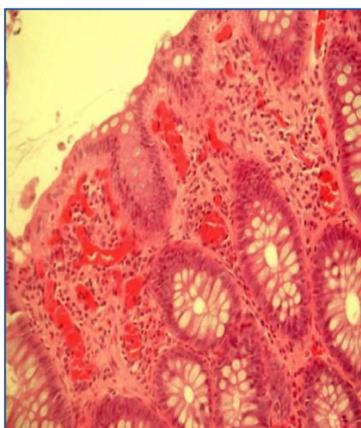
ralentissement du courant circulatoire. Les petits vaisseaux sont dilatés et gorgés d'hématies, bordés d'un endothélium turgescent. La congestion est déclenchée par un mécanisme nerveux (nerfs vasomoteurs) et l'action de médiateurs chimiques (**Figure 1a**) (**Rousselet et al., 2005**).

➤ **Œdème inflammatoire**

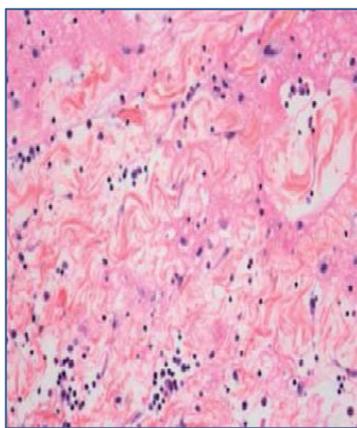
Il s'agit du passage dans le tissu conjonctif interstitiel ou les cavités séreuses d'un liquide appelé exsudat fait d'eau et de protéines plasmatiques (**Figure 1b**). Sa traduction clinique est un gonflement des tissus qui, en comprimant des terminaisons nerveuses, est responsable de la douleur (également provoquée par certains médiateurs chimiques). Sa traduction microscopique est un aspect pâle, peu colorable et distendu du tissu conjonctif. L'œdème inflammatoire résulte d'une augmentation de la pression hydrostatique due à la vasodilatation et surtout d'une augmentation de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques, dont l'histamine (**Rousselet et al., 2005**).

➤ **Diapédèse leucocytaire**

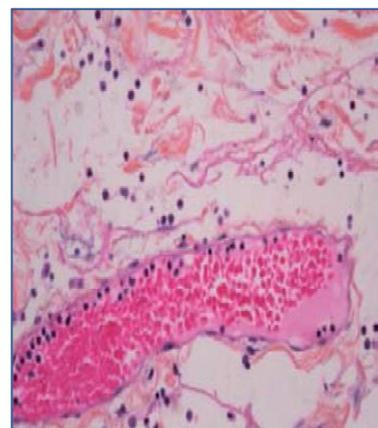
C'est la migration des leucocytes en dehors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel. Elle intéresse d'abord les polynucléaires (pendant les 6 à 24 premières heures), puis un peu plus tard (en 24 à 48 heures) les monocytes et les lymphocytes (**Figure 1c**) (**Rousselet et al., 2005**).



a) Colite congestive



b) Exsudat



c) diapédèse leucocytaire

Figure 1: Les phénomènes de la réaction vasculo-exsudative (**Rousselet et al., 2005**).

1.4.1.2. La phase cellulaire (recrutement des leucocytes)

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée dans le foyer inflammatoire des leucocytes. Les premiers sur place (environ 6 heures) sont les polynucléaires. Le plus souvent, les polynucléaires sont progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes. Parmi celles-ci, les macrophages ont pour

fonction d'assurer la détersion grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (Nathan, 2002).

L'afflux des cellules, fait que celles-ci vont d'abord se marginaliser sur le site de l'agression en environ 30 minutes. C'est à ce moment qu'on pourra constater « in situ » la présence de polynucléaires neutrophiles, lesquelles sont plaqués le long des cellules endothéliales de l'endroit concerné. Ces cellules vont traverser la paroi, grâce à de nombreux facteurs attractants comme l'IL8, C5a et LTB4 (Figure 2). Ces cellules vont en effet ingérer les éléments lésés. Cette fonction n'est pas simple. Elle repose sur la dégranulation des composants internes de la cellule. Ceci conduit à la sécrétion des protéases (élastase et collagénase), et la libération des radicaux libres. Les PMNs vont contribuer à l'éradication des corps étrangers (s'il y a lieu) ou des tissus lésés (en cas de traumatisme par exemple). Dans ce type de situation, la réaction va s'arrêter mais ceci n'est pas toujours le cas et les macrophages dont le pouvoir phagocytaire est important, vont intervenir. Ceci constitue le passage de la réaction inflammatoire proprement dite à la réaction immunitaire et la mise en place des processus inhérents (Charles *et al.*, 2010).

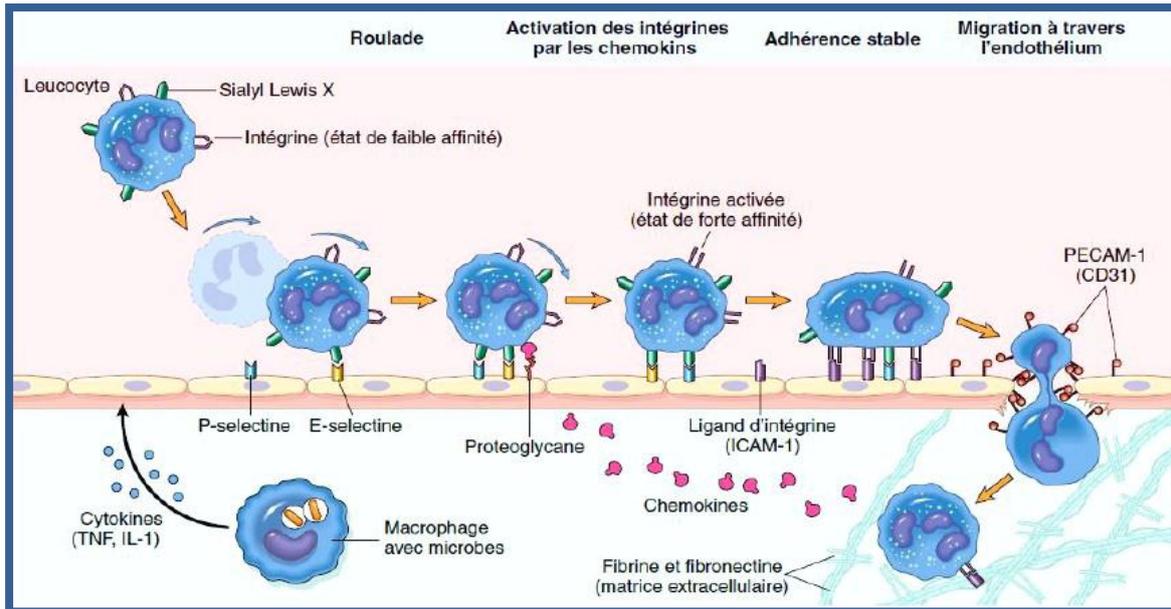


Figure 2 : Processus de migration des neutrophiles à travers les vaisseaux sanguins (Kumar *et al.*, 2007).

4.1.1.3. La phase de réparation

Elle est caractérisée par le rétablissement de l'homéostasie après une agression mais nécessite d'abord l'arrêt de la réaction immunitaire et ensuite la réparation des tissus lésés. L'arrêt de l'inflammation fait intervenir plusieurs médiateurs tels que les cytokines anti-inflammatoires et l'apoptose des cellules inflammatoires. La réparation des tissus fait intervenir les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu (**Eming et al., 2007**).

Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (**Weill et al., 2003**).

1.4.2. L'inflammation chronique

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causée par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires. L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (**Charles et al., 2010**). Tout comme dans la réponse inflammatoire aiguë, les lymphocytes et les monocytes, subissent un processus d'activation

qui favorise l'adhérence et la transmigration de ces cellules dans le compartiment extravasculaire. En tout type de réponse inflammatoire, les différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent (Nourshargh *et al.*, 2006; Charles *et al.*, 2010).

L'inflammation chronique se développe dans les conditions où persiste une agression ou dans les tissus soumis à des réactions auto-immunes, où l'antigène ne peut être éliminé. Elle est caractérisée par une durée étalée sur des mois ou des années. Elle peut même se prolonger tout au long de la vie de l'individu. A la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aiguë, les phases vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas mais coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation. Des phénomènes de destruction tissulaire et de tentatives de réparation sont également présents. Les cellules mononucléées et particulièrement les macrophages constituent l'essentiel de l'infiltrat cellulaire vers le site inflammatoire (Weill *et al.*, 2003) (Figure 3).

La présence de lymphocytes dans l'infiltrat est habituelle. Tandis que la présence des polynucléaires éosinophiles est caractéristique des inflammations chroniques allergiques et parasitaires (Dombrowicz et Capron, 2007).

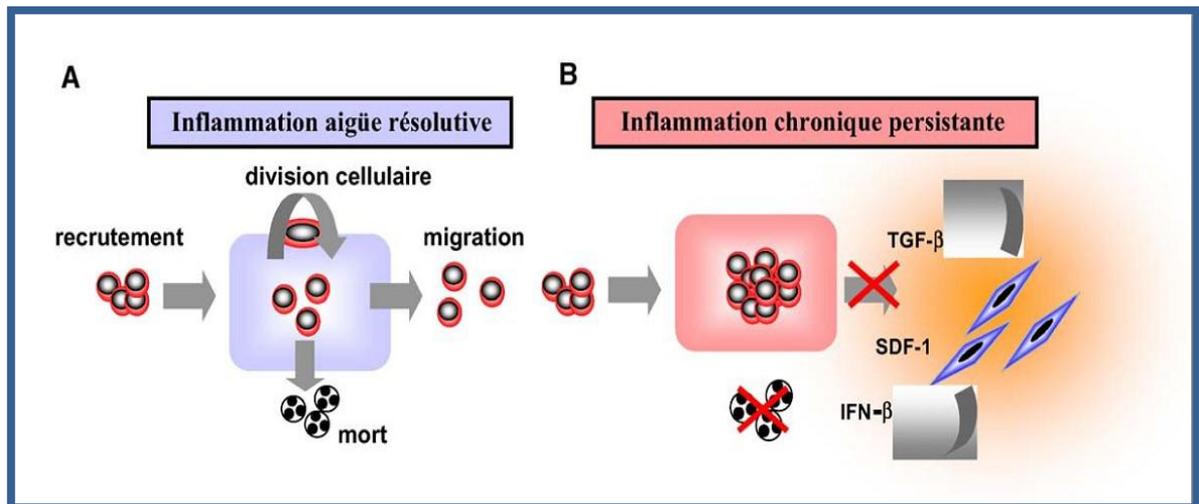


Figure 3 : L'homéostasie tissulaire dans le cas de l'inflammation aiguë (A) et l'inflammation chronique (B) (Mansour ,2015).

1.5. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire

Les différentes cellules impliquées dans une réaction inflammatoire sont :

1.5. 1. Les polynucléaires neutrophiles (PNN)

Les polynucléaires neutrophiles sont les principaux agents cellulaires impliqués dans le mécanisme inflammatoire qui a pour but de recruter rapidement les leucocytes sur le lieu d'une lésion ou d'une infection. Elles sont également impliquées dans la réparation tissulaire (**Eming *et al.*, 2007**).

1.5. 2. Les mastocytes

Ils sont des cellules résidentes des tissus conjonctifs. De plus, ils jouent un rôle très important dans le déclenchement de la réaction inflammatoire.

Ils se caractérisent par la présence dans leur cytoplasme de très nombreuses granulations contenant des médiateurs inflammatoires comme la sérotonine, l'histamine, l'héparine et des cytokines (**Williams et Galli, 2000**). Ils sont aussi impliqués dans la réparation tissulaire (**Eming *et al.*, 2007**).

1.5. 3. Les monocytes macrophages circulants et macrophages tissulaires

Ils constituent le système des phagocytes mononucléés. De nombreuses situations engendrent l'activation des macrophages rencontre avec un micro-organisme, avec une particule inerte, avec un produit de dégradation tissulaire ou liaison avec un ligand naturel pour un de leurs récepteurs : anticorps, thrombine, fibrine, facteurs de croissance, cytokines (**Rankin, 2004**).

1.5. 4. Les plaquettes sanguines

Elles sont indispensables à l'hémostase primaire. Elles contribuent au processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs comme le fibrinogène, le plasminogène, des protéases plasmatiques ainsi que de la sérotonine (**Steinhubl, 2007**).

1.5. 5. Les Polynucléaire basophiles

Elles sont les plus rares des polynucléaires (moins de 1 % des cellules inflammatoires). Elles présentent également un cytoplasme qui contient de très nombreuses

granulations riches en médiateurs pro-inflammatoires. Les basophiles sont des cellules phagocytaires qui interviennent principalement dans les réactions allergiques (**Rankin, 2004**).

1.5. 6. Les polynucléaires éosinophiles

Elles représentent de 1 à 6% des cellules inflammatoires. Elles possèdent aussi des propriétés phagocytaires (**Rankin, 2004**). Leur fonction principale est de s'attaquer aux parasites via le contenu de leurs granules. Elles interviennent aussi dans la modulation et la propagation de la réponse immunitaire adaptative en activant directement les lymphocytes T (**Hogan et al., 2008**).

1.5. 7. Les fibroblastes

Les fibroblastes sont des cellules ubiquitaires et principales du tissu conjonctif ; elles interviennent dans la production de la matrice extracellulaire qui offre une résistance mécanique aux cellules. Ils produisent au cours de la réaction inflammatoire des enzymes de destruction de la matrice : collagénases, gélatinase, stromélysine, cathepsines, sérine protéase...etc. Ils participent aussi aux phénomènes de cicatrisation par la production de différents constituants de la matrice : collagènes, protéoglycanes, fibronectine, élastine (**Botting et Botting, 2000**).

1.5. 8. Les lymphocytes

Il existe deux types de lymphocytes impliqués dans l'inflammation: les lymphocytes T qui se différencient dans le thymus et les lymphocytes B acquièrent leur maturation dans la moelle osseuse. Ils interviennent principalement dans les mécanismes de l'immunité mais ils participent à la réaction inflammatoire par la production de différentes cytokines (**Adrie et Pinsky, 2000**).

1.5. 9. Les cellules de l'endothélium des vaisseaux de petit et moyen calibre

Elles jouent un rôle important au cours de l'inflammation. L'état de jonction des cellules entre elles et avec la matrice extracellulaire contrôle le passage des liquides et des macromolécules de l'espace intravasculaire vers les tissus interstitiels. Cet état de jonction fait intervenir de nombreuses protéines transmembranaires

ou intracellulaires tels que connexines, cadhérines, protéines du cytosquelette, intégrines de surface. Les cellules endothéliales sont capables de participer aux phénomènes de réparation post inflammatoire par la production de protéines matricielles et de différentes protéases (**Janeway et al., 2001**)

1.6. Les médiateurs de l'inflammation

La réponse inflammatoire provoque la libération de divers médiateurs inflammatoires. Ces médiateurs affectent le développement et la résolution de l'inflammation en agissant sur les différentes cellules impliquées dans la réaction inflammatoire. Le déclenchement et la poursuite de l'inflammation, sa diffusion à partir du foyer inflammatoire font appel à des facteurs synthétisés localement ou qui sont présents à l'état de précurseur inactif dans la circulation sanguine. Le tableau 1 résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs de l'inflammation (**Rankin, 2004**).

Tableau 1 : Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs inflammatoires.
(**Rankin, 2004; Male et al., 2007**).

Médiateurs	Origine	Actions
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes.	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Sérotonine	Mastocytes et plaquettes.	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur activateur des plaquettes (PAF)	Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales.	Assure la vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule la broncho constriction, l'agrégation des plaquettes et la libération des médiateurs qu'elles renferment, induit la production des EOR et la libération des enzymes

		lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Kalicroïne	Présente dans le plasma	Transforme et active le système des Kinines
Plasmine	Présente dans le plasma	Clive le composant du complément C3 pour générer le C3a et le C3b
Leucotriènes : LTC4, LTD4, LTE4	Essentiellement par les leucocytes	Augmentent la perméabilité des micro- vaisseaux.
LTB4	Essentiellement par les leucocytes	Augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin local, induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des EOR et attire et active les cellules inflammatoires.
Prostaglandine E2	Essentiellement par les leucocytes	Provoque la vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Bradykinine	Présente dans le plasma sous forme de kininogènes.	Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur de Hagman (XII)	Présent dans le plasma et est activé par l'adhésion des plaquettes.	Impliqué dans la cascade de coagulation.
Thrombine	Présente dans le plasma	Catalyse la transformation du fibrinogène en fibrine et induit la libération de la sérotonine des plaquettes.
Fibrine	Présente dans le plasma, formé à partir du finbrinogène	Intervient dans la formation du caillot sanguin.

IL-8	Monocytes, macrophages, plaquettes et lymphocytes.	Active le chimiotactisme des neutrophiles, des monocytes et des macrophages. Induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des EOR. Intervient dans la réparation tissulaire
C3a	Fraction C3 du complément inactif.	Provoque la dégranulation des mastocytes.
C5a	Fraction C5 du complément inactif	Provoque la dégranulation des mastocytes et des neutrophile, exerce un effet chimiotactique en vers les phagocytes et stimule la contraction du muscle lisse

1.7. Implications pathologiques de l'inflammation

De nombreuses maladies inflammatoires sont liées à des mécanismes considérés comme dysimmunitaires, à savoir les maladies auto-immunes systémiques et localisées, les maladies auto-inflammatoires, les affections inflammatoires de mécanisme indéterminé notamment, des affections iatrogènes ou paranéoplasiques dont le mécanisme n'est pas auto-immun (Charles *et al.*, 2010). Quelques exemples sont rapportés dans le tableau 2.

Tableau 2: Exemples de maladies liées à l'inflammation (Nathan, 2002).

Origine	Types de maladie
Désordres dans lesquelles le rôle pathogénique principal revient à l'inflammation.	Artériosclérose Arthrose Asthme Polyarthrite rhumatoïde Eczéma Maladie de Crohn (MC) Goutte Thyroïdite d'Hashimoto

	<p>Maladie d'Alzheimer Lupus érythémateux disséminé</p>
<p>Maladies d'origine infectieux dans lesquelles l'inflammation contribue dans la pathologie.</p>	<p>Hépatite C Tuberculose Tuberculose Dysenterie bactérienne</p>
<p>Maladies d'origines divers dans lesquelles la fibrose poste inflammatoire est la cause principale de la pathologie.</p>	<p>Cirrhose hépatique poste virale ou alcoolique Fibrose pulmonaire idiopathique Bilharziose</p>

Chapitre II

1. La phytothérapie

1.1 Définition

La phytothérapie est le traitement ou la prévention des maladies par l'usage des plantes (de l'ensemble des éléments de la plante). La phytothérapie fait partie des médecines parallèles, ou médecines douces et c'est l'une des sciences médicales les plus anciennes (**Walker, 2006**). Cette thérapie adhère à une philosophie caractérisée par la recherche du médicament le plus adapté au patient respectant son organisme, ainsi que par des conseils tant sur l'hygiène de vie que sur la nutrition. De plus le but recherché en phytothérapie est le retour à l'équilibre, en renforçant les défenses de l'individu (**Larousse Médical, 2006**).

1.2. Différents types de la Phytothérapie

Cette discipline regroupe :

- ❖ **L'aromathérapie** : qui repose sur l'utilisation des huiles essentielles ou essences des plantes par différentes voies (ingestion, inhalation, passage transcutané) cependant du fait que ces huiles sont des produits complexes à utiliser avec précaution et en respectant les doses prescrites, la voie d'administration la plus intéressante, car la plus rapide et la moins toxique, est la voie percutané ;
- ❖ **La gemmothérapie** : qui consiste à utiliser des extraits alcoolisés et glycinés de bourgeons et jeunes racines dilués au dixième. Chaque extrait est réputé avoir affinité pour un organe ou une fonction. Par exemple, le macérât glyciné de bourgeons de *Ribes nigrum*, ou cassis, dilué au dixième, agit en tant que stimulant de la zone corticale des glandes surrénales, c'est-à-dire de la même manière que la cortison ;
- ❖ **L'herboristerie** : (la méthode la plus classique et la plus ancienne) qui repose sur l'utilisation de décoctions, infusions et macérations de plantes ;
- ❖ **La phytothérapie chinoise** : composante de la médecine chinoise traditionnelle avec l'acuponcture et la diététique ;
- ❖ **La phytothérapie pharmaceutique** : qui utilise des extraits végétaux à des doses optimales sous diverses formes galéniques (**Djaalab Mansour, 2013**).

1.3. Les avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus.

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (**Iserin et al., 2001**).

1.4. Phytothérapie en Algérie

En Algérie les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé.

Dans les dernières années la phytothérapie est très répandue, des herboristes sont partout sans aucune formation spécialisée ou connaissance scientifique sur la phytothérapie, des plantes et de mélanges pour toutes les maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables.

Des chiffres recueillis auprès du Centre national du registre de commerce, montrent qu'à fin 2009, l'Algérie comptait 1.926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1.393 sédentaires et 533 ambulants. La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand nombre avec 199 magasins, suivie de la wilaya de Sétif (107), Bechar (100) et El Oued avec 60 magasins (**Sebai et Boudali, 2012**).

2. Les plantes médicinales

Depuis toujours, les hommes ont utilisé leur environnement et en particulier les plantes pour se soigner. On estime que deux tiers des médicaments actuels ont une origine naturelle (Newmann *et al.*, 2007), les plantes médicinales retrouvent leur place dans notre vie quotidienne. Leur efficacité et leur innocuité sont recherchées et intensément étudiées.

En Afrique, jusqu'à 80% de la population utilise les plantes médicinales pour répondre à ses besoins de soins et de santé primaire (OMS, 2003).

2.1. Définition

Les plantes médicinales sont des drogues végétales qui possèdent des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains, malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne, les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important (Djaalab Mansour, 2013).

2.2. Historique des plantes médicinales

Les propriétés des plantes médicinales figurent dans de nombreux livres et permettent à tout un chacun de choisir en connaissance de cause la plante dont il a besoin. Le plus souvent, ces propriétés n'ont pas été découvertes par les recherches modernes, mais font partie d'un savoir ancien, accumulé pendant plusieurs millénaires. Dès son apparition, il y a 3 million d'années seulement, l'homme a utilisé les plantes à d'autres fins que de la nourriture. que la plante soit comestible ou toxique, qu'elle serve à tuer le gibier et l'ennemi ou à soigner, l'homme a découvert par une suite d'échecs et de réussites, l'utilisation des plantes pour son mieux être (beddou, 2015).

- Le premier témoignage de l'utilisation des plantes médicinales figure sur un papyrus égyptien, daté d'environ 2000 ans avant J-C .Ainsi, en Inde et en Chine, la médecine faisait amplement appel aux herbes ;
- Plus tard, la Grèce antique se distingue avec les 1^{ères} thérapeutes, comme Hippocrate .Ce médecin dispensa son enseignement sur l'île de Cos, il fut à mentionner des observations cliniques avec plus de 230 plantes ;
- Par la suite L'ouvrage de Dioscoride (I^{er} siècle av. J.-C.) le “ *De materia medica* ” décrit plus de 500 plantes et leur utilisation. Cet ouvrage publié pour la premier fois en 1478, il constitua la référence principale en Europe, en rassemblant environ 600 plantes (**Wichtl et Anton, 1999**) ;
- En 1692, paraissait la première « Pharmacopée Royale Galénique et Chimique » ;
- En 1778, le premier diplôme d'herboriste était décerné par la faculté de médecine de Paris ;
- Le premier codex français parut en 1818 et les éditions de la pharmacopée européenne par **Wichtl et Anton en 1999** ;
- Aujourd'hui, des progrès immenses ont été réalisés par des pharmaciens et chimistes qui ont étudié des plantes de notre environnement et d'autre plantes exotiques. Par exemple du pavot, la morphine fut isolée par Sertúrner en 1817;
- Les travaux de l'école française de phytothérapie avec Dr Henri Leclerc, on réactualisé l'emploi des plantes « Naturelles» en médecines. La médecine par les plantes a un avenir admirable et haut rang. si elle ne peut tout soigner, elle peut soigner beaucoup (**Scimeca et Tétou, 2005**).

2.3. Les domaines d'applications des plantes médicinales

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse (**Bahorun, 1997**).

❖ Utilisation en médecines

- ✓ En tant que médicament pour l'homme ; par exemple En dermatologie, gastrites aiguës, toux ulcères d'estomac, somnolence et troubles nerveux ;
- ✓ Le système cardiovasculaire, ex : flavone et un médicament constitué par la flavone non substituée en combinaison avec la rutine et isoquercétine. il est utile dans le traitement de l'athérosclérose (**Narayana, 2000**) ;
- ✓ Les drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires (**Svoboda et al,1999**) ;
- ✓ Contre diabète (*Azadirachta indica*) (**Amjed Hossain, 2005**) ;
- ✓ Les maladies de stress et activités antioxydantes ; tels que le thé noir, le cacao qui est riche en composés phénoliques. D'excellentes capacités à inhiber les réactions oxydatives ont été mises en évidence pour les huiles essentielles de sauge, origan, gingembre (**Lee et Kim, 2003**) ;
- ✓ La découverte de nouveaux agents thérapeutiques : le principe actif de l'écorce du quinquina isolé et obtenu le quinine jouer un rôle essentiel dans le traitement des accès sévères de Plasmodium (La lutte contre le paludisme) (**Bérenère, 2008**) .

❖ **En agriculture** : exemple : l'arbre *Azadirachta indica*, qui se développe tout le sous-continent indien, les huiles de cet arbre ont des utilisations dans l'agriculture dans le contrôle de divers insectes et nématodes (vers parasitaires) (**Amjed Hossain, 2005**).

❖ **En alimentation** : Assaisonnement des boissons, des colorants et des composés aromatiques, les épices et les herbes aromatiques utilisés dans l'alimentation sont considérés comme aromates (**Svoboda et al., 1999**).

❖ **En cosmétique** : les plantes sont utilisées dans Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène (**Porter, 2001**).

2.4. Formes d'emploi des plantes médicinales

Tableau 3 : Les différentes formes d'emploi les plantes médicinales

La forme	La préparation
1. Tisane	Préparation aqueuse buvable, obtenue à partir d'une ou plusieurs drogues végétales. Les tisanes sont obtenues par macération, infusion ou décoction en utilisant de l'eau (Delille, 2007).
2. Poudre	Préparées sous forme de poudre obtenue par pulvérisation, dans un mortier ou dans un moulin, peuvent s'utiliser pour un soin interne ou externe (Delille, 2007).
3. Teinture	Le principe de la teinture consiste à capter les principes actifs de plante en la faisant macérer dans l'alcool ou un mélange alcool-eau, pendant plusieurs semaines (Nogaret, 2003).
4. Les Huiles essentielles	On obtient par distillation à la vapeur, pour cela il faut un ballon, alambic et récipient pour recueillir le distillat, cette huile n'est pas grasses, et concentre l'essence de plante, autrement dit son parfum (Nogaret, 2003).
5. Sirop	Dissolution de 180 g de sucre dans 100g d'eau à laquelle est incorporé le principe thérapeutique voulu (Delille, 2007).
6. Lotion	Obtenue par infusion ou décoction de plante émolliente ou vulnérable, utilisée sur la partie à soigner par un légère passage à l'aide d'un coton hydrophiles ou linge fin imbibé (Delille, 2007).
7. Pommade (Onguent)	La pommade est préparée par un mélange de plante sous forme de poudre ou suc, avec une substance grasse comme la vaseline, huile de coco, huile d'olive, huile d'amande ou même des graisses animales (Delille, 2007).
8. Crème	Pour la crème, le principe est le même que pour la préparation de l'onguent, la seule différence est l'ajout de l'eau (Nogaret, 2003).
9. Fumigation	L'herbe est plongée dans l'eau bouillante. Son utilisation nécessite le recouvrement de la tête, épaules et récipient avec une même serviette pour mieux concentrer la vapeur (Delille, 2007).

10. Gargarisme

L'herbe est préparée par infusion ou décoction. Le liquide obtenu est introduit dans la bouche par une petite gorgée sans l'avaler après refroidissement (**Delille, 2007**).

2.4. Importance des plantes médicinales

Les plantes sont universellement reconnues comme un élément essentiel de la diversité biologique du monde et une ressource essentielle pour la planète. Elles peuvent améliorer la qualité de la vie et le milieu de travail, de plus, les plantes oxygènent l'air et favorisent ainsi l'éveil et la concentration.

Plusieurs milliers de plantes sauvages ont une grande importance économique et culturelle, en fournissant de la nourriture, des médicaments, du carburant, des vêtements et des abris pour l'homme dans le monde entier. Les plantes jouent également un rôle clé dans le maintien de l'équilibre écologique de la terre et de la stabilité des écosystèmes. Elles fournissent des habitats pour les animaux et les insectes.

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie : elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Chevallier, 2001**).

3. Les principes actifs

Les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants biochimiques naturellement présents dans une plante, ils lui confèrent son activité thérapeutique. Les principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale et ils n'ont pas les mêmes propriétés.

Actuellement plus de 100000 métabolites secondaire ont été identifié, ils appartiennent à trois classes principales qui sont les terpènes (un groupe des lipides), les alcaloïdes (dérivés d'acides aminées), et les composés phénoliques (dérivés de glucides) (**Benamor, 2008**).

3.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal. Ils sont présents dans tous les fruits et légumes.

Comme définition, nous pouvons dire que les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (**Dangles *et al.*, 1992**).

Les polyphénols regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, comme les tannins. Parmi les composés polyphénoliques présents chez les plantes étudiées on retrouve dans une grande mesure les flavonoïdes les tanins et les coumarines (**Hagerman *et al.*, 1998**).

❖ **Activités biologiques et intérêts thérapeutiques des polyphénols**

En raison de ces vertus, les composés phénoliques sont largement utilisés dans les domaines thérapeutiques et pharmaceutiques. Parmi les nombreux intérêts qu'offrent les polyphénols à la santé, nous pouvons citer les suivants :

- **Utilisation en thérapeutique comme inhibiteurs enzymatique, antioxydants et anti radicalaires** en effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps (**Gehin *et al.*, 2006**).
- **Activité anticancéreuse** : Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse. En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes (**Ames *et al.*, 1995**).
- **Prévention contre les maladies cardiovasculaires** : En effet, la consommation des polyphénols favorise la protection contre les altérations cardiaques et vasculaire (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).
- **Prévention contre les maladies hormono-dépendantes** : L'exemple le plus important est la prévention contre l'ostéoporose. Ceci en modulant la réponse aux œstrogènes endogènes. Certains polyphénols et plus particulièrement les

isoflavones du soja ont une affinité remarquable pour les récepteurs d'œstrogènes et sont qualifiés pour cela de phytoœstrogènes (Gerber et Berta, 2006).

3.1.1 Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde signifie jaune en latin (= flavus en latin), il désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum *et al.*, 2006).

Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, fruits et parfois des feuilles. Ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal, ce qui explique une grande part de leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire et des colorants. Ils possèdent en outre un intérêt médical considérable (Vauzour *et al.*, 2001).

❖ **Activité biologique et Intérêt thérapeutiques des flavonoïdes**

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti tumorales, anti inflammatoires, antiallergiques, anti-oxydantes et anti -cancéreuses. (Middleton et Kardasnam, 1993).

- **Activité des flavonoïdes contre le cancer :** Parmi les flavonoïdes les plus actifs sur les cellules tumorales, nous citons la quercétine et la catéchine qui sont très abondantes dans les aliments. La quercétine prévient la cancérogenèse, surtout le cancer de la peau et du colon ; La catéchine, quant à elle, est un inhibiteur de certaines réactions d'oxydation (Pietta, 2000).
- **Activité antibactérienne des flavonoïdes :** Les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve : les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : *Staphylococcus aureus* (Babayi *et al.*, 2004).
- **Activité antivirale des flavonoïdes :** Les flavonoïdes sont aussi connus pour leur activité antivirale, principalement contre le rétrovirus HIV responsable du

symptôme d'immunodéficience acquise (SIDA), le virus d'influenza, le virus de l'herpès (HV), l'adénovirus (ADV) et le virus de la grippe A (Choi *et al.*, 2009).

3.1.2. Les tanins

Ce sont des composants phénoliques solubles dans l'eau très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones. Ils ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités.

Chez les végétaux supérieurs on distingue deux groupes de tanins de structure différentes: les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables, ou tanins condensés (Frutos *et al.*, 2004).

➤ **Activité biologique et intérêt thérapeutiques des tanins**

Les applications médicales des plantes à tanins découlent de leur affinité pour les protéines : ils ont un effet anti diarrhéique, et par voie externe, ils imperméabilisent les couches superficielles de la peau, sont vasoconstricteurs et limitent la perte en fluides. Ces propriétés, ajoutées par ailleurs à leur effet antiseptique, en font des molécules intéressantes pour la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures, et les rendent utilisables dans le traitement des diarrhées infectieuses (Okuda *et al.*, 1983).

De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différentes bactéries, virus et champignons. Les tannins condensés comme les hydrolysables, ont une action inhibitrice contre les moisissures et les levures, et les tannins hydrolysables des différentes plantes qui agissent contre une large gamme de champignons filamenteux et de levures opportunistes (Latte, 2000).

3.1.3 Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae) d'où fut isolée en 1982. Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché (Booth *et al.*, 2004).

➤ **Activité biologique et intérêt thérapeutiques des coumarines**

Les coumarines connues pour ses propriétés anti-œdémateuses, a fait l'objet d'études cliniques chez les patients atteints de cancers avancés car elle est rapidement métabolisée au niveau du foie en 7-hydroxycoumarine. Il n'est pas exclu que les propriétés anti inflammatoires et analgésiques attribués au frêne soient dues aux coumarines (**Chen *et al.*, 1995**). L'action commune des coumarines de différente origine est celle contre les différents types de troubles gastriques antivirale antimicrobienne (**Kayser et Kolodzie, 1997**).

Les coumarines se révèlent être des composés thérapeutiquement promoteurs dans l'amélioration du système immunitaire (action immunostimulante) : l'administration de la coumarine et de l'umbellifèrone par des malades atteints de cancers ou de brucellose à raison de 100mg par jour a provoqué une augmentation des lymphocytes T Helper dans la circulation sanguine (**Bruneton, 1993**).

3.2 Les composés terpéniques

3.2.1 Stéroïdes, stérols et terpénoïdes

Les stéroïdes, les stérols et les terpénoïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux, ils regroupent plusieurs sous familles. Les stérols jouent un rôle important dans la qualité des graisses et des huiles. Ils se présentent sous forme d'alcool libre (sitostérol), ou sous forme des esters associés par le glucose (glucoside stérols) (**Tanya, 1997**).

3.2.2. Saponosides

Les saponosides sont des hétérosides de poids moléculaire élevé, appartenant aux stérols ou triterpènes. Ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes, ils sont caractérisés par leur action tensioactive (abaissement de la tension superficiel).

La plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques, certains sont des matières premières pour l'hémi-synthèse de molécules médicamenteuses stéroïdiques (**Djaalab Mansour, 2013**).

➤ **Activité biologique et intérêt thérapeutiques des saponosides**

Les saponosides possèdent des propriétés anti-inflammatoires et anti-œdémateuses. Ils sont particulièrement toxiques pour les poissons et autres animaux aquatiques. Actuellement, les recherches montrent que les saponosides isolés à partir des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle, possèdent des propriétés anti-bactérienne et antifongique (**Bouhadjera, 2005**).

3.2.3. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques que l'on extrait par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydro distillation, par pressage ou incision des végétaux qui les contiennent. Les huiles essentielles se retrouvent dans des glandes minuscules situées dans différentes parties de la plante aromatique : Les feuilles, les fleurs, les graines, l'écorce et pour certaines plantes dans les racines (**Zhiri, 2006**)

➤ **Activité biologique et intérêt thérapeutiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés : anti-infectieuse, antibactériennes, antivirales, antifongique, antiparasitaires, Régulatrices du système nerveux, antiseptiques et aussi des Propriétés Anti-inflammatoires qui possédant des aldéhydes ont des propriétés actives contre l'inflammation par voie interne comme l'huile essentielle de Gingembre (**Brunton, 2010**).

3.3. Composés azotés

3.3.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe. La présence d'azote confère à la molécule un caractère basique plus au moins prononcé, de distribution restreinte et douée d'activité pharmacologique significative (**Bruneton, 2009**).

➤ **Activité biologique et intérêt thérapeutiques des alcaloïdes**

Les drogues à alcaloïdes ont une importance considérable en thérapeutique, en effet leurs activités pharmacologiques s'exercent dans les domaines les plus variés :

- les alcaloïdes qui agissent au niveau du système nerveux central sont soit dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine) ;
- les alcaloïdes qui interviennent au niveau du système nerveux autonome sont sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques (yohimbine), parasymphatomimétiques (ésérine, pilocarpine), anticholinergiques (atropine, hyoscyamine), ganglioplégiques (spartéine, nicotine).

Il est important de préciser l'existence des alcaloïdes utilisés dans d'autres domaines comme des curarisants, d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'antifibrillants (quinidine), anti-tumoraux (vinblastine, ellipticine), d'antimalariques (quinine) et d'amoebicides (émétine). Les alcaloïdes jouent aussi le rôle d'antibiotique comme la cyclosérine, la mytomycine (**Badiaga, 2012**).

Tableau 04: Effet de certains principes actifs des plantes médicinales (**Benhamza, 2008**).

Principe actifs des plantes médicinales	Effet
Phénols	Anti-inflammatoire et antiseptiques
Flavonoïdes	Anti-inflammatoire, antioxydants, antivirales et des effet protecteurs sur foie.
tanins	Astringents, cytostatiques, anti-diarrhéique et bactéricides.
Terpènes	Antiseptiques.
Anthocyanes	Antioxydants et anti-œdémateux
Coumarines	Fluidifient le sang, soignent les affections cutanées.
Saponosides	Angio-protecteurs, antiseptiques, anti-inflammatoire et antiulcéreux.
Anthraquinones	Ils contribuent à transférer les liquides des tissus et du système circulatoire vers les conduits urinaires.
Polysaccharides	Utilisés pour calmer et protéger les tissus enflammés, ou la paroi des intestins enflammée et douloureuse.

4. L'inflammation et les substances actives

Les traitements utilisés dans le cadre de l'inflammation chronique. Ces derniers agissent sur les effets initiateurs ou amplificateurs de l'inflammation en plus des traitements spécifiques utilisés dans chaque maladie chronique (asthme, athérosclérose, cancer), des anti-inflammatoires seront utilisés pour soulager la douleur et diminuer l'inflammation. Pour limiter l'inflammation, la thérapie employée en médecine moderne consiste en l'utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes (**Russo et al., 1998**).

L'utilisation des anti-inflammatoires (AINS et AIS) n'est pas sans inconvénients pour l'organisme. Ainsi, l'usage prolongé des AINS peut entraîner des troubles au niveau du tractus gastro-intestinal, des toxicités au niveau du rein et de la peau. Pour limiter ou éviter les effets nocifs de ces molécules, les populations des pays riches et pauvres utilisent respectivement la médecine complémentaire, alternative et non conventionnelle et la médecine traditionnelle pour leurs besoins en santé. Plusieurs plantes sont utilisées seules ou en association avec d'autres plantes pour le traitement de maladies inflammatoires.

Les molécules dotées d'un effet anti-inflammatoire dans les plantes sont principalement les polyphénols, les stérols et les terpènes (**Adedapo et al., 2008**).

4.1. Polyphénols et inflammation

Les propriétés antioxydantes des polyphénols ont longtemps été considérées comme étant le principal phénomène expliquant leurs effets protecteurs. Cependant, de nombreuses études ont pu montrer que les polyphénols et leurs métabolites agissaient également comme des modulateurs des voies de signalisation de l'inflammation. (**Salas - Salvado et al., 2008**).

L'inflammation est la réponse principale de l'organisme à une agression et est précisément régulée afin de limiter les atteintes possibles des structures de l'organisme. Cependant, une régulation inappropriée de ce phénomène peut conduire à un état inflammatoire chronique et la plupart des pathologies chroniques possèdent une composante inflammatoire. C'est le cas de l'obésité, du diabète de type II, des maladies cardiovasculaires et du cancer. Les différentes études menées sur les effets protecteurs des

polyphénols dans ces contextes pathologiques ont montré que ceux-ci diminuaient les marqueurs de l'inflammation et agissaient sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation (**Santangelo et al., 2007**).

Des études *in vitro* et *in vivo* ont permis de montrer que les polyphénols pouvaient agir sur les activités enzymatiques du métabolisme de l'acide arachidonique (AA) : phospholipase A2, cyclooxygénase et lipoxygénase. Ils agissent également sur la production de NO (monoxyde d'azote) en modulant l'activité de NOS (nitric oxide synthases). Une inhibition de ces enzymes par les polyphénols réduit ainsi la production d'AA de NO, de prostaglandines et de leucotriènes, médiateurs de l'inflammation (**Gonzalez et al., 2010**).

4.2. Les flavonoïdes et l'inflammation

- De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations. En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro inflammatoires très actives. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. À faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée préférentiellement (**Ghedira, 2005**).
- Certaines kinases (PKC, la PI3kinase et tyrosine kinases) impliquées dans la réponse inflammatoire sont aussi affectées par les flavonoïdes. La présence de la double liaison C2=C3 dans le noyau des flavonoïdes semble être essentielle à leur activité anti-inflammatoire (**Middilton et al., 2000**).
- Les mastocytes sont des cellules qui participent aux réactions allergiques et à l'inflammation en sécrétant des médiateurs inflammatoires comme l'histamine et des cytokines pro-inflammatoires. L'action pharmacologique des flavonoïdes suggère qu'ils pourraient présenter un intérêt dans le traitement des désordres allergiques en sous-régulant ces mastocytes. En effet, une étude portée sur

l'astragaline, la fisétine, le kaempférol, la myricétine, la quercétine et la rutine, sur les réactions inflammatoires allergiques induites par les mastocytes a permis de constater que toutes ces molécules, hormis l'astragaline, inhibaient la sécrétion de l'histamine. Les cinq flavonoïdes actifs ont également inhibé la hausse du taux de calcium intracellulaire (**Park *et al.*, 2008**).

Chapitre III

1. Généralités

1. 1. Le monde végétal

Le règne végétal, de par sa richesse et sa diversité, peut être classé en deux grandes catégories: les plantes vasculaires et les plantes non vasculaires. Les plantes vasculaires peuvent être, à leur tour, subdivisées en deux grands groupes: les cryptogames vasculaires (plantes sans fleurs) et les phanérogames (plantes à fleurs).

Dans les phanérogames on distingue deux classes: les plantes gymnospermes (à graines nues comme le ginkgo, les conifères) et les angiospermes (à graines renfermées dans un fruit).

Les angiospermes regroupent la majeure partie des plantes, soit environ 250 000 espèces répandues sur toute la terre, mais peu abondantes en milieu aquatique. Elles se divisent en monocotylédones (céréales, plantes bulbeuses, palmiers, orchidées) et dicotylédones, de loin les plus nombreuses, comprenant les arbres feuillus et la plupart des plantes potagères et industrielles (**Guignard, 1993**).

1. 2. Une famille d'origine tropicale: les *Myrtaceae*

La famille des *Myrtaceae* est la huitième plus grande famille de plantes à fleurs, en comptant plus de 140 genres et environ 5 600 espèces. Les travaux récents de Soltis *et al.* (**Soltis et al., 2011**) classent la famille des *Myrtaceae* au sein des clades suivants: les Angiospermes, les Eudicotyledoneae, les Rosidae, les Malvidae et enfin l'ordre des Myrtales.

Selon **Quezel et Santa (1963)**, les Myrtacées sont des plantes à feuilles entières, opposées. Fleurs axillaires hermaphrodites. Calice cupuliforme. Etamines très nombreuses, insérées avec les pétales au sommet du tube calycinal. Gynécée infère ou semi - infère à 5 carpelles uniloculaires, à ovules nombreux, à placentation axile. Fruits bacciformes bleuâtres globuleux, de 5-8 mm de diamètre.

Les *myrtaceae* sont économiquement de première importance pour les industries pharmaceutiques agroalimentaire ou cosmétiques, sans compter les nombreux composés potentiellement biactifs qu'il reste à analyser et valoriser.

1.2.1 Position systématique

On peut définir la famille des Myrtacées du point de vue botanique selon les divisions suivantes

Tableau 05 : La position systématique de la famille *Myrtaceae* (Raisonnier, 2010)

Règne	Plantae
Sous-règne	Eucaryotae
Embranchement	Spermaphytae
Sous-embranchement	Angiospermae
Classe	Dicotylédonae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae

1.2.2. Intérêt biologique de la famille *Myrtaceae*

Beaucoup d'espèces de cette famille possèdent des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle. Dans le tableau 06 sont cités quelques exemples d'espèces dont les propriétés susdites ont été vérifiées et confirmées suite à différents travaux.

Tableau 06 : Activités biologiques de certaines espèces de la famille des *Myrtacées*.
(Chun *et al.*, 2004 ; Kim *et al.*, 1998).

Espèce	Activités biologiques
<i>Syzygium aromaticum</i>	anti-hypertensive anti-oxydante antifongique antidiabétique
<i>Myrtus communis</i>	antidiabétique anti-oxydante antimicrobienne anti-mutagénique
<i>Cleistocalyx operculatus</i>	anti-inflammatoire antiseptique antimicrobienne anti-tumorale

1. 3. Une espèce circum-méditerranéenne: *Myrtus communis L.*

1. 3. 1. Dénominations selon la nomenclature (Goetz et Ghedira, 2012).

Arabe: A'as.

Français: Herbe du lagui, myrte commun.

Anglais: Common myrtle, Greek myrtle, myrtle, sweet myrtle.

Espagnol: Arrayán, mirto, murta, murt.

Italien: Mirtella, mirto, mortella, mortin.

1. 3. 2. Position systématique

Tableau 07: Taxonomie de *Myrtus communis* (Goetz et Ghedira, 2012).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Mytaceae
Genre	<i>Myrtus</i>
Espèce	<i>communis L.</i>
Variétés	<i>M. communis var. italica L.</i> <i>M. communis var. baetica L.</i> <i>M. communis var. lusitanica L.</i>

1. 3. 3. Description botanique et écologie

Le genre *Myrtus* est à la fois le type botanique d'une grande famille végétale, mais aussi son seul genre qui soit indigène en Méditerranée et au Sahara.

Myrtus communis L. (myrte commun) est une plante médicinale aromatique, endémique à la région méditerranéenne (**Figure 04**). Le myrte commun pousse au niveau de la mer à 500-800 m d'altitude, il se développe au sein des matorrals thermophiles. En Algérie, il est commun dans les maquis et les forêts du Littoral (**Kaddem, 1990**).

Le myrte commun est un phanérophte sempervirent, en général de 1.5 à 3 m de hauteur et dont la longévité pourrait dépasser les 300 ans (**Rameau et al., 2008**).

Il s'adapte au sol silicieux, calcaire, on le rencontre plus sur terrain acide, en compagnie d'*Arbutus unedo* L., de *Pistacia lentiscus*, *Quercus suber*, *Quercus ilex*, *Ceratonia siliqua* occupant principalement l'étage thermo-méditerranéen (moyenne des minima du mois le plus froid comprise entre 3 et 7 °C). En effet, dès les travaux d'Amigues, il apparaît que des espèces qui se laissent domestiquer, les moins résistantes au froid sont, dit-on, le laurier et le myrte, le myrte est même encore le moins résistant (**Amigues, 2010**).

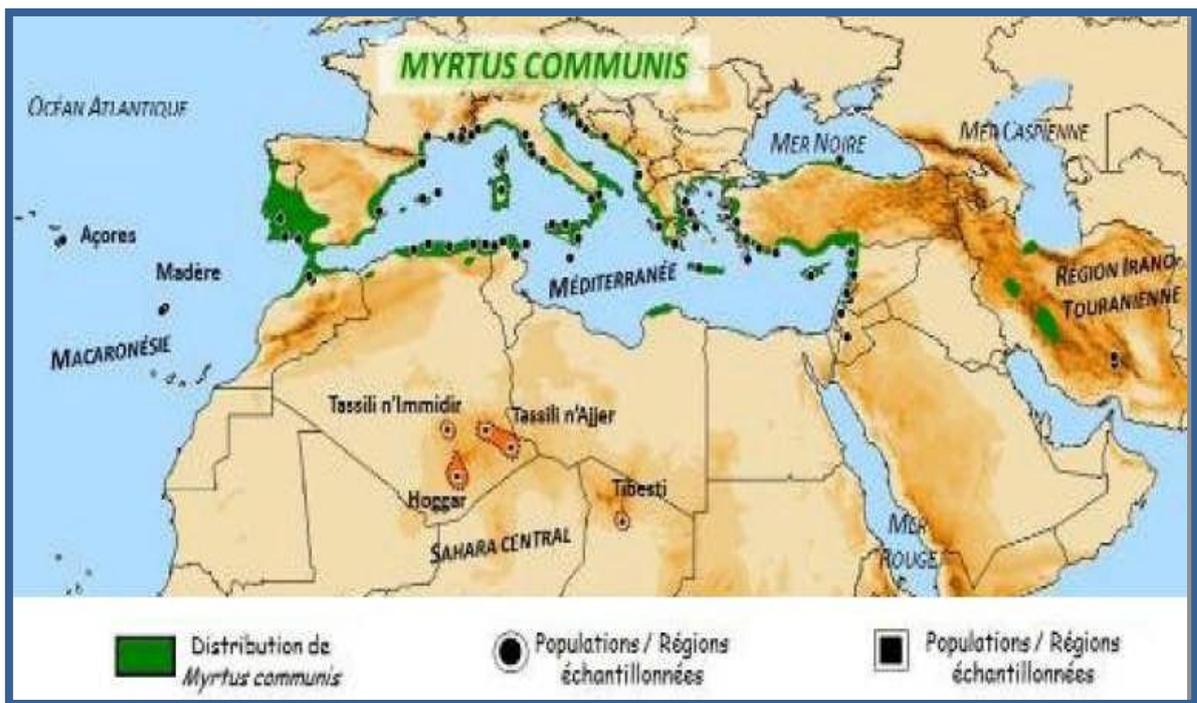


Figure 04: Distribution de *Myrtus communis* (Migliore, 2011)

Le myrte se caractérise par des branches rougeâtres (**Figure 05**) qui sont très ramifiées et ses petites feuilles d'un vert brillant, sont opposées, très rapprochées, subsessiles, ovales-lancéolées aiguës, entières, coriacées, persistantes, glabre et luisantes et courtement pétiolées.

La floraison peut débuter à partir de mai-juin et s'étale jusqu'en août sous la forme de fleurs blanches, odorantes, aux pétales d'un blanc éclatant ou taché de rose (**Figure 05**) (**Wang et al., 2010**). Les fleurs sont solitaires, jusqu'à 3 cm de diamètre, isolées à l'aisselle des feuilles et portées par de longs pédoncules. Le calice à tube soudé à l'ovaire

présente 5 lobes étalés et la corolle 5 pétales. Les étamines sont nombreuses à anthères jaunes forment des touffes ébouriffées. Le style, unique, présente un stigmate simple.

Le fruit de *M. communis* est une baie ovale et de couleur noir bleuâtre, quelquefois vert (**Figure 05**) (Wang et Fang, 2004). La pleine maturité de ces fruits est atteinte au mois de novembre. Sous la peau bleu foncé, la chair blanche est plus ou moins épaisse, parfois presque entièrement résorbée, de saveur âpre, résineuse. Le fruit est divisé intérieurement en trois loges qui renferment des graines nombreuses courbées en croissant. Il a été reporté l'ingestion de fruits de myrte par des mammifères carnivores (renards *Vulpes vulpes* et martres *Martes* spp.), dont le rôle en Méditerranée est loin d'être négligeable (Rosalino et al., 2010).

Les graines sont nombreuses avec des irrégularités de formes et de tailles. Elles sont réniformes, luisantes, couleur ivoire, et de saveur résineuse (**Figure 05**) (Boullard, 1988)

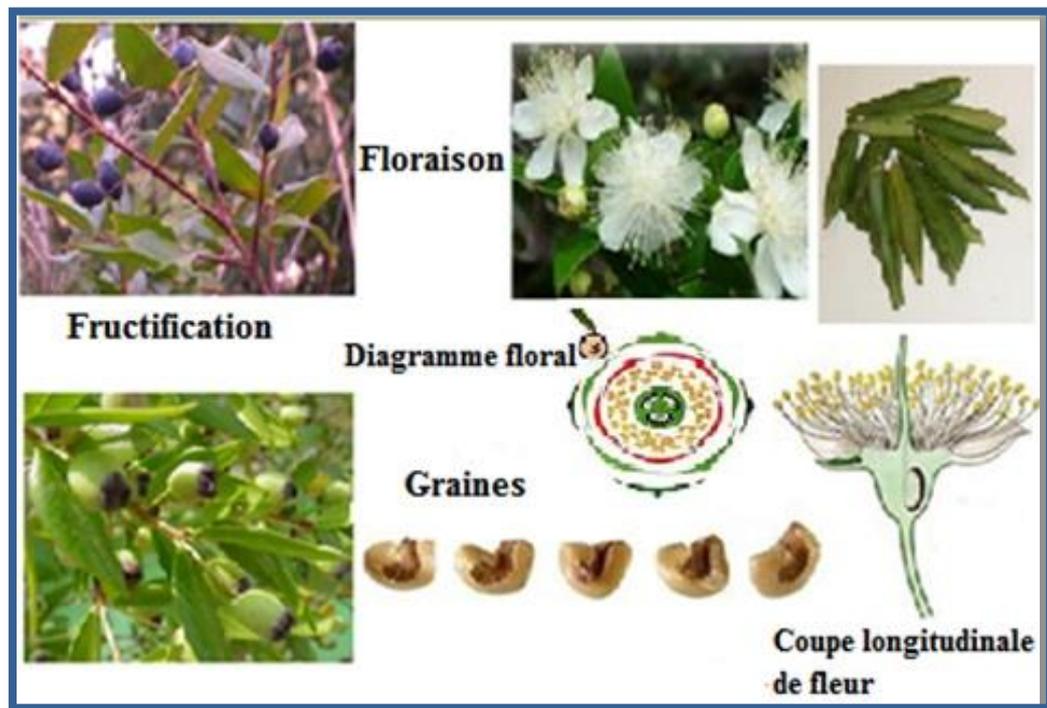


Figure 05: Caractéristiques botaniques de *Myrtus communis* (Khadidja, 2011)

1.3.4. Utilisation médicinale et traditionnelle

Le Myrte est utilisé pour lutter contre les bronchites et les dilatations bronchiques, les catarrhes muco-purulentes des voies respiratoires et urinaires, la tuberculose pulmonaire, la rhinorrhées, la sinusite, les otites, les diarrhées, les prostatites, et les hémorroïdes. Elle est connue également par leur effet hypoglycémique (**Baba Aissa, 1999**).

1.3.5 Aspect économique

Le *Myrte commun* est doté de vertus médicinales notamment utilisé comme antiseptique et désinfectant mais également pour ses propriétés balsamiques. Ce sont les qualités aromatiques et médicinales du myrte qui favorisent son utilisation dans les industries pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire. Dans les régions méditerranéennes, on fait fermenter et macérer les baies pour obtenir de la liqueur et du vin. De nos jours, le myrte est devenu un produit qui pourrait être qualifié d'identitaire. Il va permettre dans différents domaines, que ce soit l'alimentation ou la cosmétique, de donner un caractère identitaire au produit. C'est pour ces raisons que l'on retrouve en plus de la traditionnelle liqueur de myrte, des cosmétiques à base de myrte, mais également des produits alimentaires tels que pâtés, bières, etc. aromatisés au myrte (**Barboni, 2006**).

1.3.6 Travaux antérieurs

Nous reprenons, ci-dessous, les principaux travaux relatifs à l'étude des composés phénoliques du *Myrte commun*.

Les premières études sur les composés phénoliques ont été réalisées en **1967** par **El-Sissi et El-Ansary** et concernent l'analyse des flavonoïdes contenus dans les feuilles.

En **1987**, **Diaz et Abeger** analysent les composés phénoliques simples et principalement les flavonoïdes et les acides phénoliques contenus dans les feuilles du myrte. Après extraction au méthanol, l'extrait est passé dans une colonne ouverte pour l'isolement des molécules. Les fractions ainsi récoltées sont soumises à des études chromatographiques, spectrophotométriques et spectrofluométriques.

Plus récemment, les travaux de **Martin et al (1999)** sur les composés polyphénoliques du péricarpe du fruit du myrte indiquent une composition riche en myricétine, en hespéridine et en esculine. Les composés sont extraits par un mélange méthanol-eau (60 / 40) à température ambiante et séparés par chromatographie sur colonne ouverte. L'identification se fait par spectrométrie UV et par RMN du carbone-13 et du proton.

Romani et al (1999) ont étudié la composition des polyphénols extraits au solvant (éthanol à 70 %) à partir des feuilles du myrte. L'extrait est purifié puis l'analyse qualitative et quantitative se fait par CLHP-DAD et CLHP/SM.

Récemment, en **(2006a)**, **Montoro et al**, ont travaillé sur la stabilité et l'activité antioxydante des polyphénols extraits des baies du myrte pour la préparation des liqueurs en Sardaigne et en Italie. Ils ont dosé les flavonoïdes et les anthocyanes par CLHP-UV-VIS et l'identification par LC/SM-ESI (couplage de la chromatographie en phase liquide à la spectrométrie de masse en mode ionisation : Electrospray), en se plaçant à deux longueurs d'ondes caractéristiques de ces deux classes de composés polyphénoliques à savoir 350 nm et 520 nm. La macération s'est déroulée en laissant les baies au contact de l'éthanol à 70% pendant 40 jours. Ils ont pu identifier 14 composés, parmi lesquels 8 anthocyanes et 6 flavonoïdes.

Montoro et al., (2006b) utilisent différentes techniques pour l'identification (RMN et LCES/ MS) et la quantification (CLHP-UV-VIS en utilisant des standards internes) des anthocyanes présents dans les baies du myrte.

Les travaux de **Wannes et al., (2010)** sur l'analyse des composés phénoliques de Myrte par HPLC ont permis d'identifier 10 composés, parmi lesquels 4 tanins hydrolysables qui sont la oenothéin B, la eugeniflorin, la D2, tellimagrandins I et la tellimagrandins, 2 acides phénoliques, (l'acide gallique et l'acide quinique 3,5-di-O-gallate) et 4 myricétine.glycosides (myricétine 3-O-b-D-xyloside, myricétine 3-O-b-D-galactoside, myricétine 3-O-b-D-galactoside 6-O-gallate et myricétine 3-O-a-L-rhamnosid

Deuxième partie :

Etude expérimentale

Matériel végétal, criblage phytochimique et extraction

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail, comporte les feuilles et les fruits de la plante récoltée (**Figure 07**). L'espèce *Myrtus communis* a été récoltée de daïra de Settara située à 68 km au sud-est de Jijel et à 72 km au sud-ouest de Skikda., (**Figure 06 ; Tableau 08**). Pour la période d'échantillonnage, à janvier (2017).

Après la récolte, le matériel végétal est débarrassé des débris. Pour s'assurer de la bonne conservation de notre plante, un séchage à l'air libre et à l'obscurité pendant deux semaines. Elle est, ensuite, broyée par un broyeur électrique et conservée dans des enveloppes de papier.



Figure 06 : Carte géographique de la wilaya de Jijel ([www. Google.com](http://www.Google.com)).

Tableau 08 : Les paramètres géographiques et bioclimatiques de la région de Settara .

Plante étudiée	Stations	Période de récolte	Partie étudiée	Latitude	Altitude (m)	Etage bioclimatique
<i>Myrtus communis</i>	Settera (W.Jijel)	Janvies 2017	Feuilles et Fruits	36° 43' 10" N 6° 20' 08" E	500	Méditerranéenne (hivers humides, étés chauds et secs).



(A)

(B)

(C)

Figure 07 : Aspects morphologique de l'espèce *Myrtus communis*. (A) : Partie aérienne ; (B) : Feuilles ; (C) : Fruits.

2. Criblage phytochimique

Des tests en tube sont réalisés sur les poudres végétales afin de déterminer de manière préliminaire les classes phytochimiques contenues dans la plante analysée. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation ainsi qu'à des examens en lumière ultraviolette.

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques.

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux : les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les stérols, les terpènes...etc.

2.1 Test des alcaloïdes

Le réactif de Mayer

- Réactif de Mayer composition:

Iodure de potassium (KI) 25 g, chlorure mercurique(HgCl_2) 6,8 g, eau distillée (1000 ml).

10g de plante, mise en poudre, est pesé puis mélangé à 50 ml d'une solution HCl

(1%). Ce mélange est ensuite filtré puis on y ajoute NH_3 jusqu'à un pH: 8 à 9, on fait ensuite l'extraction par CHCl_3 (3 fois), on évapore CHCl_3 , on ajoute à l'extrait sec 2 ml HCl (1%), puis on ajoute 3 gouttes de réactif de Mayer. L'apparition de précipité blanc ou une phase trouble indique la présence des alcaloïdes (**Benzahi et al., 2001**).

2.2. Test des saponosides

2 g de poudre de la plante est mélangé à 80 ml d'eau distillée puis porter à l'ébullition pendant 5 minutes. On filtre, l'extrait est ensuite refroidi et agité vigoureusement pendant 2 minutes. La formation d'une mousse plus ou moins importante indique la présence de saponosides (**Benzahi et al., 2001**).

2.3. Test des flavonoïdes

10g de plante, mise en poudre, est pesé puis mélangé à 100 ml d'une solution HCl (1%). Ce mélange est macéré durant 24 h, après filtration on ajoute NH_4OH au filtrat jusqu'à la basicité. L'apparition d'une couleur jaune claire implique la présence des flavonoïdes (**Benzahi et al., 2001**).

2.4. Test des coumarines

On évapore 10 ml de l'extrait Ether di éthylique, l'extrait sec est repris dans 2 ml d'eau. Le mélange obtenu est ensuite partagé dans deux tubes à essais (l'un servira de référence). Au contenu de l'autre, nous avons ajouté 0.5 ml de NH_4OH (10 %). Nous avons bien mélangé et observé la fluorescence sous UV. La présence des coumarines est indiquée par une fluorescence dans le tube (**Benzahi et al., 2001**).

2.5. Test des stérols et triterpènes

5g de plante, mise en poudre, a été mis dans 20 ml de chloroforme. Après filtration la solution obtenue est répartie entre deux tubes à essais (l'un servira de référence). On ajoute d'abord anhydride d'acétate (Ac_2O); ensuite nous avons ajouté 1ml d' H_2SO_4 au fond du tube sans agiter. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence des stérols et des triterpènes. C'est la réaction de Liebermann-Buchard.

2.6. Test des Tanins

10g de plante, mise en poudre, on extrait par l'alcool éthylique 50%, puis on filtre, on ajoute au filtrat quelques gouttes FeCl_3 (1%). En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre (**Benzahi et al., 2001**).

2.7. Test des glycosides

5g de plante, mise en poudre, on y ajoute 50 ml d'une solution de l'acide tartrique 2 % dans l'éthanol, on chauffe à reflux durant 2 h, après filtration et lavage par l'éthanol, on met le filtrat dans l'eau chaude. Dans un tube à essai, on ajoute à 2 ml du filtrat 2 gouttes de la liqueur de Fehling, on chauffe, la réduction de la liqueur de Fehling montre la présence des glycosides (**Chaouch, 2001**).

La présence des principales classes phytochimiques est classée comme suit :

+ : présence certaine.

- : absence.

3. Préparation des extraits

3.1. Un point bibliographique sur l'importance des solvants dans l'extraction des composés phénoliques

Parmi les différentes étapes que constituent l'analyse et l'identification des molécules bioactives, l'étape d'extraction, qui a pour but la désorption des molécules d'intérêt des sites actifs de la matrice végétale, est primordiale puisqu'elle déterminera la nature et la quantité des molécules extraites et par conséquent le succès des étapes suivantes (**Michel, 2011**).

Nombreux sont les auteurs qui ont critiqué l'influence des méthodes de caractérisation et les conditions d'extraction des composés phénoliques. **Counet et Collin (2003)** ont montré qu'un mélange acétone/eau/acide acétique (70/28/2, v/v/v) était optimal pour l'extraction des flavonoïdes, surtout s'il s'agissait d'oligomères. Pour les anthocyanidines, le méthanol acidifié (1% HCl) et l'acétone aqueux (70/30, v/v) sont les solvants les plus fréquemment utilisés. Le second semble toutefois préférable pour éviter la formation de pyrano- anthocyanidines (**Collin et Crouzet, 2011**).

Un lavage à l'eau est généralement effectué avant l'élution des polyphénols par l'éthanol (pour les flavonols), le méthanol (pour les monomères de flavan-3-ols), ou l'acétone (pour Les oligomères de proanthocyanidines), éventuellement mélangés avec un faible pourcentage d'eau et d'acide (Collin et Crouzet, 2011).

L'utilisation de mélanges méthanol/eau (50/50) est parfois préférable afin de permettre une extraction appropriée de glycosides. En effet, des études ont indiqué qu'un rapport de 70% de méthanol est utilisé généralement dans l'extraction des flavonoïdes (catéchines ou épicatechines), des acides-phénols et leurs dérivés et plusieurs autres sous-groupes de flavonoïdes (Al-Farsi et Lee, 2008).

Les solvants apolaires sont par contre recommandés pour récupérer sélectivement les acides tanniques de haut poids moléculaire. C'est ainsi qu'en utilisant l'acétate d'éthyle, il est possible de concentrer un extrait de gallotannins à raison de plus de 50% avec les fractions contenant plus de sept unités galloyles (Tian *et al.*, 2009). Les arômes dérivés des acides hydroxycinnamiques sont quant à eux habituellement extraits par des solvants apolaires tels que le chloroforme et le diéthyléther (Collin et Crouzet, 2011).

La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols. Entre autre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante (Mahmoudi *et al.*, 2013).

3.2. Préparation des extraits bruts par Extraction Solide - Liquide (ESL)

Dans cette partie de travail, nous avons tenté d'extraire les composés phénoliques totaux. Une quantité de poudre végétale est mise en contact avec le solvant d'extraction qui a été choisi de manière à solubiliser un maximum de composés. Trois extraits hydro-alcooliques sont ainsi été testés : le méthanol aqueux, l'acétone aqueux avec des proportions de 70% (v/v) et l'eau chaude (Infusé) pour se rapprocher des préparations traditionnelles.

Le volume de solvant doit être suffisant pour que la matrice reste immergée pendant la totalité de l'extraction. Les ratios optimums solides : liquides, les plus souvent

trouvés dans la littérature, sont généralement situés entre 1/10 et 1/50 (mg/ml) (**Michel, 2011**). On a choisi le ratio 1/10 (mg/ml) dans la présente étude.

10 g de poudre végétal ont été repris avec 50 ml de méthanol et de l'acétone à 70% dans un bécher de 1000 ml. Le mélange a été laissé macérer pendant 72 heures à la température du laboratoire Cette opération a été répétée trois fois chaque 24h successivement. Après filtration sur papier filtre, le filtrat est concentré au rota vapeur. Le rendement d'extraction a été calculé par rapport au poids total de la poudre végétale.

➤ Calcul des rendements en extraits secs

Nous pouvons déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

P1 : Poids de la boîte pétri avec extrais après évaporation.

P2 : Poids de la boîte pétri vide.

P3 : Poids de la matière végétale de départ.

3.3. Détermination de la teneur en composés phénoliques

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux et des flavonoïdes des différents extraits sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage et exprimées en mg équivalent par g de la matière végétale sèche. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des plantes leur sont attribués.

3.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits bruts a été déterminée au moyen du réactif de Folin-Ciocalteu suivant la méthode décrite par **Awah** et ses collaborateurs (**2012**). Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$)

et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}) (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1972). L'intensité de cette couleur renseigne sur le contenu en polyphénols totaux dans le mélange.

Une prise de 125 μ l de l'extrait dilué (selon le solvant et l'organe) est mélangée avec 500 μ l d'eau distillée et 125 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 minutes, une prise de 1250 μ l de $CO_3(Na)_2$ à 7 % est additionnée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml. Après un repos de 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm.

La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variables de 10, 20, 30, 60, 130, 250 μ g/ml. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

3.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits bruts a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium décrite par Barros *et al.* (2011). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium et la soude, entraînant ainsi la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510 nm.

Une prise de 500 μ l d'extrait convenablement dilué est mise dans un tube en présence de 2 ml d'eau distillée additionnée de 150 μ l d'une solution de nitrite de sodium ($NaNO_2$, 5%). Après 6 mn d'incubation à température ambiante, 150 μ l d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$, 10%) sont ajoutés au mélange. On apporte à ce dernier 2 ml d'une solution de soude ($NaOH$, 4%) après 6 mn de repos puis on ajuste le volume final à 5 ml avec de l'eau distillée. L'intensité de la couleur rose est mesurée à 510 nm après 15 min d'incubation.

Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée dans les mêmes conditions. La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est alors exprimée en mg d'équivalents catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg EC/g MS).

4. Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro

4. 1. Inhibition de la dénaturation des protéines

L'activité anti inflammatoire in vitro des extraits brut de *Myrtus communis* a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (Ghosh *et al.*, 2015).

La méthode consiste a préparé quatre solution :

- **Solution d'essai (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 0,5% w/v et 0,05 ml de différents extraits de la plante avec des concentrations varier (250,500, 800, 1000, 1500, 2000 µg/ml).
- **Solution contrôle (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml d'eau distillé.
- **Solution contrôle produit (0,5 ml)** composé de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml de différents extraits de la plante avec des concentrations variées (250, 500, 800, 1000, 1500, 2000µg/ml).
- **Solution standard (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml de la solution standard diclofénac sodium avec des concentrations variées (250, 500, 800, 1000, 1500, 2000µg/ml).

Les échantillons ont été incubées à 37 °C pendant 20 min, ensuite la température était augmenté jusqu'à 57 °C pendant 3 min. Après refroidissement des tubes, 2,5 ml de la solution phosphate buffer saline (PH 6,3) a été ajouté aux solutions (Ghosh *et al.*, 2015).

L'absorbance a été lue par spectrophotomètre UV-visible à 255 nm.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de protéine été calculée comme suit:

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [100 - (\text{DO solution d'essai} - \text{DO contrôle produit} / \text{DO de solution contrôle})] \times 100$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées.

4.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges humains

L'activité anti inflammatoire in vitro d'extraits *Myrtus communis* été effectuée selon la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humains (Suresh *et al.*, 2014).

➤ Préparation des réactifs Alsevers solution

2 g dextrose, 0,8 g citrate de sodium, 0,05 g d'acide citrique et 0,42 g chlorure de sodium ont été dissous dans l'eau distillée. Le volume final a été préparé jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée.

- **Saline hypotonique**

0,36 g chlorure de sodium dissous dans 100 ml d'eau distillée.

- **Saline isotonique**

0,85 g chlorure de sodium dissous dans 100 ml d'eau distillée.

- **Tampon phosphate (pH 7,4 ; 0,15 M)**

2,38 g d'hydrogène phosphate disodium, 0,19 g de dihydrogène phosphate de potassium et 8 g chlorure de sodium ont été dissous dans 100 ml d'eau distillée.

➤ Préparation de la suspension des globules rouges humains (HRBC)

Le sang a été recueilli auprès d'un volontaire humain en santé qui n'avait pas pris de NSAIDS pendant 2 semaines avant l'expérience et a été mélangé avec un volume égal de la solution Alsevers stérilisée. Cette solution de sang a été centrifugée à 3000 tr / min à 10 min et les cellules emballées ont été séparées. Les cellules emballées ont été lavées avec une solution d'isosaline et une suspension à 10% v/v a été préparée avec de l'isosaline (Mohammed Munawar *et al.*, 2015).

Les solutions suivantes ont été utilisées:

- **Solution d'essai:** composé de 1 ml tampon phosphate, 2 ml solution saline hypotonique, 0,5 ml d'extrait végétal de concentration variée (250, 500, 800 et 1500 µg / ml) et 0,5 ml des globules rouge humains à 10% v/v cellules.
- **Solution contrôle:** composé de 1 ml de tampon phosphate et 2 ml d'eau et 0,5 ml de globules rouges humains 10% v/v dans une solution saline isotonique.
- **Solution standard:** composé de 1 ml de tampon phosphate, 2 ml de solution salée hypotonique, 0,5 ml de solution standard diclofénac sodium de différents concentration (250, 500, 800 et 1500 µg / ml) et 0,5 ml des globules rouge humains à 10% v/v cellules.

Tous les mélanges d'essai ont été incubés à 37 ° C pendant 30 min. puis centrifugé à 3000 tr / min pendant 20 min. Le liquide surnageant a été séparé et la teneur en hémoglobine a été estimée par un spectrophotomètre à 560nm. Le pourcentage d'hémolyse a été estimé en supposant que l'hémolyse produite dans le contrôle était 100% (Suresh *et al.*, 2014). Le pourcentage de stabilisation ou de protection de la membrane HRBC a été calculé en utilisant la formule suivante:

$$\text{Pourcentage de protection} = [100 - (\text{DO solution d'essai} / \text{DO solution Contrôle})] \times 100$$

5. Analyses statistique

Les résultats des tests effectués in vivo sont exprimés en Moyenne \pm SEM par un logiciel (Graph Pad. Prism. V 7.03). La différence entre le contrôle et les différentes doses est déterminée par le test one way ANOVA pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05 ($p < 0.05$).

Troisième partie :

*Résultats et
discussion*

I. Résultats

1. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les différents extraits préparés à partir des feuilles et des fruits de *Myrtus communis* L. en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé des différentes parties de *Myrtus communis* L. mentionnés dans le tableau 9, montrent la présence des flavonoïdes, des tanins, des stérols et triterpènes, des saponosides, des coumarines et des glycosides dans les feuilles et fruits avec des intensités variables.

La mise en évidence des flavonoïdes dans les feuilles et fruits de la plante est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune claire intense en contact avec la tournure de magnésium.

Les tanins sont présents avec une intensité importante dans les deux parties. Sa présence est confirmée par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration bleu verdâtre dans les feuilles et les fruits, il s'agit donc des tanins catéchiques.

Le test positif des stérols et triterpènes nous a montré leur présence dans chaque partie de la plante avec une apparition d'un anneau rouge brun et une couche surnageant de couleur verte.

L'apparition d'une fluorescence sous une lumière ultra-violette indique la présence des coumarines mais à une faible intensité.

On remarque aussi la présence des saponosides et des glycosides dans les feuilles et les fruits mais avec une quantité faiblement importante dans les feuilles ainsi l'absence totale des alcaloïdes dans les deux parties de la plante.

Résultats et discussion

Tableau 9 : Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la poudre de différentes parties de la plante.

Recherche de	Feuilles	Fruits
Alcaloïdes	-	-
Saponosides	+	++
Tanins	+++	+++
Stérols et triterpènes	+++	+++
Flavonoïdes	+++	+++
Coumarines	+	+
Glycosides	+	++

Réaction fortement positive : +++

Réaction faiblement positive : +

Réaction moyennement positive : ++

Réaction négative : -

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques de *Myrtus communis* L. ont démontré la présence des flavonoïdes, des tanins et des coumarines (**Diaz et Abeger, 1987 ; Hinou et al, 1988 ; Hyder et al, 2004**) ce qui est comparable à nos résultats, à l'exception des coumarines qui sont révélées faible dans nos extraits des deux parties de la plante.

De même les tests phytochimiques réalisés par **Baytop (1999)** et **Romani et al (1999)** ont montré également que les feuilles de *Myrtus communis* L. contiennent des tanins, des flavonoïdes et des huiles volatiles. Selon **Martiin Lopez et al (1999)**, les fruits de myrte se composent dans la plupart du temps de composés volatiles, de tanins, de sucres, de flavonoïdes, et d'acides organiques dont les anthocyanes et les flavonols représentent les composés les plus important (**Alamanni et Cossu, 2004; Franco et al., 2002; Montoro et al., 2006a, Montoro et al., 2006b**).

2. Rendement en extrait sec

Les extractions des différents composés phénoliques les plus abondant dans notre extrait (infusé, acétone 70% et méthanol 70%). Le rendement qui a été déterminé par rapport à 96 g de matériel végétal sec et broyé pour les Feuilles et 37g de fruit pour chaque extrait brut est exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 10:

Tableau 10 : Les rendements en extraits obtenus à partir des deux parties de la plante

Extraits	Solvants utilisés	Rendements%	
		Feuilles	Fruits
Extrait brut	Infusé	19.66	28.35
	Méthanol 70 %	26.35	21.45
	Acétone 70 %	17.04	15.97

Les résultats obtenus pour les extraits bruts des feuilles, montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait méthanolique (26,35%) suivi par l'extrait aqueux (19.66%) et par (17, 04%) pour l'extrait acétonique (**Figure 8**).

Cependant le rendement en extrait aqueux des fruits est celui le plus élevé (28,35%) par rapport aux autres extraits brut. Le rendement trouvé dans l'extrait méthanolique est plus important (21,45%) suivi par l'extrait acétonique (15,97%).

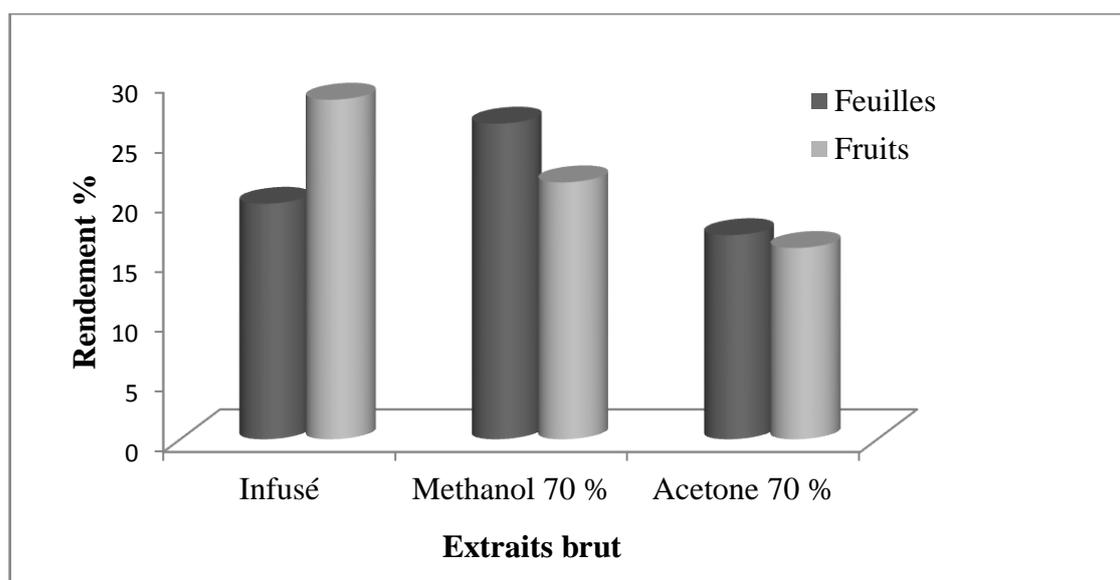


Figure 8: Rendements des extraits bruts obtenus à partir des deux parties de la plante.

3. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée par **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Figure 9**).

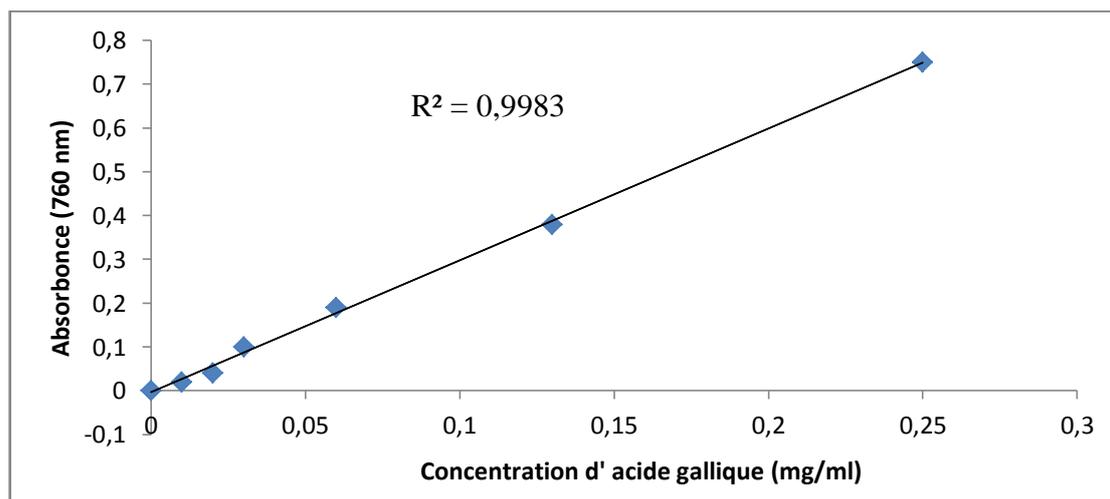


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

Pour les différents extraits bruts des feuilles de *Myrtus communis* L. Une variabilité des teneurs en phénols totaux a été enregistrée. Une différence très significative ($P < 0.01$) entre les trois extrais étudiées (**Figure 10**). La teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait de méthanol 70 % , elle est de l'ordre de $129,23 \pm 2.30$ mg GAE/g suivi par l'extrait aqueux (Infusé) avec une teneur de $112,96 \pm 1.74$ mg GAE/g, puis extrait de l'acétone 70 % avec une teneur de $96,46 \pm 1.11$ mg GAE/g. Pour les fruits une différence hautement significative ($P < 0.001$) entre infusé, méthanol 70% et acétone 70 % et une différence significative ($P < 0.05$) entre méthanol 70% et acétone 70 % (**Figure 11**). La teneur la plus élevée est constatée dans infusé avec une teneur de $94,02 \pm 2.13$ mg GAE/g suivi par extrait de méthanol 70 % avec $66,26 \pm 2.10$ mg GAE/g et extrait acétone 70 % avec $54,15 \pm 1.01$ mg GAE/g.

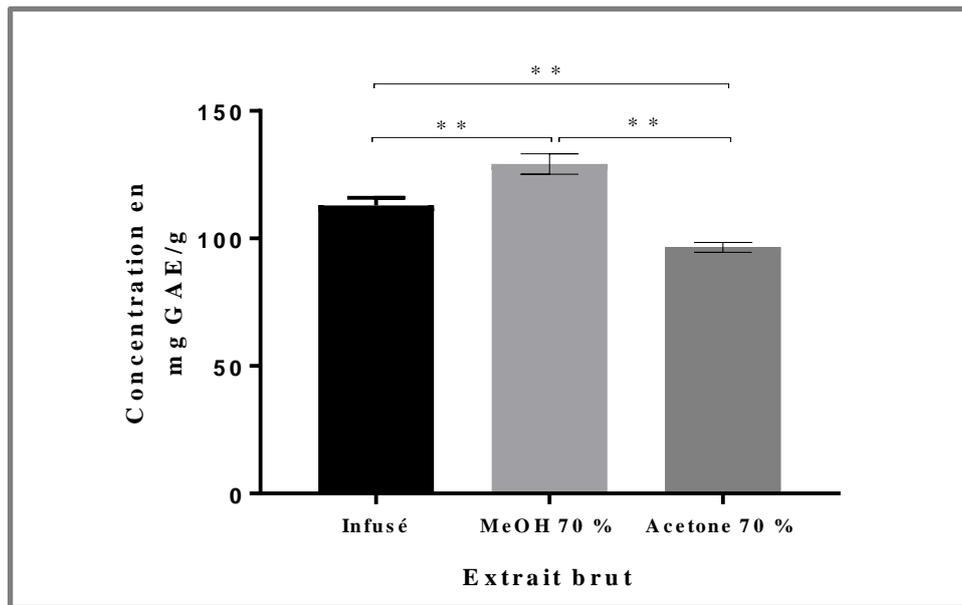


Figure 10 : Teneurs en phénols totaux pour les extraits bruts des feuilles de la plante étudiée.

Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique, ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3).

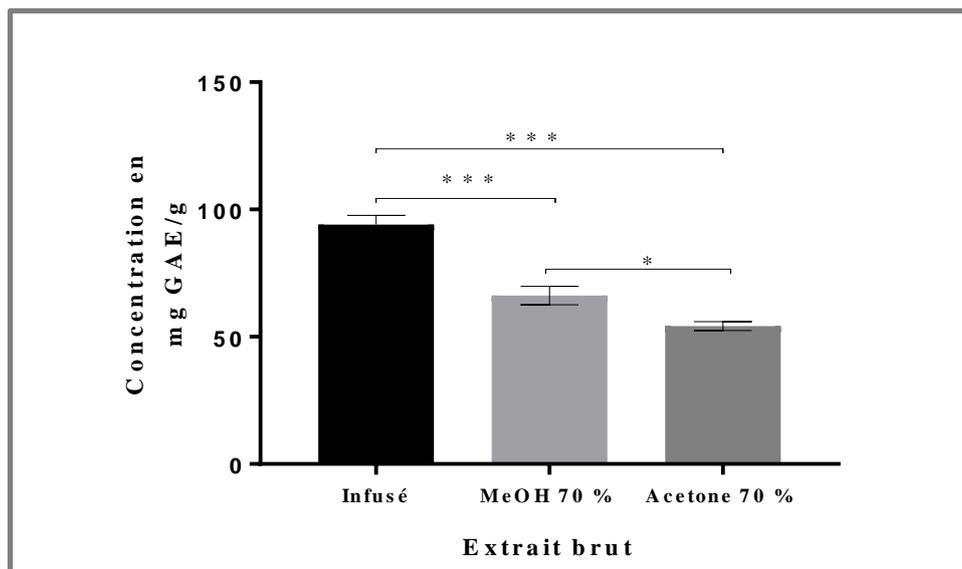


Figure 11 : Teneurs en phénols totaux pour les extraits bruts des fruits de la plante étudiée.

Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique, ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3).

Ces résultats importantes reflètent les données trouvés dans la figure 8 où nous avons enregistré des rendements élevés des extraits bruts ce qui prouve la richesse de chaque partie de la plante en polyphénols à savoir les flavonoïdes, les tanins et les stéroïdes et triterpène.

4. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par **Zhishen et al, (1999)**. La catéchine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différents extraits bruts des feuilles et fruits de *Myrtus communis* qui est exprimé en mg équivalent de catéchine (EC) par gramme de matière végétale sèche (**Figure 12**).

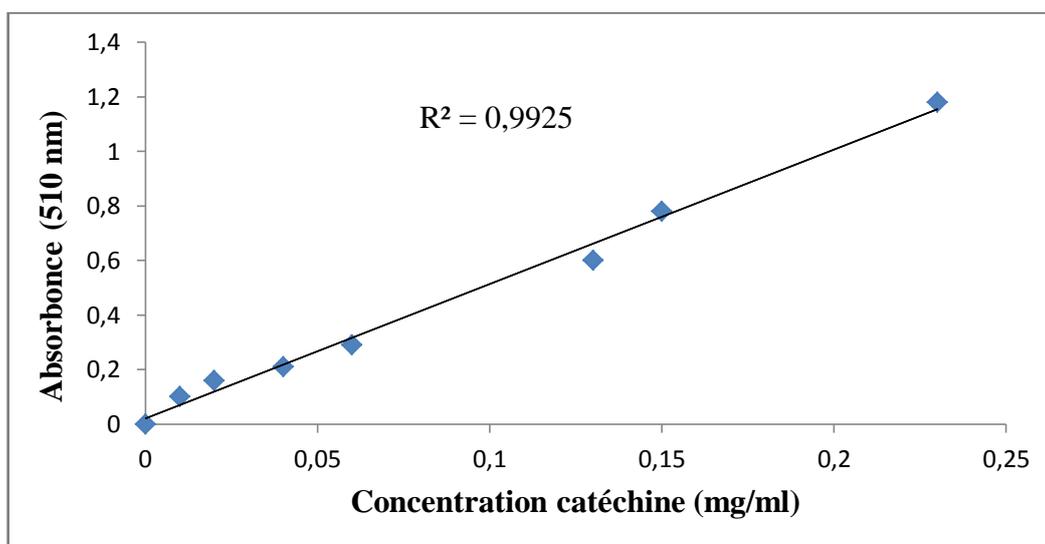


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux

D'après l'histogramme illustré dans la figure 13, une augmentation significative ($P < 0,05$) de la teneur des flavonoïdes dans l'infusé des feuilles de *M. communis* par rapport au méthanol 70 % et estimé par $16,56 \pm 2,05$ mg EC/g. Un rapprochement dans les teneurs des flavonoïdes entre méthanol 70 % et acétone 70% elles représentent une valeur de $8,87 \pm 1,11$ et $6,23 \pm 1,20$ mg EC/g respectivement. Concernant les fruits une augmentation hautement significative a été observée ($P < 0,001$) dans la teneur des flavonoïdes de l'extrait aqueux par rapport à l'extrait méthanol 70 % et acétone 70 % (**Figure 14**). Elle est estimée par $15,25 \pm 0,53$ mg EC/g pour l'infusé suivi par le méthanol 70 % avec une teneur de $5,97 \pm 1,18$ mg EC/g, puis extrait de l'acétone 70 % avec $3,82 \pm 0,85$ mg EC/g.

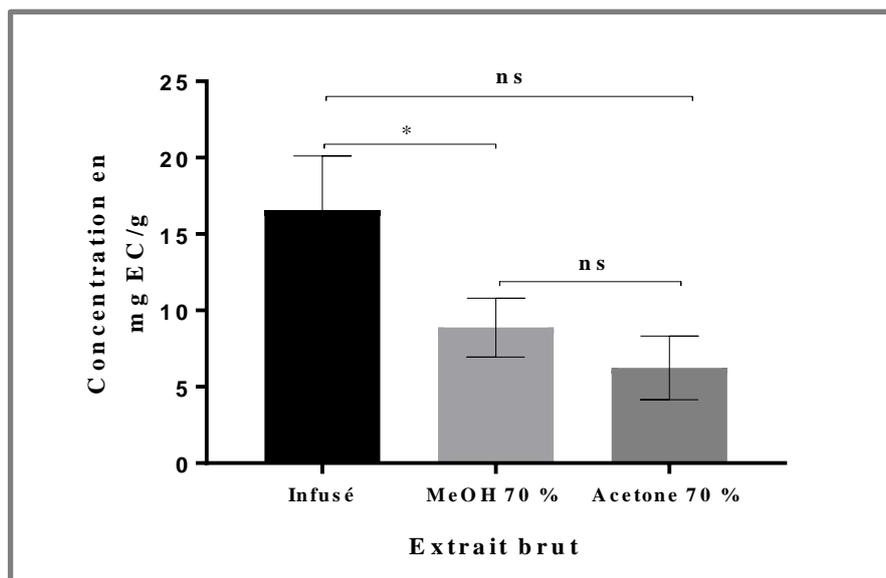


Figure 13 : Teneurs en flavonoïdes pour les extraits bruts des feuilles de la plante étudiée.

Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique, ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3).

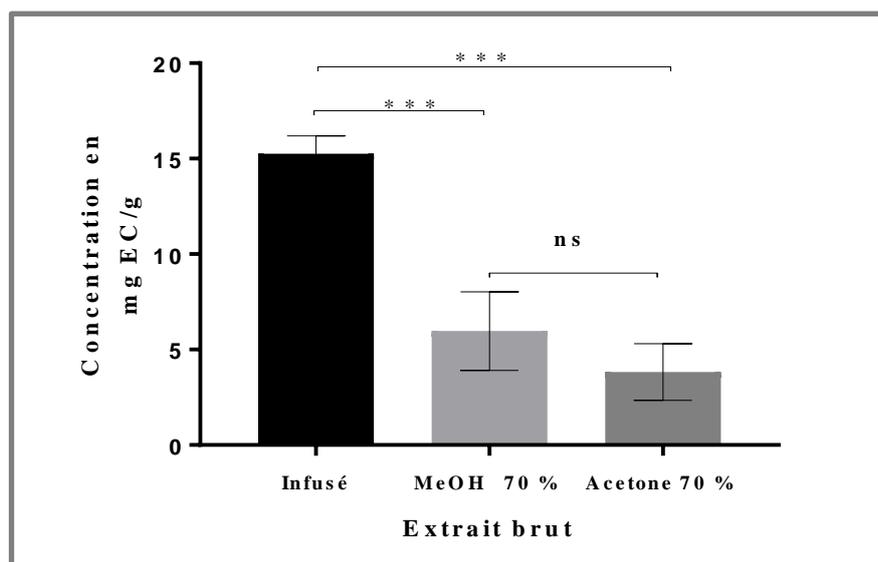


Figure 14 : Teneurs en flavonoïdes pour les extraits bruts des fruits de la plante étudiée.

Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique, ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3).

5. Activité Anti-inflammatoire in vitro

5.1. Inhibition de la dénaturation du BSA

Le tableau 11 et 12 montre les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits bruts de *Myrtus communis* qui consiste à évaluer les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de Bovine sérum albumine (BSA).

D'après les résultats nous avons observé un rapprochement de taux d'inhibition de la dénaturation du BSA entre l'anti inflammatoire standard (diclofénac sodium) et les différents extraits étudiée des deux partie de la plante (feuille et fruit) avec les différentes doses testé ($p > 0.05$).

Une inhibition très significative ($p < 0.01$) a été enregistré avec l'extrait méthanolique des feuilles a la concentration de 2000 µg/ml qui estimé par 68,22 % suivi par infusé avec un taux de 63.36 % puis l'extrait acétonique par 59.29 %. Cependant la diclofénac sodium inhibe hautement significativement ($p < 0.001$) la dénaturation du BSA par un pourcentage de 88, 37 % à la même concentration (**Tableau 11**).

Tableau 11: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA des extraits bruts des feuilles de *Myrtus communis*.

Organe végétale	Extrais bruts	Dose (µg/ml)	Pourcentage d'inhibition (%)
Feuilles	Infusé	250	08.5 ± 1.83 ^{ns}
		500	12.64 ± 1.09 ^{ns}
		800	19.3 ± 1.76 ^{ns}
		1000	41.47 ± 1.66 *
		1500	53.08 ± 0.87 *
		2000	63.36 ± 1.45 **
	Méthanol 70 %	250	05.69 ± 0.79 ^{ns}
		500	11.61 ± 0.65 ^{ns}
		800	23.47 ± 1.82 ^{ns}
		1000	31.17 ± 1.46 ^{ns}
		1500	55.60 ± 0.36 *
		2000	68.22 ± 2.00 **

Résultats et discussion

	Acétone 70 %	250	07.2 ± 1.31 ^{ns}
		500	12.55 ± 1.22 ^{ns}
		800	28.6 ± 1.34 ^{ns}
		1000	33.36 ± 0.99 ^{ns}
		1500	51.04 ± 0.89 *
		2000	59.29 ± 1.50 *
	Diclofénac sodium	250	10.32 ± 0.7 ^{ns}
		500	16.15 ± 1.58 ^{ns}
		800	24.5 ± 1.14 ^{ns}
		1000	45.57 ± 1.65 *
		1500	65.4 ± 2.21**
		2000	88.37 ± 1.60 ***

Les valeurs représentent les moyennes ± standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique, ns : non significatif, p<0,05*significatif, p<0,01** très significatif, p<0,001*** hautement significatif, (n=3).

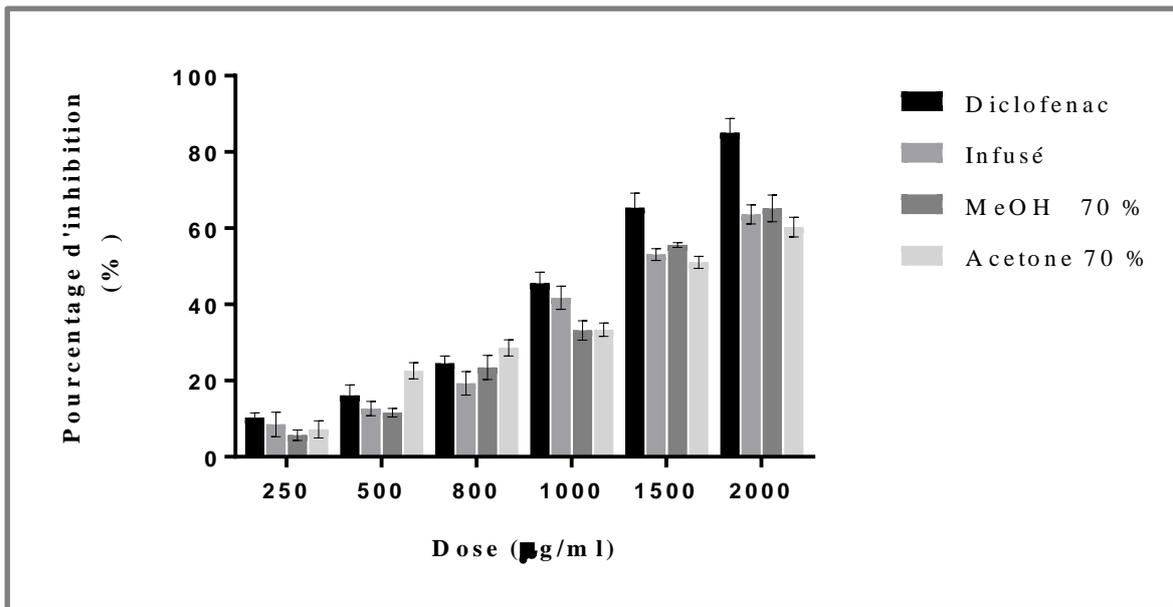


Figure 15: L'effet de *Myrtus communis* (Feuilles) : Pourcentage d'inhibition de la denaturation du BSA.

Les valeurs représentent les moyennes ± standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique, (n=3).

Résultats et discussion

La figure 16 représente les résultats du pourcentage d'inhibition de BSA pour les extraits bruts étudiés des fruits. Une inhibition très significative ($p < 0.01$) enregistrée avec l'extrait méthanolique elle est de l'ordre de 73.06 % et de l'extrait acétonique avec un pourcentage de 65.05 %, suivi par une inhibition significative ($p < 0.05$) de l'extrait aqueux avec 55,49 % à la concentration de 2000 µg/ml.

Tableau 12: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA des extraits bruts des fruits de *Myrtus communis*.

Organe végétale	Extraits bruts	Dose (µg/ml)	Pourcentage d'inhibition (%)
Fruits	Infusé	250	10.88 ± 0.96 ^{ns}
		500	23.38 ± 1.11 ^{ns}
		800	27.53 ± 1.04 ^{ns}
		1000	31.89 ± 1.12 ^{ns}
		1500	44.50 ± 1.17 *
		2000	55.49 ± 1.59 *
	Méthanol 70 %	250	13.80 ± 1.55 ^{ns}
		500	25.19 ± 1.64 ^{ns}
		800	32.30 ± 1.68 ^{ns}
		1000	44.21 ± 2.1*
		1500	51.16 ± 1.51*
		2000	73.06 ± 1.97 **
	Acétone 70 %	250	11.03 ± 1.36 ^{ns}
		500	16.74 ± 1.60 ^{ns}
		800	23.63 ± 1.1 ^{ns}
		1000	42.01 ± 1.75*
		1500	49.74 ± 1.49*
		2000	65.05 ± 1.43 **
Diclofénac sodium	250	10.32 ± 0.7 ^{ns}	
	500	16.15 ± 1.58 ^{ns}	
	800	24.5 ± 1.14 ^{ns}	

Résultats et discussion

		1000	45.57 ± 1.65*
		1500	65.4 ± 2.21**
		2000	88.37 ± 1.60 ***

Les valeurs représentent les moyennes ± standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique, ns : non significatif, p<0,05*significatif, p<0,01** très significatif, p<0,001*** hautement significatif, (n=3).

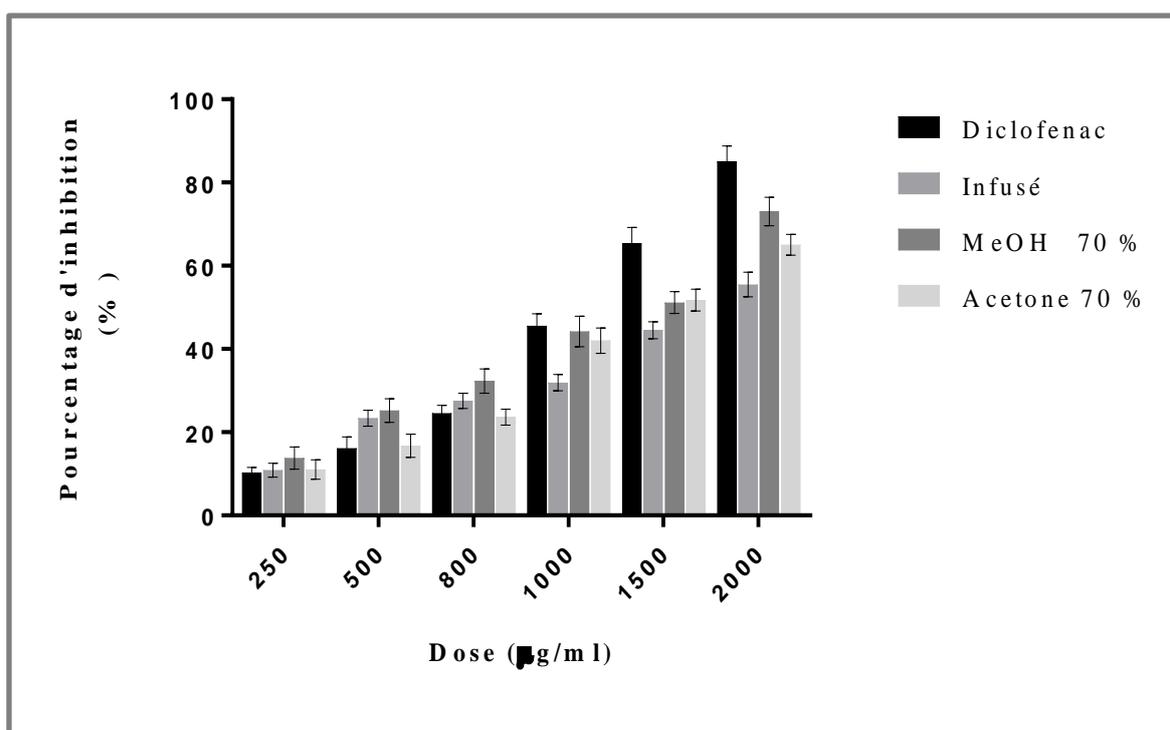


Figure 16: L'effet de *Myrtus communis* (Fruits) : Pourcentage d'inhibition de ladénaturation du BSA.

Les valeurs représentent les moyennes ± standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique, (n=3).

Résultats et discussion

5.2. Stabilisation des membranes des globules rouge humains

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits bruts de *Myrtus communis* qui compte sur le pourcentage d'hémolyse et l'évaluation de pourcentage d'inhibition d'hémolyse des globules rouge humains (GRH) est représentée dans le tableau ci dessous.

Tableau 13: Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse des GRH des extraits bruts des feuilles et fruits de *Myrtus communis*.

Organe végétale	Extraits bruts	Dose (µg/ml)	Pourcentage D'hémolyse (%)	Pourcentage d'inhibition d'hémolyse (%)
Feuilles	Infusé	250	88.18 ± 0.93	11.12 ± 0.93 ^{ns}
		500	63.99 ± 3.22	36.00 ± 3.22 ^{ns}
		1000	49.59 ± 1.20	50.40 ± 1.20 *
		1500	40.44 ± 1.03	59.55 ± 1.03 *
	Méthanol 70 %	250	85.64 ± 1.70	14.35 ± 1.70 ^{ns}
		500	61.21 ± 1.67	38.79 ± 1.67 ^{ns}
		1000	47.81 ± 1.56	52.18 ± 1.56 *
		1500	30.62 ± 1.16	69.66 ± 1.16 **
	Acétone 70 %	250	90.51 ± 0.83	9.48 ± 0.83 ^{ns}
		500	78.22 ± 1.34	21.78 ± 1.34 ^{ns}
		1000	53.59 ± 1.25	46.40 ± 1.25 *
		1500	47.71 ± 0.90	52.28 ± 0.90 *
Fruits	Infusé	250	91.00 ± 1.53	9.00 ± 1.53 ^{ns}
		500	81.05 ± 1.11	18.95 ± 1.11 ^{ns}
		1000	64.44 ± 1.76	35.55 ± 1.76 ^{ns}
		1500	51.8 ± 2.06	48.2 ± 2.06 *
	Méthanol 70 %	250	86.28 ± 1.53	13.71 ± 1.53 ^{ns}
		500	68.09 ± 1.91	31.90 ± 1.91 ^{ns}
		1000	57.66 ± 1.56	42.33 ± 1.56 *
		1500	39.17 ± 1.97	60.82 ± 1.97 **
	Acétone 70 %	250	94.08 ± 1.28	5.91 ± 1.28 ^{ns}
		500	88.5 ± 1.62	11.49 ± 1.62 ^{ns}

Résultats et discussion

		1000	74.72 ± 2.31	25.27 ± 2.31 ^{ns}
		1500	53.30 ± 2.13	46.69 ± 2.13 *
	Diclofénac sodium	250	69.63 ± 1.27	30.37 ± 1.27 ^{ns}
		500	53.19 ± 1.49	46.80 ± 1.49 *
		1000	39.21 ± 0.91	60.78 ± 0.91**
		1500	17.25 ± 1.24	82.74 ± 1.24 ***

Les valeurs représentent les moyennes ± standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70% : extrait hydro-méthanolique, ns : non significatif, p<0,05*significatif, p<0,01** très significatif, p<0,001*** hautement significatif, (n=3).

D'après les résultats enregistrés dans la figure 17, une diminution significative (P<0.05) dans le taux d'hémolyse des GRH avec les trois extraits bruts des feuilles à la dose 250 µg/ml. Les résultats obtenus montrent que le pourcentage d'effet hémolytique en réduction lors de l'augmentation des concentrations de différents extraits de *Myrtus communis*.

L'hémolyse maximale 90,51% est obtenue avec l'extrait acétone 70 % à la concentration de 250 µg/ml suivi par l'infusé par 88,18% puis l'extrait méthanol 70 % par 85,64%. Concernent les fruits d'après la figure 18 les résultats montre que il existe une réduction non significative (P>0.05) de l'infusé et l'acétone 70 % dans le taux d'hémolyse des GRH .Par contre on a observé une diminution significative (P<0.05) avec l'extraits de méthanol 70 % à la concentration de 250 µg/ml. L'hémolyse maximale 91,00% est obtenue avec l'infusé suivi par l'acétone 70 % par 88,50% puis l'extrait méthanol 70 % par 86,28%. Concernent la diclofénac nous avons marqué une diminution très significative (P<0.01) de taux d'hémolyse des GRH a la comparaison avec le contrôle qui hémolysé 100%. Il estimé par 69.63 % à la concentration de 250 µg/ml.

Cependant on a remarqué une diminution hautement significative (P<0.001) a la dose 1500 µg/ml de taux de l'hémolyse des GRH avec les extraits bruts testé des feuilles. Il est estimé par 47.71 %, 40.44 % et 30.62 % pour l'acétone 70 %, l'infusé et le méthanol 70 % respectivement. Pour les fruits il existe une réduction très significative (P<0.01) qui estimé par 53.30, 51.8 et 39.17 % avec l'acétone %, l'infusé et le méthanol 70% respectivement (**Figure 18**). Concernent la diclofénac sodium une diminution hautement

Résultats et discussion

significative été remarqué ($P < 0.001$) a la dose 1500 $\mu\text{g/ml}$ qui estimé par 17.25 % à la comparaison avec le contrôle.

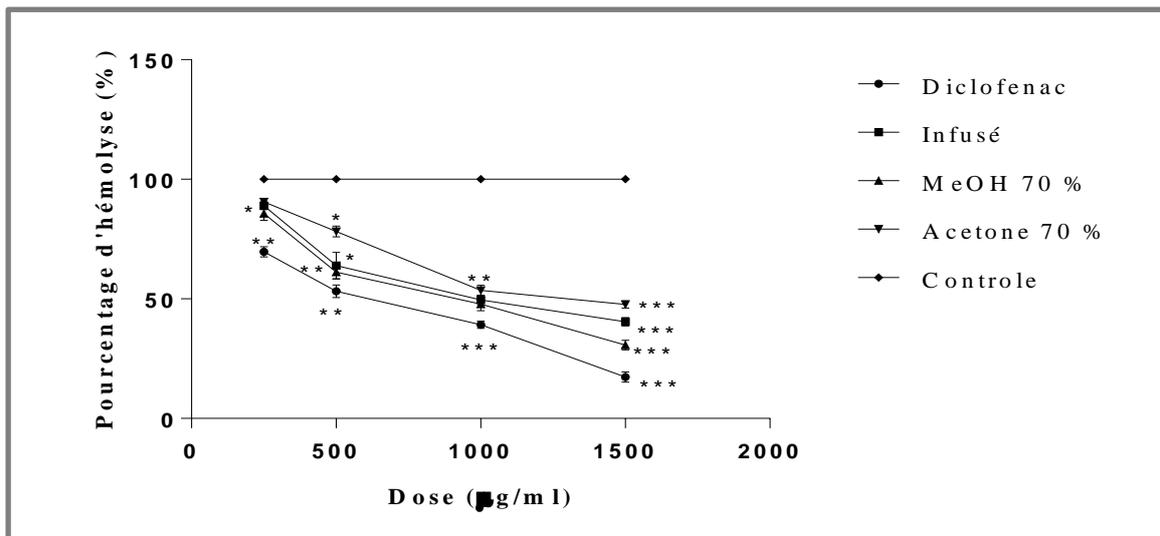


Figure 17: L'effet des extraits bruts des feuilles de *M. communis* sur l'hémolyse des GRH.

Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70 % : extrait hydro-méthanolique, ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3).

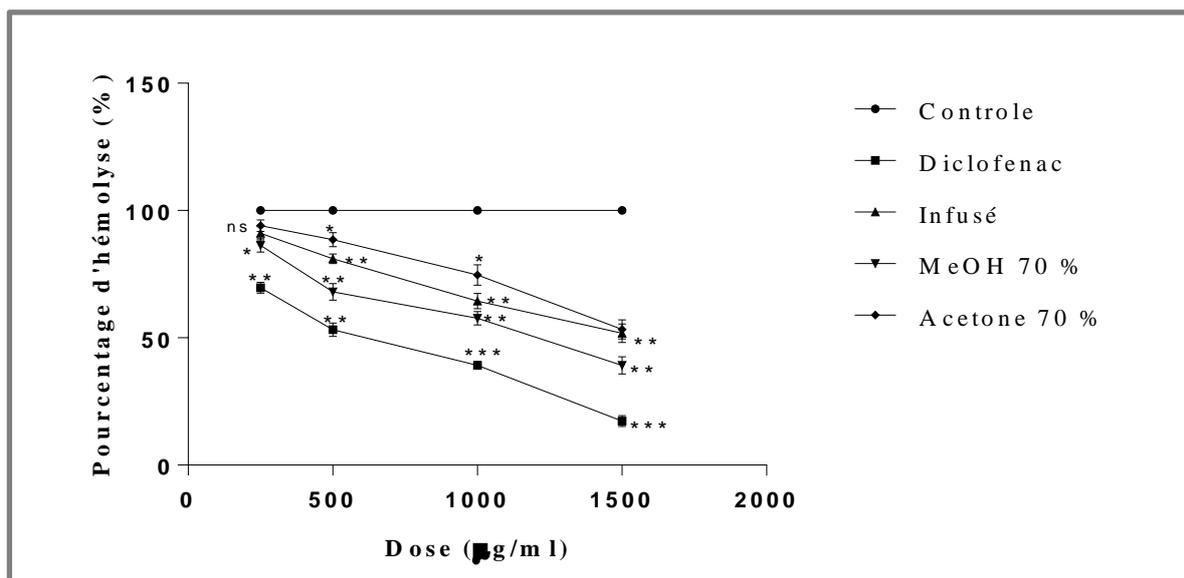


Figure 18: L'effet des extraits bruts des fruits de *M. communis* sur l'hémolyse des GRH.

Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70 % : extrait hydro-méthanolique, ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3).

Résultats et discussion

La lyse des GRH induite par l'hypotonie. La mesure du pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est considérée comme une activité anti inflammatoire in vitro par la stabilisation membranaire des GRH.

Le pourcentage d'inhibition d'hémolyse pour les extraits bruts (feuille et fruit) de *Myrtus communis* avec les concentrations testé (250, 500, 100, 1500 µg/ml) représenter dans le (Tableau 13).

D'après les résultats insérés dans la Figure 19, une inhibition très significative ($p < 0.01$) de l'hémolyse des GRH de l'extrait méthanol 70 % (feuilles) est de 69,66% aux 1500 µg/ml, suivi une inhibition significative ($p < 0.05$) par l'infusé et acétone 70 % avec une valeur de 59,55 % et 52,28 % respectivement. Pour les fruits le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse maximal des GRH est enregistré avec l'extrait méthanol 70 % par 60.82 % aux 1500 µg/ml, suivi par l'infusé avec une valeur de 48.2 %, puis acétone 70 % par 46.69 % (Figure 20).

Cependant la diclofénac sodium inhibe hautement significativement ($p < 0.001$) l'inhibition de l'hémolyse des GRH avec un pourcentage de 82,74% d'inhibition à la concentration 1500 µg/ml.

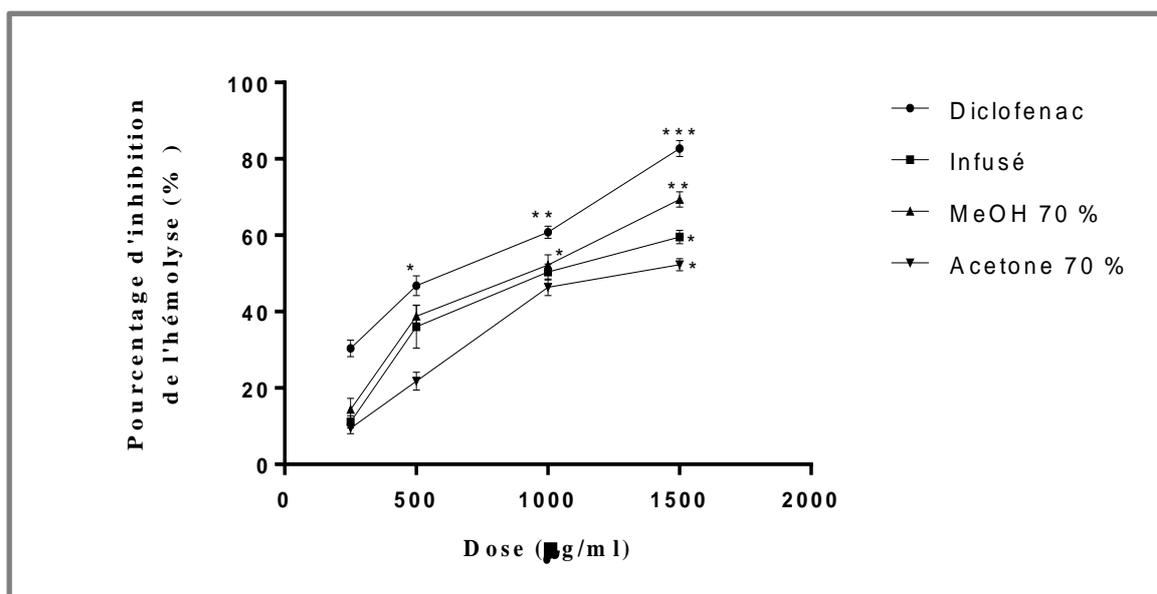


Figure 19: L'effet des extraits bruts des feuilles de *M. communis* : Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse des GRH.

Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70 % : extrait hydro-méthanolique, ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3).

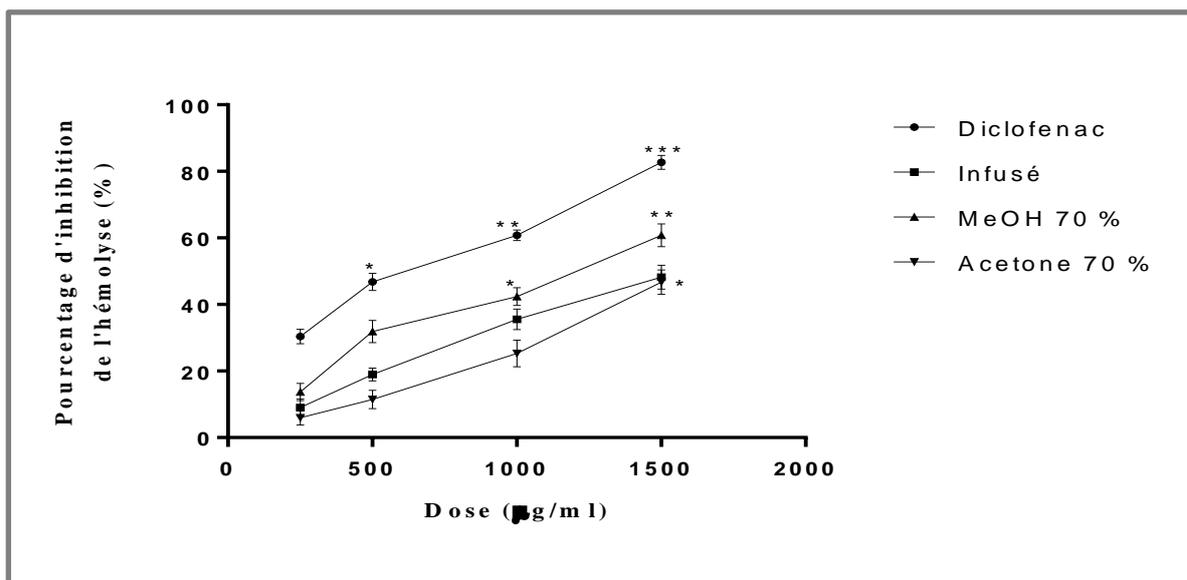


Figure 20: l'effet des extraits bruts des fruits de *M. communis* : Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse des GRH.

Les valeurs représentent les moyennes \pm standard erreur moyenne. Acétone 70% : extrait hydro-acétonique ; MeOH 70 % : extrait hydro-méthanolique, ns : non significatif, $p < 0,05$ *significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif, (n=3).

II. Discussion

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation (**Barros et al., 2008 ; Bagad et al., 2011**) . La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoire peut être due à la dénaturation des protéines *in vivo*. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintien la structure tridimensionnelle des protéines (**Manvar mital et Desai., 2014**).

Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le phenylbutazone et l'indomethazine inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines (**Sangeetha et al., 2011**). Ils empêchent la dénaturation d'albumine traitée par la chaleur à pH physiologique (pH: 6.2 à 6.5). D'après les résultats, on constate que les extraits bruts de *Myrtus communis* sont capables de contrôlé la production d'auto-antigène par l'inhibition de la dénaturation des protéines. L'activité inhibitrice de la dénaturation de BSA est peut être attribuée à la présence de différents composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les tannins dans les l'extrait trouvés lors des criblages phytochimiques. De nombreuses études ont évalué l'effet inhibiteur de différents extraits de plantes sur l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de la dénaturation des protéines. On peut conclure que les extraits bruts utilisé dans cette étude possèdent un effet anti-inflammatoire marqué in vitro contre la dénaturation des protéines, et que D'autres études définitives sont nécessaires pour déterminer les mécanismes et les électeurs derrière ses actions anti-inflammatoires.

Il est connu que la membrane de GR est structurellement équivalente à la membrane lysosomiale. Pour toute substance protégeant la membrane GR peut être prévue comme un stabilisateur de la membrane lysosomiale (**Mohammed Munawar et al., 2015**). Le Lyse membranaire des GRs est causes par les blessures ou de l'hémolyse ou bien de l'oxydation d'hémoglobine. Ce type de dommage est causes par des dommages secondaires des GRs par l'intermédiaire de la peroxydation lipidique induite par des radicaux libres ainsi que la libération des médiateurs inflammatoires comme les phospholipases (**Gaffo A et al., 2006**).

La méthode de la stabilisation des membranes des GRH a été choisie pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts (feuilles et fruits) de *Myrtus communis* in vitro car la membrane érythrocytaire est analogue à la membrane lysosomiale et sa stabilisation implique que l'extrait peut ainsi stabiliser les membranes lysosomiales. La Stabilisation de la membrane lysosomiale est importante dans la limitation de la réponse inflammatoire en empêchant la libération de constituants lysosmiques des neutrophiles activés tels que les enzymes bactéricides et les protéases qui provoquent une inflammation des tissus et d'autres dommages lors de la libération extracellulaire (**Shendkar et al., 2014**). L'hémolyse induite par l'hypotonie peut découler de la perte des cellules en raison de la perte de pression osmotique de liquide intracellulaire et composant électrolytiques. L'extrait peut inhiber les processus, qui peuvent stimuler ou d'améliorer l'efflux de ces composants intracellulaires (**Kumar et al., 2012**).

Conclusion
générale

Conclusion

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent.

L'objectif primordial assigné par cette étude englobe le même contexte. Nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et du pouvoir évaluer l'activité anti-inflammatoires in vitro de différents extraits de *Myrtus communis L.*

Les tests phytochimiques réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence des flavonoïdes, des tanins, des stérols et triterpènes, des saponoside, coumarines et des glycosides dans les deux parties de la plante ainsi que l'absence totale des alcaloïdes.

Les extractions des différents composés phénoliques les plus abondant dans notre plante nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait notamment les extraits bruts (infusé, acétone 70% et méthanol 70%), dont le rendement le plus remarquable est celui de l'extrait aqueux des fruits (28,35%).

La teneur des phénols totaux et des flavonoïdes est variable entre les différentes parties de *Myrtus communis L.* La teneur la plus élevée des polyphénols est constatée dans l'extrait infusé des fruits avec une teneur de $94,02 \pm 2.13$ mg GAE/g suivi par les feuilles dans l'extrait de méthanol 70 %, elle est de l'ordre de $129,23 \pm 2.30$ mg GAE/g. Concernant les flavonoïdes, nous avons observé des teneurs rapprochées pour l'extrait infusé dans la partie feuille et fruit de la plante, elles représentent une teneur de 16.56 ± 2.05 mg EC/g et $15,25 \pm 0.53$ mg EC/g respectivement.

Ces résultats importants reflètent les rendements élevés et la richesse de chaque partie de la plante en polyphénols à savoir les flavonoïdes, les tanins et les anthocyanes.

Concernant l'activité anti-inflammatoire in vitro, nous avons étudiée et évalué cette activité dans tous les extraits des différentes parties de la plante par deux méthodes la première est de l'inhibition de la dénaturation du BSA et la deuxième par la stabilisation des membranes des globules rouge humains.

Conclusion

Dans la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines, les extraits de *Myrtus communis*. Présentent une capacité intéressante pour réduire le taux de la dénaturation des protéines, un maximal taux d'inhibition a été enregistré avec l'extrait méthanolique des fruits avec une valeur de 73.06 % a la dose 2000 µg/ml. Alors que dans la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humains, le *Myrtus communis L.* présentent une capacité de la protection de la lyse de la membrane, un maximal taux d'inhibition et de protection de la membrane enregistré avec l'extrait méthanolique des feuilles avec 69.66% a la dose 1500 µg/ml. Nous conduira dans la perspective future de notre étude, de compléter et d'approfondir ce travail par une étude phytochimique avancée.

Dans un premier temps de faire un fractionnement de ces extraits et d'identifier les molécules responsables du pouvoir anti-inflammatoire en utilisant des techniques d'identification plus performantes.

Dans un deuxième temps, il serait intéressant d'évaluer l'activité anti inflammatoire par d'autres méthodes et de faire des tests in vivo afin de déterminer de nouveaux agents thérapeutiques.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Adedapo, A. A., Jimoh, F. O., Koduru, S., Masika, P. J., Afolayan, A. J.** (2009). Assessment of the medicinal potentials of the methanol extracts of the leaves and stems of *Buddleja saligna*, *BMC Complement Altern, Med*; **9**: p.21.
- Adrie, A., Pinsky, M .R.** (2000). The inflammatory balance in human sepsis. *Intensive Care Med*; **26**: p 364 -375.
- Alamanni, M.C., Cossu, M.** (2004). Radical scavenging activity and antioxydant activity of liquors of Myrtle (*Myrtus communis L*) berries and leaves Italian, *Journal of Food Science*; **16**: p.197 – 208.
- Ames, B. N., Gold, L. S., Willett W.C.** (1995). The causes and prevention of cancer, *Proc. Natl.Acad. Sci. USA*; **92**: 5258-65.
- Amigues, S.** (2010). Théophraste. Recherches sur les plantes à l'origine de la botanique. Belin: Paris; p.432.
- Amjad, Houssain. M.** (2005). Neem seed oil: Bangladesh, examples of the development of pharmaceutical products from medicinal plants .*Bngladesh Council of Scientific and Industrial Research (BCSIR)*; **10**: p .59-63.
- APG III.** (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*; **161**:105-121.
- Azeem, A. K., Dilip, C., Prasanth, S. S., Junise, H. S. V., Kumar, S., Naseera, C.** (2010). Anti-inflammatory activity of the glandular extracts of *Thunmus alalunga*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* ; **3**(10):412-420.
- Baba, Aissa. F.** (1999). Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. *Substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident* ; p .181.
- Babayi, H., Kolo, I., Okogum, J. I.** (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of Eucalyptus Aamaldulensis Ans Terminalia Catappa against some pathogen microorganisms. *Biochemisten*; **16** (2) : 102-105.
- Badiaga, M.** (2012). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia Smith* une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse Docteur d'université. *Ecole doctorale des sciences fondamentales* ; p183 .
- Bagad, Y. M., Umarmkar, A. R., Tatia, A. U., Surana, S. J.** (2011). Investigation of anti-inflammatory and analgesic activity of *Bridelia airyshawii* (Euphorbiaceae). *J pharm Res*; **4**(5):1326-1332.
-

Références bibliographiques

- Bahorun, T.** (2009). Substances naturelles actives. La flore Mauricienne . . La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentiel. *Food an Agricultural Research council* .réduit. Mauritius ; **12** : p. 45-51.
- Bahorun, T.** (1997). Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius* ; p. 83.
- Barboni, T.** (2006). Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur, *l'université de Corse* ; p26.
- Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., Ferreira, I.C.F.R.** (2008).Antioxidant activity of *Agaricus sp.* mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chem.*; **111**: 61–66.
- Baytop, T.** (1999). Therapy with medicinal Plants in Turkey (Past and Present), *Nobel Tip Kita pevleri Press, Istanbul* .
- Beddou , F.**(2015). Etude phytochimique et activité biologique de deux plantes médicinales sahariennes (*rumex vesicarius L.* et *anvillea radia tacoss .* et dur),thèse doctorat , *aboubeker belkaid ,tlemcen ,algérie* ;p.06.
- Benamor, B.** (2008).Maitrise de l'aptitude tehnologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principe actifs; texturation par Détente instantanée Contrôlée (DIC). Thèse de doctorat en génie des procédés Industriels. *Université de la Rochelle*.
- Benhamza, L.** (2008). Effets biologie de la petite *centauree Erythraea cetraurium*,*Pers .technique et documentation* ;**32** :p. 585-594.
- Benzahi, K.** (2001). Contribution à l'étude des flavonoides dans la Plante Cynodn Dactylon-L.mémoires de Magister. *Université de Ouargla*; p.15-17.
- Béregère, schnebelen.** (2008). les plantes médicinales. *sélection du reader's digest*. Éd agence media ; **253** :p. 60.
- Bock, K., Pedersen, C.** (1983). Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of monosaccharides. In R. S.Tipson, & D. Horton (Eds.), *Advances in carbohydrates chemistry and biochemistry* New York: *Academic Press Inc*; **41**:27-45
- Boizot, N., Charpentier, J. P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiens, prairiaux et aquatiques, *INRA* ; p.79-82.
-

Références bibliographiques

- Booth, N. L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E.** (2004). New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*; **50**:120-123.
- Botting, R. M., Botting, J. H.** (2000). Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: An overview. *Clin Drug Investing*; **19**:p1 -7.
- Bouattoura, N.** (1988). Les ressources phytogénétiques. Importance Préservation-Utilisation. Annales, INA, El Harrach-Alger ; **12** (1): p. 43-63.
- Bouhadjera, K.** (2005). contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana r.br* et *Aristida Pungens L*, thèse Diplôme de Doctorat d'état , *université aboubekr belkaid Algérie* ;p.149.
- Bruneton, J.** (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris, 4^{ème} Edition *Lavoisier*.
- Bruneton, J.** (1993). Pharmacognosie et Phytochimie des plantes médicinales. *Tec et Doc Lavoisier* 2^{ème} Ed, Paris ;p.914.In thèse Diplôme de doctorat , Université Mentouri-Constantine ;p.49
- Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 3eme Ed, *Tec&Doc Lavoisier*, Paris ; p.1120.
- Bruneton, J.** (2006). Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales. *technique et documentaire*, 3^{ème} Edition *lavoisier* , paris , p 1120.
- Charles, N. S., Peter, A. W., Derek, W.G.** (2010). Fundamentals of Inflammation. *Cambridge University Press*; p.2-3.
- Chebil, L.** (2006). Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* :études cinétique, structurale et conformationnelle. Thèse en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'institut national polytechnique de Lorraine. INPL, Nancy.
- Chen, Y.F., Tsai, H.Y., Wu, T.S.** (1995). Ant i -Inflammatory and analgesic act ivities from the roots of *Angelica pubescens*, *Planta Med*; **61**: 2-8.
- Chevallier, A.** (2001). Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition).
- Chippada, S. C., Meena, V.** (2011). Antioxidant, an anti-inflammatory and anti-arthritis activity of *Centella asiatica* extracts. *J Chem Bio Phy Sci*;1(2):260-269.
- Choi, H., Song, J., Park, K.** (2009). Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication. *Eur.J.Pharm.Sci* ; **37** (3-4) : 329-33.
-

Références bibliographiques

- Churms, S. C.** (1996). Recent progress in carbohydrate separation by high performance liquid chromatography based on size exclusion. *Journal of Chromatography A*; **720**: 151-166.
- Dangles, O., Stoeckel, C., Wigand, M. C., Brouillard, R.** (1992) Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett*; **33**: 5227-30.
- Delille, L.** (2007) . Les plantes médicinales d'Algérie. Éd. BERTI, Alger ; p.122.
- Diaz, A. M., Abeger, A.** (1987). Contribution à l'étude des composés phénoliques des graines de *Myrtus communis L.*, Plantes médicinales et phytothérapie ; **21** : 317-322.
- Djebaili, S.** (1984). Steppe algérienne. Phytosociologie et écologie. Ed. OPU, Ben-Aknoun, Alger ; p.177.
- Dombrowicz, D., M. Capron.** (2001). "Eosinophils, allergy and parasites." *Curr Opin Immunol*; **13**(6): p.716-20.
- El-demerdash, F. M., Youcef, M. I., Zoheir, M. A.** (2005). Stannous chloride induces alterations in enzyme activities, lipid peroxidation and histopathology in male rabbit: Antioxidant role of vitamin C. *Food Chem., Toxicol* ; **43**:1743-1752.
- El-Sissi, H. I., El-Ansary, H.** (1967). *Planta Medica*; **1**: 41-51.
- Eming, S. A., Krieg, T., Davidson, J. M.** (2007). Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*; **127**:p514–525.
- Fleuriet, A.** (1982). Expression et régulation du métabolisme des dérivés hydroxycinnamiques au cours de la croissance Thèse Doc. Etat, Montpellier.
- Franco, M. A., Versini, G., Mattivi, F., Dalla, Sena. A., Vacca, V., Manca, G.** (2002). Analytical characterization of myrtle berries, partially processed products and commercially available liqueurs, *Journal of Commodity Science*; **41**: 143 – 267.
- Fritch, H., Griesbach, H.** (1975) . Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haplopappus gracilis*. *Phytochem* ; **14**:2437-42. In magistère de *Université Mohamed Khider, Biskra*. 2016.
- Frutos, P., Hervás, G., Giráldez, F., Mantecón, A.** (2004). Review : Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*; **2** (2): 191-202.
- Gaffo, A., Saag, K. G., Curtis, J. R.** (2006) Treatment of rheumatoid arthritis. *Am J Health Sys Pharm*; **63**: 2451-2465.
-

Références bibliographiques

- Gehni, A., Guyon, C., Nicod, L.** (2006). Glyphosate-induced antioxidant imbalance in Ha CaT : The protective effect of Vitamines C and E. *Environ. Toxicol. Pharmacol* ; **22** :27-3450.
- Gerber, M., Berta, Vanrullen, I.** (2006). Soja et phytoestrogènes. *Arch. Pédiatrie* ; **13** (6): 534-536.
- Ghedira, K.** (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Springer* ; **4**: 162-169.
- Goetz, P., Ghedira, K.** (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. France, Paris: Springer-Verlag. P.313-318.
- Gonzalez, Gallego, J., Garcia, M, V., Mediavilla, S., Sanchez, V.** (2010). Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *Br J Nutr* 104: S15-S27.
- Guignard, J. L.** (1993). Abrégé de botanique. Masson. P.274.
- Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P.W., Richel, T. L.** (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. Agric. Food Chem*; **46**: 1887-92.
- Hagerman, A. E.** (1989) . Chemistry of tannin-protein complexation in chemistry and significance of tannins. In R. W. Hemingway RW, Karchesy JJ. Chemistry and significance of condensed tannins. Ed. *Plenum Press*, New York;p.323-33.
- Hayder, N., Skandrani, I., Kilani, S., Bouhlel, I., Abdelwahed, A., Ben Ammar, R., Mahmoud, A., Ghedira, K. , Chekir-Ghedira, L.** (2008), *South Africar Journal of botany* ;**74**: p. 121-125.
- Hemingway, S. R., Phillipson, J. D.** (1980) . Alkaloids of the Rubiaceae. In : J. D. Phillipson and M.H. Zenk (Eds), *Indome and Biogenetically Related Alkaloids. Academic Press*, London ;p .62-90. In these de doctorat vétérinaire. *université de constantine 1* ;p18.
- Hilvin, B.** (2008). Phytothérapie et aromathérapie en élevage biologique bovin enquête auprès de 271 éleveurs de France. Thèse de doctorat vétérinaire . *université claud-bernard,Lyon* ;p.89.
- Hinou, J., Lakkas, N., Philianos, S.** (1988). Les constituants polyphénoliques de *Myrtus communis L*, Plantes médicinales et phytothérapies ; **22** : 98 – 103.
- Hirasa, K., Takemasa, M.** (1998). Spice science and technology. New York: Marcel Dekker.
-

Références bibliographiques

- Hogan, S. P., Rosenberg, H. F., Moqbel, R., Phipps, S., Foster, P. S., Lacy, P., Kay, A. B., Rothenberg, M. E.** (2008). Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease. *Clinical and Experimental Allergy*; **38**:p709–750.
- Huang, S. Q., Ning, Z. X.** (2010). Extraction of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* and its immune enhancement activity. *International Journal of Biological Macromolecules*; **47**:p336-341.
- Hyder, N., Abdelwahed, A., Kilani, S., Ben Ammar, R., Mahmoud, A., Ghedira, K., Chekir-Ghedira, L.** (2004). Anti-genotoxic and free-radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) *Myrtus communis*; **564**: 89 – 95.
- Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E.** (2001). De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Delesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A.
- Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M., Shlomchik, M.** (2001). An introduction to immunobiology and innate immunity. In *Immunology*, 5th edition, (New York), pp: 347 -380.
- Jovanovic, D.V., Di, Battista, J. A., Martel-Pelletier, J., Jolicoeur, F. C., He, Y., et al.** (1998). IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL- β and TNF- α , by human macrophages. *J Immunol* ;**160**: 3513-3521
- Kaddem, S. E.** (1990). Les plantes médicinales en Algérie. Paris: Le monde pharmaciens. P.113.
- Kayser, O., Kolodziej, H.** (1997). Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium unidoides* and *Plelargonium reniforme*, *Planta Med*; **63**: 509-510. In Mémoire de Magister. *université aboubekr belkaid tlemcen*;p12.
- Keegstra, K., Talmadge, K.W., Bauer, W. D., Albersheim, P.** (1973). The structure of plant cell walls. III. A model of the walls of suspension-cultured sycamore cells based on the interconnections of the macromolecular components. *Plant Physiology*; **51**:188-196.
- Khadidja, K.** (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis L.* (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magister, *Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen*. P.48.
- Kim, H. P., Pham, H. T., Ziboh, V.A.** (2001). Flavonoids differentially inhibit guinea pig epidermal cytosolic phospholipase A2. *Prostag, LeukotrEss Fatty Acids* ;**65** (5-6): 281-6.
-

Références bibliographiques

- Kim, H. M., Lee, E. H., Hong, S.H., Song, H. J., Shin, M. K., Kim, S. H., Shin, T. Y.** (1998), *Journal of Ethnopharmacology* :60 , p. 125-131.
- Konig, M., Scholz, E., Hartmann, R., Lehmann, W., Rimpler, H.** (1994). Ellagitannins and complex tannins from *Quercus patroae* bark. *J. Nat. Product*; **57**: 1411-15.
- Kumar, V., Abul, K A., Nelson, F., Richard, M.** (2007). Robbins Basic Pathology.8th Edition, p.20-60.
- Kumar,V., Bhat, Z. A., Kumar, D., Khan, N.A., Chashoo, I.A.** (2012). Evaluation of anti-inflammatory potential of leaf extracts of *Skimmia anquetilia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* ; 627-630.
- Larousse Médical.** (2006). Encyclopédie multimédia de référence qui répond à toutes vos question sur le corps humain, ses fonction, ses maladies et leurs traitement . Paris: Larousse.
- Larousse Médical.** (2002).Encyclopédie des plantes médicinales identification , préparation soins . Edition VUEF 14-16p.
- Latte, L. P., Kolodziej, H.** (2000). Antifungal effects of hydrolysable tannins and related compounds on dermatophytes, mould fungi and yeasts. *Naturforsch* ;**55**(5-6): 467-72.
- Lee, K. W., Kim, Y. J.**(2003).Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine . *J Agric Food Chem* ;**51**: p .7292-7295.
- ImtiazulKabir, M. d., Tanvir, Ahmad., Chowdhury, Abu Sayeed., GolamKibria, M. d.** (2015). Investigation of in vitroanti-arthritic and membrane stabilizing activity of ethanol extracts of three Bangladeshi plants. *The Pharma Innovation Journal*; **4**(1): 76-80
- Maizak, K., Brac, De., Perriere, L. A., Hammiche, V.** (1993). Pharmacopée traditionnelle: Sahara septentrional. Actes du 2e colloque européen d'ethnopharmacologie, Heidelberg ; p.169-181.
- Male, D., Roitt, Y., Brostoff, J., Roth, D. B.** (2007). Mécanisme de l'immunité innée. In: Immunologie. Eds, Masson (France) ;p. 155.
- Mansour, Djaalab. Hadria.** (2014).évaluation chimique et activité antidermatophyte de quelques plantes médicinales d'Algérie, thèse de doctorat, *universite de constantine* ; **1** :p.04.
- Mansour, Sadia.** (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales :*Artemisia absinthium L* , *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum*
-

Références bibliographiques

scarboïdes Etude in vivo. thèse de doctorat. *Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF* ;p.3.

- Manvar, Mital., Desai, N.** (2014). In-vitro Anti-inflammatory and Anti-Arthritic Activities of Fruits of *Vernonia anthelmintica* Willd. (Asteraceae).the *Journal of Pharmaceutical Research* ; 4 : p186-188.
- Martin, S., Andriantsitohaina, R.** (2002) . Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Ann. Cardiol. Angéiol*;**51** (6): 304-15.
- Martin- Lopez, T., Rubio, B., Villaescusa, L., Fernandez, L., Diaz A.M.** (1999). Polyphenolic compounds from pericarps of *Myrtus cummunis*, *Pharmaceutical Biology*; **37**: 28-31.
- Meddleton, E., Kardasnam, J.C.** (1993). The flavonoids Advances. In: research since 1986. J B Harborne, *Chapman and Hall*, London; 617-652 .
- Middleton, E. J., 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.
- Migliore, J.** (2011). Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre *Myrtus* en méditerranée et au sahara. Thèse de doctorat, *Université paulcézanne d'Aix-Marseille III*. P.66-117.
- Mimica, Dukić. N., Bugarin, D., Grbović, S., Mitić, Čulafić. D., Vuković, Gačić .B., Orčić, D., Jovin, E., Couladis, M.** (2010). Essential Oil of *Myrtus communis* L.As a Potential Antioxidant and Ant imutagenic Agents ;**15**: 2759-2770.
- Mizushima, Y., Kobayashi, M.** (1968).Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with same biologically active proteins.*Journal of Pharmacy and Pharmacology* ;**20**(1):169-173.
- Mohammed. Munawar. Hossain., Mohammad, Shah . Hafez. Kabir., AbulHasanat., Montoro, P., Tuberoso ,C. I. G., Perrone, A., Piacente, S., De, Feo. V., Cabras, P., Pizza, C.** (2006).Characterisation by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry of anthocyanins in extracts of *Myrtus communis*L. berries used for the preparation of myrtle liqueur, *Journal of Chromatography* ;**1112**: 232-240.
- Montoro, P., Tuberoso, C. I. G., Piacente, S., Perrone, A., De, Feo. V., Cabras, P., Pizza,C.** (2006).Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of
-

Références bibliographiques

- Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*; **41**: 1614-1619.
- Montoro, P., Tuberoso, C. I. G., Perrone, A., Piacente, S., Cabras, P., Pizza, C.** (2006a). Characterisation by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry of anthocyanins in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur, *J. Chromatogr. A*; **1112**: 232–240.
- Montoro, P., Tuberoso, C. I. G., Piacente, S., Perrone, A., De Feo, V., Cabras, P., Pizza, C.** (2006b). Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur, *J. Pharm. Biomed. Anal*; **41**: 1614–1619.
- Narayana, K. R.** (2000). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of pharmacology*; **33**:p.2-13.
- Nathan, C.** (2002). Points of control in inflammation. *Nature* ; p.19-26,420, 846-852.
- Newmann, D., Cragg, G. M.** (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*; **70**: 461-477. (Thèse de doctorat. Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae)/ Université d'Angers Année 2011)
- Nguyen, T.D., Jung, M.K., Sun, C.K.** (2008), *Food and chemical Toxicology*; **46**: p.3632-3639.
- Nguyen, T. D., Vivek, K.B., Jung, I.Y., Sun, C.K.** (2009), *Food and chemical Toxicology* ; **47**: p.449-453.
- Nogaret, A.S.** (2003). *La phytothérapie : Se soigner par les plantes*. Ed.Groupe Eyrolles, Paris ;p .191.
- Nourshargh, S., Fritz, K., Elisabetta, D.** (2006). The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leukocyte Biology*; **80**:p.714-718.
- Okuda ,T., Kimura, Y., Yoshida ,T ., Hatanv ,T.** (1983). Studies on the activities of tannins And Related coumpounds from medicinal plant and drugs. Inhibition effects of lipid peroxidation in mithchordria and micrososome of liver. *Chem pharm Bull*; **31**:1625-1631.(these ferdjjiayoub).
- Organisation Mondiale de la Santé.** (2003). *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2003-2005*, Genève.
-

Références bibliographiques

- Park , H. H., Lee, S., Son, H. Y., Park, S. B., Kim, M. S., Choi, E. J., Singh ,T. S., Ha, J. H., Lee, M. G., Kim, J. E., Hyun, M. C., Kwon, T. K., Kim, Y. H., Kim, S. H.(2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Arch. Pharm. Res*; **31**(10): 1303-11.
- Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*; **63**: 1035-1042.
- Poter, N. (2001). Essential oils and their production . Corps &Food Research.p 39.
- Raisonnier, A. (2010). Structures Biologiques. *Université Pierre et Marie Curie* ; p. 52-5
- Rameau, J. C., Mansion, D., Dume, G. Gauberville, C. (2008). Flore forestière française. Guide écologique illustré. Région méditerranéenne Paris: Institut pour le développement forestier ; **3** :p.771
- Ratna, C. P., Birger, H., Braden, B., Lauren, S., Waltner-Law M. (2005), *Journal of Ethnopharmacology*; **96**: p. 295-301.
- Romani, A., Pinelli, P., Mulinacci, N., Vincieri, F. F., Tattini, M. (1999).Identification and quantitation of polyphenols in leaves of *Myrtus communis L.*, *Chromatographia*; **49**:17-20.
- Romani, A., Pinelli, P., Mulinacci, N., Vincieri, F. F., Tattini, M. (1999). Identification and quantitation of polyphenols in leaves of *Myrtus communis L.*, *Chromatographia*; **49**: 17–20.
- Romina, V. B., Miriam, G. E. (2008), *Food microbiology*; **25**: p .324-334
- Rosalino, L. M., Rosa, S., Santos,Reis. M. (2010). The role of carnivores as Mediterranean seed dispersers. *Annales of Zoologici Fennici* ; **47** :195-205.
- Rousselet, M. C., Vignaud, J. M., Hofman, P., Chatelet, F. P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire AFECAP ; p .1-57.
- Russo-Marie, F., Peltier, A., Polla, B. (1998). Inflammation. Editions John Libbey *Euro text* ; p.565.
- Salas-Salvado, J., J, Fernandez-Ballart., Ros, E.(2008). Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the PREDIMED randomized trial. *Arch Intern Med* ;**168**: 2449-2458.
- Sangeetha, M., K, Kousalya., Lavanya, R., Cherukuru, S., Chamundeeswari, D., Uma , Maheswara .R. (2011). In-vitro Anti-inflammatory and Anti-arthritis Activity of Leaves of *Cleo Dendron Inerme*. *RJPBCS* ; **2** (1): 822-827.
-

Références bibliographiques

- Santangelo, C., R, Vari, B., Scazzocchio.**(2007). Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanita* ;**43**: 394-405.
- Scima, D ., Tétou, M.**(2005). votre santé par les plantes : le guide familial pour prévenir et guérir tous les maux quotidiens . Monaco : Alpen.
- Sebai, M., Boudali, M .**(2012). la phytothérapie entre la confiance et méfiance. *Institut de formation paramédical CHETTIA* ;p.26.
- Seyoum, A., Asres, K., EL-FikY ,F. K.** (2006) . Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry* ;**67**:p.2058–2070. In diplôme de magistère.*Université Mohamed Khider .Biskra* ;p7.
- Shendkar, A.K., Chaudhari, S.G., Shendkar, Y.K .**(2014).In vitro antiarthritic activity of *Withania coagulans* dunal fruits. *IAJPR* 4: 915-924.
- Silbemagi, S., Lang, F.** (2000). Atlas de poche de physiopathologie Éd France. *Flammarion Médecine-Sciences* ; p. 48.
- Sofowora, A.** (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. *Académie suisse des sciences naturelles : Karthala*.
- Soltis, D., Smith, S. A., Cellinese, N., Wirdack, K. J., Tank, D. C., Brockington, S. F., et al.** (2011). Angiosperm phylogeny: 17 genes, 640 taxa.*American Journal of Botany*; **98**: p.704-730.
- Steinhubl, S. R.** (2007). Platelets as Mediators of Inflammation. *Hematology/Oncology Clinics of North America*; **21**:p.115-121.
- Svoboda, Katya. P., Hampson., Janice. B.** (1999).Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial,antioxidant,anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant biology Department, SAC auchincruive , ayr. Scotland ;**55**:p .76-83.
- Tanaya, J. H.** (1997). Effect of Natural of Synthetic phytosterol Administration on cholesterol Metabolism in *Normolipidemic Humans*, National Library of Canada.
- Vauzour, D., Arnaudinaud, V., Krisa, S., Chèze, C. ., V,Ercauteren J.** (2001) .Étude de la voie biogénétique menant aux flavan-3-ols". 2ème Journée Scientifique de l’Université Victor Segalen Bordeaux. In diplôme de magistère.*Université Mohamed Khider-Biskra* ;p 6-7
- Walker, A. F.** (2006). Herbal medicine: the science of art. *Proceedings of the nutrition society*, 65, pp. 145-152. In thèse de doctorat, université d’algerie :p.50.
-

Références bibliographiques

- Waller, G. R., Nowacki, E. K.** (1978). Alkaloids Biology and Metabolism in plants. *Plenum Press*, New York;p. 294.
- Wang, C. C., Chang, S. C., Inbaraj, S. B., Chen, B. H.** (2010). Isolation of carotenoids ,flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum L.* and evaluation of antioxidant activity. *Food Chemistry*; **120**:p.184-192.
- Wannes, W. A., Mhamdi, B., Sriti, J., Ben Jemia, M., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, me., Marzouk, B.** (2010). Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf stem and flower, *Food and Chemical Toxicology* ;**48**: 1362–1370.
- Wichtl, M., Anton, R.** (1999). Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 3^{ème} ed. Paris Tec et Doc Lavoisier.
- Willem, J. P.** (2002).le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé Editions LMV ; p. 201.
- Williams, C. M., Galli, S. J.** (2000). The diverse potential effectors and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *The Journal of allergy and clinical immunology*;**105**:p847-59.
- Wojdylo, A., Oszmianski, J., Czemerys, R.** (2007), *Food chemistry*; **105**:p940-949.
- Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A., Rasooli, I.** (2006), *Phytochemistry* ; **67**: p .1249-1255
- Yusuf, Y.** (2006). Catechins in foods, *Trends Food Science Technology* ;**17**: 64-71.
- Zhiri, A.** (2006). Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. Nutrition. Prévention et santé. Edition la fondation pour le libre choix .J. drug . target , 12-8p.
-