

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Cellulaire et Physiologie

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Biologie et Santé

**CONTRIBUTION A L'ETUDE D'*AJUGA IVA* (L.) SCHREB :
ACTIVITES BIOLOGIQUES, PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES
ET INTERET THERAPEUTIQUE**

Soutenue publiquement le

28.09.2019

Par

Samia MOUHEB

Devant le jury composé de :

F. SAIDI	Professeur	U. de Blida 1	Président
M. KHALI	Maitre de conférences	CTIAA	Directeur
A. ROUIBI	Maitre de conférences	U. de Blida 1	Codirecteur
K. HOUALI	Professeur	U.M.M. Tizi Ouzou	Examineur
D. BENDJOUDI	Maitre de conférences	U. de Blida 1	Examineur

Blida, 2019

RESUME

L'objectif de notre travail est de contribuer à la valorisation d'*Ajuga iva*, une plante médicinale spontanée de la famille des Lamiaceae, récoltée dans les montagnes de Tizi Ouzou.

Les résultats de l'enquête ethnobotanique sur l'utilisation des plantes médicinales, révèlent que l'espèce *Ajuga iva* est une plante peu connue mais, utilisée traditionnellement dans le traitement de nombreuses pathologies.

Le criblage phytochimique ainsi que les différentes analyses chromatographiques réalisés sur les extraits polaires, l'extrait apolaire et l'huile essentielle, ont permis de constater la richesse de la plante en principes actifs, notamment les polyphénols et les flavonoïdes dans les extraits polaires, les monoterpènes et sesquiterpènes dans l'huile essentielle, et les terpènes et acides gras dans l'extrait apolaire.

L'étude biologique a montré que les extraits polaires d'*Ajuga iva* possèdent une bonne activité antioxydante avec une IC₅₀ qui atteint les 0,42 mg/ml pour l'extrait aqueux. Toutefois, leur effet antimicrobien était très faible voir nul contre toutes les souches microbiennes testées. Les résultats révèlent aussi une bonne activité antioxydante de l'huile essentielle avec une IC₅₀ de 0,131 mg/ml et une bonne activité antibactérienne avec une CMI et CMB de 0,03 et 0,06 % (v/v) respectivement contre *Pseudomonas aeruginosa*.

L'étude de la toxicité générale aiguë de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* sur des souris, n'a montré aucune mortalité ni symptômes de toxicité. A la dose de 500 mg/kg p.c., l'extrait aqueux inhibe significativement l'inflammation (92,73%, p<0,05) et la fièvre (42,02%, p<0,01) chez le rat, et à la dose de 1000 mg/kg p.c. il inhibe significativement le nombre de spasmes chez les souris (62,75%, p<0,05) et réduit considérablement le nombre d'ulcérations chez les rats, avec un pourcentage de protection de 75,96% par rapport au lot control.

Mots clés : *Ajuga iva*, GC-MS, phytothérapie, propriétés antiulcéreuse, analgésique, antiinflammatoire, antipyrétique.

ABSTRACT

The aim of our work is to contribute to the valorization of *Ajuga iva*, a spontaneous medicinal plant of the family of Lamiaceae, harvested in the mountains of Tizi Ouzou.

The results of the ethnobotanical survey on the use of medicinal plants, have shown that *Ajuga iva* remains a little-known plant, but traditionally used in the treatment of many pathologies.

The phytochemical screening as well as the different chromatographic analyzes carried out on the polar and non-polar extracts and the essential oil, allowed to note the richness of the plant with active principles, in particular the polyphenols and the flavonoids in the polar extracts, monoterpenes and sesquiterpenes in the essential oil, terpenes and fatty acids in the apolar extract.

The biological study showed that polar extracts of *Ajuga iva* have a good antioxidant activity with an IC₅₀ that reaches 0.42 mg/ml for the aqueous extract. However, their antimicrobial effect was very low or even absent against all tested microbial strains. The results also revealed a good antioxidant activity of the essential oil with an IC₅₀ of 0.131 mg/ml and an antibacterial activity with a MIC and CMB of 0.03 and 0.06 % (v/v) respectively, against *Pseudomonas aeruginosa*.

The acute toxicity study of the aqueous extract of *Ajuga iva* in mice, showed no mortality or toxicity symptom. At a dose of 500 mg/kg b.w, the aqueous extract significantly inhibited inflammation (92.73%, p <0.05) and fever (42.02%, p <0.01) in the rat, and the dose of 1000 mg/kg b.w significantly inhibited the number of writhes in mice (62.75%, p <0.05) and considerably reduced the number of ulcerations in rats, with a 75.96% protection percentage compared to the control group.

Key words: *Ajuga iva*, phytotherapy, GC-MS, antalgic, anti-inflammatory, antipyretic, antiulcer property.

ملخص

الهدف من عملنا هو المساهمة في تعزيز *Ajuga iva*، نبتة طبية عفوية من عائلة الشفويات (Lamiaceae)، التي تنمو في جبال تيزي وزو، الجزائر.

أظهرت نتائج البحث الاثنوباتي عن استخدام النباتات الطبية أن *Ajuga iva* نبتة ليست جد معروفة، لكن تبقى مستعملة بطريقة تقليدية في علاج العديد من الأمراض.

أظهر الفحص الكيميائي النباتي ومختلف التحاليل الكروماتوغرافية التي أجريت على الزيوت الأساسية والمستخلصات المختلفة، غنى النبتة بالمكونات الفعالة، خاصة البوليفينول والفلافونويد في المستخلصات القطبية، المونوترين والسيستربين في الزيوت الأساسية، التربن والأحماض الدهنية في مستخلص الإثير.

وأظهرت الدراسة البيولوجية أن المستخلصات القطبية لـ *Ajuga iva* لها نشاط جيد مضاد للأكسدة مع IC50 تصل الى 0,42 ملغ/مل للمستخلص المائي. ومع ذلك، كان التأثير المضاد للميكروبات للمستخلصات ضعيفا جدا أو حتى منعدم ضد السلالات الجرثومية المستخدمة. النتائج تظهر أيضا نشاط جيد مضاد للأكسدة للزيوت الأساسية مع IC50 تساوي 0,131 ملغ/مل وتأثير مضاد للبكتيريا جيد مع CMI و CMB بنسبة 0,03 و 0,06 % (ح/ح) على التوالي ضد *Pseudomonas aeruginosa*.

إثر دراسة السمية العامة الحادة للمستخلص المائي لـ *Ajuga iva* عند الفئران، لم تسجل أي وفاة أو أعراض توحى الى تسمم. بجرعة 500 ملغ/كغ تمكّن المستخلص المائي من كبح إتهاب قدم الجرذ بنسبة 92,73 % ($p < 0,05$) وتخفيض الحمى عند الجرذ بشكل ملحوظ وبنسبة 42.02 % ($p < 0,01$). أظهرت كذلك الجرعة 1000 ملغ/كغ فعالية في تقليص عدد التشنجات بشكل ملحوظ عند الفئران مقارنة بالشاهد (62,75 %، $p < 0,05$) وفعالية جد ملحوظة في إخفاض عدد التقرحات في معدة الجرذ بنسبة 75,96 % مقارنة بالشاهد.

الكلمات المفتاحية : *Ajuga iva*، العلاج بالنباتات، مضاد للتقرحات، مسكن، GC-MS، مضاد للإتهابات، خافض للحرارة.

REMERCIEMENTS

Il y a un certain nombre de personnes sans qui cette thèse n'aurait pas pu voir le jour, et à qui je suis très redevable.

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse, monsieur **KHALI M.**, Directeur Général du Centre Technique des Industries Agroalimentaires (CTIAA), Boumerdes, d'avoir accepté de diriger cette thèse, ainsi que pour sa disponibilité et ses conseils tout au long de ces années de travail.

Mes profonds remerciements vont également à,

Codirecteur, Monsieur **ROUBI A.** Maître de conférences à l'université Saad Dahleb, Blida 1.

Professeur **SAIDI F.**, Directrice du laboratoire de recherche en Biotechnologies, Environnement et Santé, de l'université Saad Dahleb, Blida 1, pour l'honneur de présider le jury de ma soutenance.

Les membres du jury, Professeur **HOUALI K.** de l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou et Docteur **BENDJOUDI D.** Maître de conférences à l'université Saad Dahleb, Blida 1, pour avoir accepté ce rôle et pour l'honneur qu'ils me font de juger ce travail.

Madame **DENDENE W.** et ses collègues du service Toxicologie de la police scientifique (Château neuf, Alger) pour leur disponibilité et leur rigueur scientifique.

Monsieur **SEMROUD R.** et mademoiselle **Farisa** de L'ENSSMAL (Sidi Fredj, Alger) de m'avoir accueillie dans leur laboratoire.

Docteur DJEMAI Samir, Médecin vétérinaire de l'université de Constantine, pour sa gentillesse, sa patience et pour tous les efforts qu'il a fournis dans ce travail.

Monsieur **NOUAS**, Mademoiselle **CHIKHI D.F.**, madame **CHADER**, madame **DJABRI H.** et toute l'équipe du laboratoire de contrôle de qualité de SAIDAL BIOTIC (Gué De Constantine, Alger).

Monsieur **BOUMRAH Yacine**, responsable du laboratoire toxicologie médico-légale et drogues, de l'Institut National de Criminalistique et de Criminologie (INCC), (Bouchaoui, Alger) et son équipe, qui m'ont apporté leur aide à maintes reprises.

Professeur **ABDELLALI M.** et mademoiselle **KHEL K.** du laboratoire de cytologie du CHU Parnet (Hussein Dey, Alger), pour leur aide.

Docteur **DENDENE M.**, chef de service de la polyclinique à Corso, Boumerdes, d'avoir mis à ma disposition leur matériel.

Professeur **CHERGUI A.**, Monsieur et Madame **YEDDOU** ainsi que les techniciennes des laboratoires, traitement des eaux et didactique de l'École Normale Supérieure (**ENS**) de Kouba, pour leur contribution dans ce travail.

Docteur **YAHIA N.** maître de conférences à l'université Saad Dahleb, Blida 1, pour son soutien, ses précieux conseils et ses encouragements.

Monsieur **KADRI** du département de chimie à l'université Saad Dahleb, Blida1, pour ses conseils.

Hadjer, la technicienne du laboratoire de recherche en Biotechnologies, Environnement et Santé, ainsi qu'à toutes les techniciennes et ingénieurs des autres laboratoires de la faculté SNV en particulier **Chafika**, pour leur bonne humeur et leurs encouragements.

Monsieur **KOUSSA K.** d'avoir toujours répondu présent lorsqu'il est sollicité.

Monsieur **DENDENE H.** pour son aide.

Professeur **OUMOUNA Mustapha**, Doyen de la faculté des Sciences à l'université Dr. Yahia Fares de Médéa, qui m'a initié à la recherche scientifique et qui a été et sera toujours pour moi un exemple à suivre.

Mes chères amies et collègues, **MEKERKEB Aicha**, **BELKEBIR Imene**, **RAMLI Imene**, **NAKKAB Selma** et en particulier **HAFAIRI Selma Saïda**.

Ma belle-famille, pour leur soutien moral et leurs encouragements.

Ma famille,

Ma maman **DENDENE Nadia**, qui m'a toujours accompagnée avec intransigeance dans mes études et qui m'a énormément écoutée, surtout dans les moments de panique. Merci maman de m'avoir libérée de certains fardeaux, pour que je puisse me consacrer pleinement à mon projet.

Mon papa **Ali**, qui a toujours jugé mes efforts insuffisants pour m'obliger à me surpasser. Merci papa de m'avoir lu et relu et surtout de m'avoir guidée sur le chemin de la réussite.

Mon jumeau **Ghiles**, pour sa bonne humeur, et avec qui je ne parle que très rarement de mon travail, ce qui fait de lui mon exutoire de pression et ma dose d'antistress. Merci frère de n'avoir jamais exercé de pression sur moi, comme le reste de la famille.

Mon cher époux **Badreddine**, pour son soutien quotidien inconditionnel et indéfectible et son support sous toutes ses formes, tout au long des six années de travail. Je te serai à jamais reconnaissante pour t'être investi dans l'élevage des rats et des souris qui n'était pas sans contraintes, et aussi d'avoir tout fait pour qu'aucun obstacle ne dure assez longtemps pour mener à bien ce travail.

Mon adorable grand-mère **DENDENE Zouina**, pour ses prières, ses encouragements et son impatience de voir sa petite fille réussir ses études.

Toute ma famille **MOUHEB, DENDENE** et **BOUSBAI**

Enfin je remercie vivement toute personne que j'aurai oublié de citer ici, d'avoir contribué de près ou de loin et de manière directe ou indirecte, à la réalisation de cette thèse.

Merci.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

Aux regrettés grands parents MOUHEB Mohamed et Yamina et DENDENDE Mohand,

A ma famille, mon père, ma mère, mon frère et mon mari,

A tous mes amis,

Et enfin à tous les amoureux de la science.

Qu'ils trouvent à travers ce travail ma sincère reconnaissance.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
ABSTRACT	
الملخص	
REMERCIEMENT	
DEDICACE	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
INTRODUCTION	16
1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	19
1.1. Les plantes médicinales et phytothérapie	19
1.2. Les principes actifs des plantes	20
1.3. Méthodes d'extraction des métabolites secondaires	38
1.4. Méthodes d'élimination des solvants d'extraction	39
1.5. Méthodes d'analyse des extraits végétaux	40
1.6. Quelques activités biologiques et pharmacologiques des plantes	43
1.6.1. Activité antimicrobienne	43
1.6.2. Activité antioxydante	47
1.6.3. Activité antiinflammatoire	49
1.6.4. Activité antipyrétique	54
1.6.5. Activité antalgique	56
1.6.6. Les plantes à activité antiinflammatoire, antalgique, antipyrétique	59
1.6.7. Activité antiulcéreuse	61
1.7. Monographie d' <i>Ajuga iva</i>	64
1.7.1. Généralités sur la famille des Lamiaceae	64
1.7.2. Généralités sur le genre <i>Ajuga</i>	64
1.7.3. Généralités sur l'espèce <i>Ajuga iva</i>	65
2. MATERIEL ET METHODES	71
2.1. Matériel	71
2.1.1. Présentation de la zone d'étude	71
2.1.2. Matériel Biologique	72
2.1.3. Matériel non biologique	73
2.2. Méthodes de travail	74
2.2.1. Enquête ethnobotanique	74
2.2.2. Identification botanique de la plante	74
2.2.3. Étude phytochimique d' <i>Ajuga iva</i>	76
2.2.3.1. Teneur en eau par méthode pondérale	76
2.2.3.2. Teneur en cendre	76

2.2.3.3. Dosage des cendres par chromatographie ionique	78
2.2.3.4. Screening phytochimique préliminaire	82
2.2.3.5. Étude des principes actifs d' <i>A.iva</i>	88
2.2.4. Activités biologiques <i>in vitro</i>	88
2.2.4.1. Pouvoir antimicrobien	88
2.2.4.2. Activité antioxydante	94
2.2.5. Activités pharmacologiques <i>in vivo</i>	97
2.2.5.1. Étude de la toxicité aiguë par voie orale	97
2.2.5.2. Activité anti-inflammatoire : Test de l'Œdème à la carraghénine	100
2.2.5.3. Activité antipyrétique : Test de fièvre induite par la levure de bière	101
2.2.5.4. Activité antalgique : Test de torsions induites par l'acide acétique	103
2.2.5.5. Activité antiulcéreuse	104
2.2.6. Analyse statistique	108
3. RESULTATS ET DISCUSSION	109
3.1. Enquête ethnobotanique	109
3.2. Identification botanique de la plante	118
3.3. Étude phytochimique	125
3.4. Activités biologiques	145
3.4.1. Activité antimicrobienne	145
3.4.2. Activité antioxydante	150
3.5. Activités pharmacologiques	157
3.5.1. Étude de la toxicité aiguë par voie orale	157
3.5.2. Activité anti-inflammatoire	162
3.5.3. Activité antalgique	165
3.5.4. Activité antipyrétique	167
3.5.5. Activité antiulcéreuse	171
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	180
APPENDICES	
A. Liste des abréviations	184
B. Bibliographie	186
C. Matériel biologique	188
D. Fiches et supports	189
E. Produits chimiques	194
F. Appareillage	195
G. Verrerie et autre matériel	196
H. Enquête ethnobotanique	198
I. Étude phytochimique	200
J. Activités biologiques	208
K. Activités pharmacologiques	214
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	223

LISTE DES FIGURES

Figure.1.1. Squelette de base d'un flavonoïde	23
Figure.1.2. Structure de la proanthocyanidine	23
Figure.1.3. Structure du catéchol	24
Figure.1.4. Structure α -benzopyrone d'une coumarine	24
Figure.1.5. Structure du resvératrol	25
Figure.1.6. Structure du phénylpropanoïde et lignane	25
Figure.1.7. Structure d'un isoprène	28
Figure.1.8. Les différents types de poils sécréteurs chez les végétaux	29
Figure.1.9. Schéma d'un canal sécréteur	29
Figure.1.10. Schéma d'une cavité sécrétrice	30
Figure.1.11. Structure de quelques alcaloïdes	34
Figure.1.12. Structure de la Linamarine, un glycoside cyanogène	35
Figure.1.13. Structure d'un cardénolide	35
Figure.1.14. Structure des saponosides	36
Figure.1.15. Structure générale d'un glucosinolate	36
Figure.1.16. Récapitulatif des métabolites secondaires chez les végétaux	37
Figure.1.17. Appareillage et principe de la CEI	41
Figure.1.18. Appareillage et principe de la séparation dans une GC-MS	42
Figure.1.19. Principe de la spectrophotométrie de masse	43
Figure.1.20. Représentation d'une molécule stable et un radical libre	48
Figure.1.21. Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant	48
Figure.1.22. Les inducteurs de l'inflammation	52
Figure.1.23. Les Médiateurs et effecteurs de l'inflammation	52
Figure.1.24. Étapes de l'inflammation aiguë	53
Figure.1.25. Induction de la fièvre durant une infection	56
Figure.1.26. Activation nociceptive des neurones	58
Figure.1.27. Ulcère gastrique	61
Figure.1.28. Timbre d'Algérie	65
Figure.1.29. <i>A.iva</i> dans son habitat naturel	66
Figure.1.30. <i>A.iva</i> selon la littérature	67
Figure.1.31. Feuilles d' <i>A.iva</i>	67

Figure.2.1 Situation géographique du site de récolte	71
Figure.2.2. Récolte et stockage de la plante	72
Figure.2.3. Représentation schématique de la double coloration	75
Figure.2.4. Réduction du réactif Folin Ciocalteu	85
Figure.2.5. Schéma récapitulatif de l'évaluation de l'activité antimicrobienne	93
Figure.2.6. Cinétique de la Réduction du DPPH par les antioxydants	94
Figure.2.7. Réduction du complexe (Fe (III) - TPTZ) par un antioxydant	96
Figure.3.1. Répartition des participants selon le type de médecine	110
Figure.3.2. Répartition des utilisateurs de plantes selon le sexe	111
Figure.3.3. Répartition des utilisateurs des plantes par tranches d'âge	112
Figure.3.4. Fréquence des sources d'information sur l'usage des plantes	113
Figure.3.5. Fréquence d'utilisation des différentes plantes médicinales	114
Figure.3.6. Fréquence d'utilisation, parties utilisées et modes d'administration d' <i>A.iva</i>	117
Figure.3.7. Fréquence des usages thérapeutiques d' <i>A.iva</i>	117
Figure.3.8. Échantillon d' <i>A.iva</i> récoltée à Bouyala, Tizi Ouzou	118
Figure.3.9. Spécimens d' <i>A.iva</i> de l'herbier de l'ENSA	118
Figure.3.10. Observation de la tige d' <i>A.iva</i> sous la loupe (Gx4,5)	119
Figure.3.11. Observation des feuilles sessiles d' <i>A.iva</i> (Gx2,5)	120
Figure.3.12. Observation de la feuille d' <i>A.iva</i> sous la loupe (Gx2,5)	120
Figure.3.13. <i>A.iva</i> en période de floraison	121
Figure.3.14. Bourgeons d' <i>A.iva</i>	121
Figure.3.15. Fleur d' <i>A.iva</i>	121
Figure.3.16. Étamines et partie du pistil de la fleur d' <i>A.iva</i>	122
Figure.3.17. Observation du calice d' <i>A.iva</i> sous la loupe (Gx4,5)	122
Figure.3.18. Observation des graines d' <i>A.iva</i> sous la loupe (Gx4,5)	123
Figure.3.19. Observation de d'une coupe transversale au niveau de la tige d' <i>A.iva</i> , sous microscope optique (Gx10) et (Gx40)	123
Figure.3.20. Observation des poils sécréteurs à tête vésiculaire dans une coupe transversale au niveau de la tige sous microscope optique	124
Figure.3.21. Observation de la coupe transversale au niveau de la feuille d' <i>A.iva</i> , sous microscope optique (Gx40)	124
Figure.3.22. Calcination d' <i>A.iva</i>	126

Figure.3.23. Chromatogramme des cations chez <i>A.iva</i>	127
Figure.3.24. Chromatogramme des anions chez <i>A.iva</i>	128
Figure.3.25. Huile essentielle d' <i>A.iva</i>	132
Figure.3.26. Chromatogramme de la CG-MS de l'huile essentielle d' <i>A.iva</i>	133
Figure.3.27. Chromatogramme de la CG-MS de l'extrait éthéré d' <i>A.iva</i>	143
Figure.3.28. Zone d'inhibition	146
Figure.3.29. Réduction du DPPH par l'acide ascorbique	150
Figure.3.30. Pourcentage d'inhibition du DPPH	151
Figure.3.31. Pouvoir réducteur des extraits et l'huile essentielle d' <i>A.iva</i>	155
Figure.3.32. Évolution pondérale chez les souris males après administration de l'extrait aqueux d' <i>A.iva</i> .	159
Figure.3.33. Évolution pondérale chez les souris femelles après administration de l'extrait aqueux d' <i>A.iva</i>	159
Figure.3.34. Gain pondéral chez les souris mâles (M) et femelles (F) après administration des différents traitements.	160
Figure.3.35. Évolution de la circonférence de la patte des rats après administration des différentes doses de l'extrait aqueux d' <i>A.iva</i> .	163
Figure.3.36. L'effet analgésique de l'extrait aqueux d' <i>A.iva</i>	165
Figure.3.37. Évolution de la température rectale chez les rats	168
Figure.3.38. Variation de la température rectale chez les rats	169
Figure.3.39. Observation macroscopique des estomacs des différents lots	172
Figure.3.40. Effet de l'extrait aqueux d' <i>A.iva</i> et la Ranitidine sur l'indice d'ulcération et le pourcentage de protection	172
Figure.4.41. Observation histopathologique de la zone glandulaire fundique de l'estomac d'un rat du lot control (-)	173
Figure.3.42. Observation histopathologique de la zone glandulaire fundique de l'estomac d'un rat du lot Témoin (+) (G x10)	174
Figure.3.43. Observation histopathologique de la zone glandulaire fundique de l'estomac d'un rat du lot 500 (Gx10)	175
Figure.3.44. Observation histopathologique de la zone glandulaire fundique de l'estomac d'un rat du lot 1000 (Gx10)	176
Figure.3.45. Observation histopathologique de la zone glandulaire fundique de l'estomac d'un rat du lot Ranitidine (Gx10)	177

LISTE DES TABLEAUX

Tableau.1.1. Principaux acides phénoliques	22
Tableau.1.2. Classification des polyphénols	26
Tableau.1.3. Structure de quelques monoterpènes	31
Tableau.1.4. Structure de quelques sesquiterpènes	32
Tableau.1.5. Structure de quelques composés aromatiques	33
Tableau.1.6. Récapitulatif des espèces microbiennes testées	46
Tableau.1.7. Plantes à activité antiinflammatoire, antalgique, antipyrétique	60
Tableau.1.8. Plantes à activité antiulcéreuse	63
Tableau.1.9. Activités biologiques et pharmacologiques d' <i>A.iva</i>	69
Tableau.1.10. Espèces médicinales négligées et/ou sous utilisées	70
Tableau.2.1. Les souches testées dans l'activité antimicrobienne	73
Tableau.2.2. Caractéristiques techniques IC-Cations	77
Tableau.2.3. Caractéristiques techniques IC-Anions	78
Tableau.2.4. Les extraits d' <i>A.iva</i> testés pour l'activité antimicrobienne	88
Tableau.2.5. Antimicrobiens témoins positifs	89
Tableau.2.6. Signes généraux possibles suite à une toxicité aiguë	99
Tableau.3.1. Teneur en eau d' <i>A.iva</i>	125
Tableau.3.2. Teneur en cendres d' <i>A.iva</i>	126
Tableau.3.3. Composition minérale d' <i>A.iva</i>	129
Tableau.3.4. Screening phytochimique d' <i>A.iva</i>	130
Tableau.3.5. Rendement, caractères physicochimiques et organoleptiques de l'HE	131
Tableau.3.6. Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>A.iva</i>	133
Tableau.3.7. Comparaison de la composition des HE d' <i>A.iva</i> avec la littérature	135
Tableau.3.8. Résultats de l'extraction des principes actifs d' <i>A.iva</i>	137
Tableau.3.9. Teneur en polyphénols totaux des extraits d' <i>A.iva</i>	138
Tableau.3.10. Teneur en flavonoïdes totaux des extraits d' <i>A.iva</i>	140
Tableau.3.11. Teneur en tanins condensés des extraits d' <i>A.iva</i>	142
Tableau.3.12. Composition chimique de l'extrait éthéré d' <i>A.iva</i>	143
Tableau.3.13. Activité antimicrobienne des différents extraits d' <i>A.iva</i>	149
Tableau.3.14. IC ₅₀ et ARP des extraits et de l'HE d' <i>A.iva</i> et des standards	152

INTRODUCTION

Au fil des siècles, l'être humain a toujours été dépendant de son environnement naturel pour subvenir à ses besoins de base, ainsi que pour prendre soin et améliorer sa santé et sa qualité de vie [1].

Suite à plusieurs essais, mais aussi à de nombreuses erreurs ; les peuples primitifs avaient acquis une certaine connaissance des plantes médicinales, dont les extraits ont été utilisés par héritage de génération en génération sous différentes formes, pour traiter diverses maladies et parfois même sauver des vies [2] ; [3] ; [4].

Les plantes représentent un extraordinaire réservoir de molécules préventives et curatives. Elles représentent la base de l'ancienne médecine traditionnelle qui ne cesse d'évoluer pour fournir l'humanité de meilleurs remèdes [1].

Au cours des dernières décennies, le recours à la médecine traditionnelle est en importante croissance. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé [5], jusqu'à 80% de la population en Afrique dépendent de la médecine traditionnelle pour les premiers soins de santé ; ceci est principalement dû à son accessibilité, parfois même étant la seule source de soins pour les plus pauvres, comparant au coût élevé des soins hospitaliers et des médicaments. Même dans certains pays développés tels que l'Australie, le Canada, les États-Unis, la Belgique et la France, le pourcentage de population ayant recours aux médicaments traditionnels varie de 40% à 80%.

Récemment, les chercheurs s'intéressent de plus en plus aux plantes riches en antioxydants. En effet les antioxydants naturels jouent un rôle très important dans la lutte contre les conséquences liées au stress oxydatif, qui est incriminé de manière directe ou indirecte dans différentes pathologies telles que l'inflammation, l'obésité, le diabète, les maladies neurodégénératives, le cancer, etc. [6].

De nombreux chercheurs prêtent attention aussi aux composés biologiquement actifs isolés à partir d'espèces végétales, utilisées comme traitement pour faire face aux problèmes des effets secondaires liés aux médicaments synthétiques, ainsi que la résistance développée par les microorganismes pathogènes contre ces derniers [7].

Par son excellente situation géographique et sa richesse en types de sols (littoral, steppes, montagnes et désert) et de climats, l'Algérie recèle d'un patrimoine végétal considérable. On y trouve plus de 3000 espèces végétales dont 15% sont endémiques [8]. Parmi ces ressources naturelles, beaucoup de plantes spontanées aromatiques et médicinales riches en composés actifs telles que les Lamiacées, sont largement utilisées au quotidien.

Cependant, malgré l'idée reçue que tout ce qui naturel est sans danger, certaines plantes restent toxiques voire mortelles, et donc pour une utilisation à des fins thérapeutiques et le développement de nouveaux médicaments naturels, les principes actifs des végétaux doivent être identifiés et surtout leur toxicité et leur efficacité doivent être bien étudiées.

Ce travail s'inscrit dans cette dynamique et nécessité d'une meilleure connaissance et valorisation de ces plantes médicinales Algériennes, afin d'encourager et de promouvoir l'utilisation de ces remèdes naturels à moindre coût.

Parmi ces plantes, l'espèce *Ajuga iva* (L.) Schreb de la famille des Lamiacées, communément appelée Chendgoura, est largement utilisée dans la pharmacopée traditionnelle algérienne pour ses remarquables vertus thérapeutiques. Elle est largement étudiée pour ses propriétés hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et hypotensives, mais il existe très peu de données concernant d'autres activités [9].

C'est donc dans cette optique que s'inscrit notre contribution dont les objectifs se résument comme suit :

- Extraction des principes actifs à partir des parties aériennes d'*Ajuga iva* par différentes méthodes d'extraction.
- Identification et quantification de la composition chimique de l'huile essentielle et des extraits polaires et de l'extrait apolaire (par colorimétrie, CG-SM).
- Évaluation des activités biologiques et pharmacologiques des différents extraits de la plante.

Ce travail est structuré en 3 chapitres :

Chapitre I : une synthèse bibliographique dédiée aux notions de base essentielles liées à notre travail : les plantes médicinales et leurs métabolites, description d'*Ajuga iva* et de quelques activités biologiques et pharmacologiques des plantes médicinales.

Chapitre II : consacré au matériel et aux méthodes utilisés lors de ce travail

- Étude botanique de la plante ;
- Extraction des cendres, huile essentielle et des extraits actifs ;
- Criblage phytochimique, dosages, identification et quantification de la composition des différents extraits et de l'huile essentielle ;
- Étude de quelques activités biologiques *in vitro* et pharmacologiques *in vivo*.

Chapitre III : les résultats obtenus sont analysés et interprétés et leur significativité statistique est discutée par rapport aux données de la littérature.

A la fin de cette thèse, une **conclusion générale** rappellera les principaux résultats obtenus, suivis de quelques **perspectives** pouvant faire suite à nos travaux.

Enfin, nous clôturons cette thèse avec les **appendices** et les **références bibliographiques**.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Les plantes médicinales et phytothérapie

« Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou, qui sont des précurseurs dans la synthèse des drogues utiles » [10].

Il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 qui possèdent des propriétés médicinales grâce à la multitude d'agents bioactifs présents dans leurs extraits : alcaloïdes, flavonoïdes, vitamines, tanins, huiles essentielles, acides organiques, résines, polysaccharides...etc. Cependant, un très faible pourcentage de ces plantes (de 5% à 15%) a fait l'objet d'études chimiques et pharmacologiques [11] ; [12].

Depuis des siècles, les épices et les herbes ont été utilisées dans la nourriture, les boissons, la parfumerie, mais aussi pour traiter ou prévenir certaines maladies. Au début du XX^e siècle, la phytothérapie a connu un certain recul à cause de l'apparition de produits synthétiques d'origine animale ou minérale. Actuellement elle regagne de l'intérêt car les plantes restent indéniablement une irremplaçable source de remèdes, et surtout suite aux travaux de nombreux chercheurs qui ne cessent d'identifier de nouvelles molécules bioactives avec un potentiel thérapeutique [13] ; [4].

La phytothérapie est connue comme étant le traitement ou la prévention des maladies par l'usage des plantes [14]. Seules, ou en complément d'un traitement médicamenteux chimique, ces plantes médicinales ont souvent été utilisées par automédication [15] et sous différentes formes galéniques telle que l'infusion, la décoction, les teintures, gélules et poudres, sirops, huiles médicinales, onguents, cataplasmes, crèmes ...etc. [16].

En Algérie, depuis des siècles et jusqu'à ce jour, les plantes médicinales sont utilisées beaucoup plus par les personnes âgées dans les zones rurales, qui connaissent et préservent encore certaines recettes à base de plantes [17].

Souvent, les plantes ont une action plus efficace sur une certaine partie du corps que sur une autre. On trouve des plantes aux effets Antiseptiques (malaleuca, gingembre), Emollients (souci, plantain), Astringents (hamamélis, bistorte en tête, prêle), Dépuratifs (bardane), Immunostimulants (échinacée, lapacho), Antibiotiques (ail), Expectorants (aunée officinale), Spasmolytiques (khella), Adaptogènes (ginseng), Nervins (romarin), Relaxants (mélisse), Sédatifs (gui), Stimulants (kola), Toniques (avoine), Cardiotoniques (sauge), Stimulants Circulatoires (piment de Cayenne), , Antispasmodiques (viorne obier, quinquina), Carminatifs (acore vrai), Cholagogues (arbre de neige), Cholérétiques (artichaut), Laxatifs (séné), Stomachique (cardamome), Hépatiques (buplèvre), Diurétiques (maïs), Analgésiques (jasmin sauvage), Anti-inflammatoires (saule blanc) ... etc. [17]. Il est clairement établi que les métabolites secondaires sont en très grande partie responsables des activités thérapeutiques des plantes médicinales [18].

1.2. Les principes actifs des plantes

« Un principe actif d'une plante désigne toute substance chimique intrinsèque capable d'induire une activité pharmacologique ». Une grande variété de principes actifs sont synthétisés par les plantes en utilisant les produits intermédiaires du métabolisme primaire. Ces principes actifs sont principalement formés au cours de la croissance végétale et diffèrent d'une espèce à une autre en fonction des facteurs environnementaux et génétiques. Parmi tous les principes actifs que peut produire une plante, les métabolites secondaires sont considérés comme les plus intéressants d'un point de vue pharmacologique [3].

Les **métabolites primaires** sont des molécules indispensables à la vie des végétaux. Ils sont présents dans toutes les cellules de la plante et se présentent sous forme de sucres simples, d'acides aminés, de protéines, de lipides et des acides nucléiques. Par contre, les **métabolites secondaires** sont des molécules

produites au cours de certains stades de développement de la plante et sont typiques à certains organes, tissus ou type cellulaire. Leur répartition est qualitativement et quantitativement inégale dans la plante elle-même mais aussi, parmi les différentes espèces même étroitement apparentées, et ils sont très impliqués dans la survie et la propagation des plantes qui les produisent [19].

Il existe plus de 200,000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en trois classes principales : les substances phénoliques, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les hétérosides (**Figure.1.16**) [19] ; [20].

1.2.1. Les composés phénoliques

Appelés aussi polyphénols, ce sont des molécules exclusivement produites par les végétaux. Ils forment un vaste groupe de 8000 composés ayant au moins un noyau benzénique (cycle aromatique) auquel est attaché au moins un groupement hydroxyle (-OH) et des groupes fonctionnels (Glycosides, ester, méthyle ester). Leur structure varie de simples acides comme l'acide salicylique aux grands polymères complexes qui sont les tanins et la lignine [21] ; [16] ; [22] ; [23] ; [19] ; [20]. Ils partagent tous la même origine de biosynthèse qui est l'acide aminé phénylalanine [24].

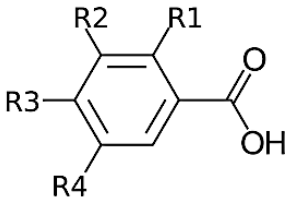
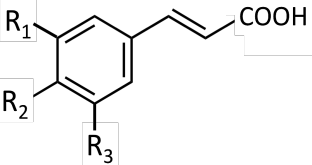
Les polyphénols agissent de manière importante sur la physiologie végétale. Ils sont en partie responsables de la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits, mais aussi d'amertume et d'astringence. Ils interviennent dans la croissance, la reproduction, la résistance contre les pathogènes, les herbivores, les ultraviolets et les agressions climatiques [25].

Il existe plusieurs classes de composés phénoliques groupés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (**Tableau.1.2**).

1.2.1.1. Acides phénoliques simples

Ce sont les composés qui contiennent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont généralement liés à d'autres molécules organiques et rarement à l'état libre. On distingue les acides hydroxybenzoïques, qui se présentent sous forme d'esters et de glycosides, et les acides hydroxycinnamiques, qui dérivent de l'acide cinnamique (**Tableau.1.1.**) [26].

Tableau.1.1. Principaux acides phénoliques [26]

Acides hydroxybenzoïques		Acide gallique Acide vanillique Acide salicylique Acide gentisique Acide benzoïque Acide syringique Acide protocatéchique Acide p-hydroxybenzoïque
Acides hydroxycinnamiques		Acide férulique Acide caféique Acide sinapique Acide cinnamique Acide p-coumarique

1.2.1.2. Flavonoïdes

Avec plus de 4000 structures identifiées, les flavonoïdes représentent la classe des polyphénols la plus étudiée. Ils sont présents dans la plupart des plantes, et sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Cette pigmentation joue un rôle important dans l'attraction des pollinisateurs [21] ; [27].

Ils sont constitués de deux noyaux aromatiques (A et B) reliés par un hétérocycle oxygéné (C) (**Figure.1.1**). Généralement, ils existent sous forme de glycosides et peuvent être soit libres (aglycones) soit sous forme d'hétérosides C- ou O-glycosides [28]. Les flavonoïdes sont regroupés en plusieurs classes à savoir : les Anthocyanes, les flavones et flavonols, les Flavanones et dihydroflavonols, les flavanes, flavanols et leucoanthocyanidines, les Chalcones et dihydrochalcones et enfin les aurones [21].

Plusieurs études ont rapporté les différents effets biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes : Antimicrobiens [29] ; [30], Antioxydants [31], hypotensifs [32], Antiinflammatoires [33] ; [34] et gastroprotecteurs [35].

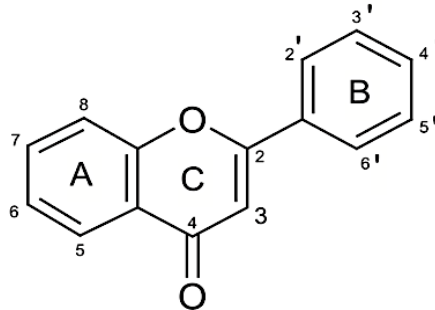


Figure.1.1. Squelette de base d'un flavonoïde [28]

1.2.1.3. Tanins

De structure complexe et d'un gout astringent, les tanins sont des armes dissuasives les plus importantes vis à vis des herbivores. Ils sont présents dans pratiquement tous les végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc.). Ils se divisent en deux grands groupes : les **tanins hydrolysables**, constitués de glucides dont un radical hydroxyle est attaché à l'acide gallique par une liaison ester, et les **tanins condensés** ou polymères de flavonoïdes, formés d'une ou plusieurs unités flavonoïdes reliées par des liaisons carbonées non hydrolysables (proanthocyanidines (**Figure.1.2**) [36] ; [26] ; [19].

Les tanins sont utilisés principalement pour le tannage du cuir, ils sont connus comme étant des inhibiteurs de la digestion des herbivores, ce qui diminuerait la valeur alimentaire de la plante. Ils possèdent aussi des propriétés antimicrobiennes [37] ; [38] et Antioxydante [39].

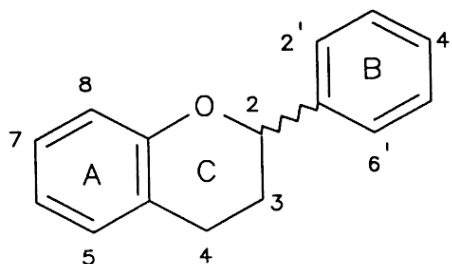


Figure.1.2. Structure de la proanthocyanidine [40]

1.2.1.4. Quinones

Ce sont des composés oxygénés issus de l'oxydation de phénols. Elles contiennent un noyau benzène sur lequel deux atomes d'oxygène remplacent deux atomes d'hydrogène par formation de doubles liaisons (diènes) (**Figure.1.3**) [21]. Elles assurent le transfert d'électrons lors de la photosynthèse et sont souvent associées à la différenciation des tissus végétaux [41] ; [42]. Elles sont aussi dotées d'un pouvoir protecteur contre les maladies cardiovasculaires [43] et les tumeurs [44].

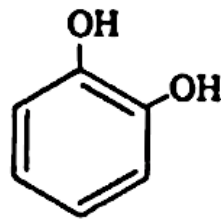


Figure.1.3. Structure du catéchol [45]

1.2.1.5. Coumarines

Isolées initialement de la fève tonka, elles appartiennent au groupe des benzo- α -pyrone du fait de leur structure composée d'un anneau de benzène joint à un anneau de pyrone (**Figure.1.4**). La majorité existe sous des formes simples (libres et solubles), et d'autres sous formes complexes [46] ; [21]. Umbelliferone, esculetin et scopoletin sont les plus répandues dans la nature [47]. Les coumarines sont connues pour être des substances allélochimiques, jouant un rôle dans la défense et la protection contre les herbivores, les insectes et les microbes [48]. Elles possèdent aussi des propriétés pharmacologiques : antitumorale [49] ; [50], antiinflammatoire [51], etc.

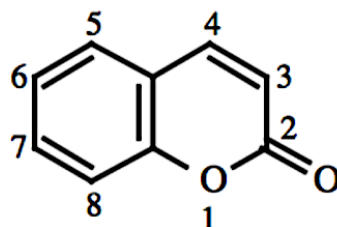


Figure.1.4. Structure α -benzopyrone d'une coumarine [46]

1.2.1.6. Stilbènes

Produits par nombreuses espèces végétales, ce sont des hydrocarbures polycycliques dérivés de l'acide cinnamique. A partir de leur simple structure C₆-C₂-C₆, peut se former un grand nombre de composés [52] ; [53] ; [54]. Leur rôle chez les plantes n'est pas entièrement élucidé, toutefois ils jouent un rôle dissuasif contre les herbivores [55], et possèdent un pouvoir antimicrobien [56] et insecticide [57]. Le resvératrol (**Figure.1.5**) présent dans les produits issus du raisin, est le stilbène le plus connu pour propriétés pharmacologiques. Il prévient et ralentit la progression de maladies telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires [58] ; [53] ; [59].

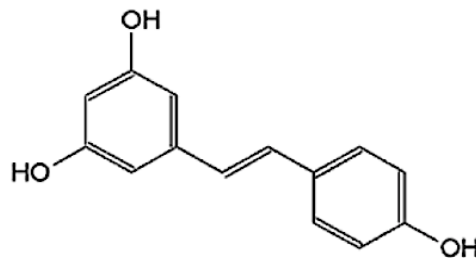


Figure.1.5. Structure du resvératrol [52]

1.2.1.7. Lignanes

Les lignanes sont des phytoœstrogènes présents dans les végétaux sous forme de glycosides. Ils sont formés de deux unités phenylpropanoïdes de structure C₆-C₃ reliées au centre par leur C8 (8-8') (**Figure.1.6**) [60] ; [61]. Elles sont très impliquées dans la défense des végétaux par leur action antimicrobienne et antinutritive [21] et font aussi l'objet de plusieurs travaux pour leurs propriétés antitumorale [62] et hépatoprotectrice [63], etc.

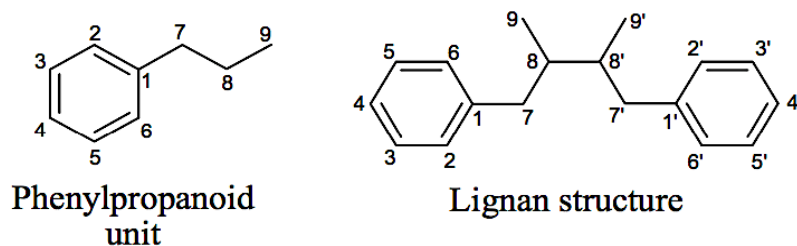
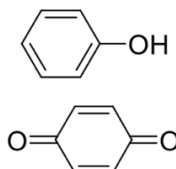
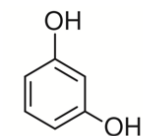
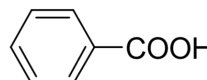
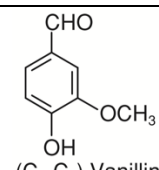
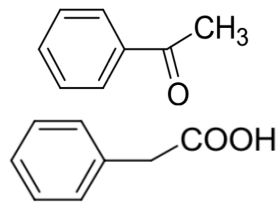
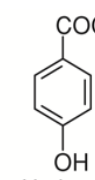
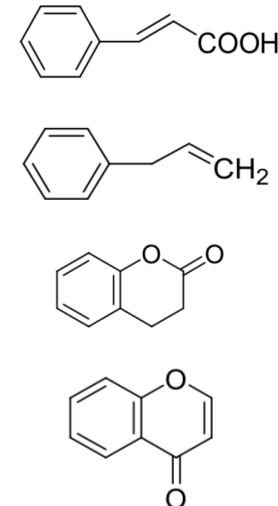
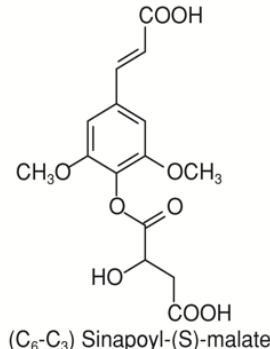
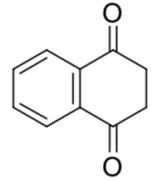
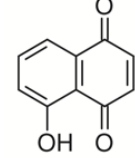
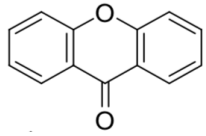
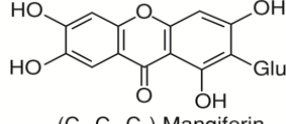
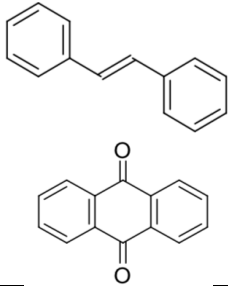
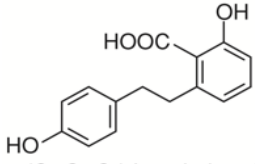
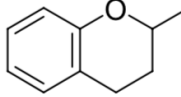
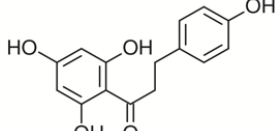
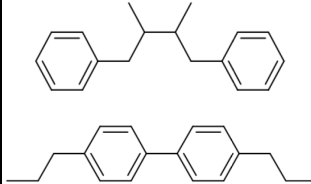
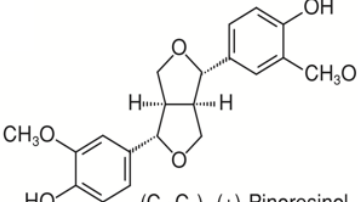
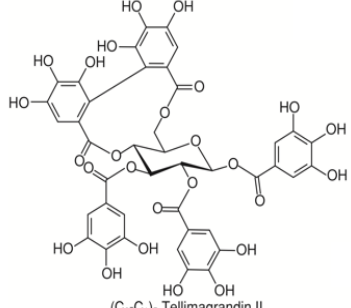
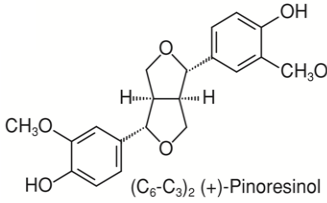


Figure.1.6. Structure du phénylpropanoïde et lignane [61]

Tableau.1.2. Classification des polyphénols [26] ; [25] ; [23]

Nombre de carbone	Classe	Structure de base	Exemple
C ₆	Phénols simples Benzoquinones		 (C ₆) Resorcinol
C ₆ -C ₁	Acide benzoïque		 (C ₆ -C ₁) Vanillin
C ₆ -C ₂	Acétophénone Acide phénylacétique		 (C ₆ -C ₂) p-Hydroxyacetophenone
C ₆ -C ₃	Acide cinnamique Phénylpropène Coumarines Chromones		 (C ₆ -C ₃) Sinapoyl-(S)-malate
C ₆ -C ₄	Naphthoquinones		 (C ₆ -C ₄) Juglone
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones		 (C ₆ -C ₁ -C ₆) Mangiferin

C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes Anthraquinones		 (C ₆ -C ₂ -C ₆) Lunularic acid
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes, Isoflavonoïdes		 (C ₆ -C ₃ -C ₆) Phloretin
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes Neolignanes		 (C ₆ -C ₃) ₂ (+)-Pinoresinol
(C ₆ -C ₁) _n	Tannins hydrolysables	Polymères composés d'acides phénoliques et de sucres simples	 (C ₇ -C ₁) ₅ Tellimagrandin II
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	Polymères aromatiques fortement réticulé	 (C ₆ -C ₃) ₂ (+)-Pinoresinol

1.2.2. Les terpènes

Largement répandus dans le règne végétal, les terpènes englobent un très grand nombre de composés et surtout il est le groupe le plus important des métabolites secondaires. Le plus simple est un hydrocarbure appelé Isoprène (C₅H₈) (**Figure.1.7**) [19]. Ils regroupent des molécules de poids moléculaire faible, volatiles, et aussi des molécules hautement polymérisées [21]. Selon le nombre d'unités d'isoprène, ils sont classés en :

- **Monoterpènes** : 2 unités (C₁₀) : volatiles, à l'origine de l'odeur des plantes.
- **Sesquiterpènes** : 3 unités (C₁₅).
- **Diterpènes** : 4 unités (C₂₀).
- **Triterpènes** : 6 unités (C₃₀).
- **Tetraterpènes** : 8 unités (C₄₀) : représentés par les caroténoïdes.
- **Polyterpènes** : n>8 : dont le caoutchouc (n>100.000) [19].

Le groupe des terpènes inclus des hormones (Gibbérellines et acide abscissique), des pigments caroténoïdes (Carotène et xanthophylle), des stérols (Ergostérol, sitostérol, cholestérol), des dérivés de stérols (Hétérosides digitaliques), le latex (qui est à la base du caoutchouc naturel) ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles [36].

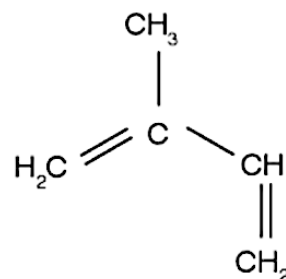


Figure.1.7. Structure d'un isoprène [64]

Comme la plupart des polyphénols, les terpènes sont impliqués dans la reproduction, la défense et la protection des végétaux et dans l'inhibition de la germination des végétaux environnants [65]. Ils sont aussi dotés de pouvoirs pharmacologiques tels que l'activité antitumorale [66], antiulcéreuse [67] ; [68], antiinflammatoire [69] et antivirale [70].

1.2.2.1. L'huile essentielle (HE)

Elle est définie selon la Pharmacopée Française [71] comme étant un « produit de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation », et selon la Pharmacopée Européenne [72] comme étant un « produit odorant, généralement de composition complexe obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie ». En résumé, une huile essentielle est un liquide

huileux, composé d'un mélange de molécules volatiles responsables du goût et du parfum des plantes aromatiques qui les produisent [73] ; [74] ; [74].

Elle est produite au niveau de tous les organes de la plante, à savoir, les fleurs, feuilles, tiges, bourgeons, graines, fruits, racines, bois, écorce, etc., Les plantes qui la produisent possèdent des structures spécialisées dans la sécrétion et le stockage, qui se présentent sous forme de poils (**Figure.1.8**), de canaux (**Figure.1.9**), de poches (**Figure.1.10**) ou bien tout simplement de cellules (solitaires) à huiles essentielles. [76] ; [21].

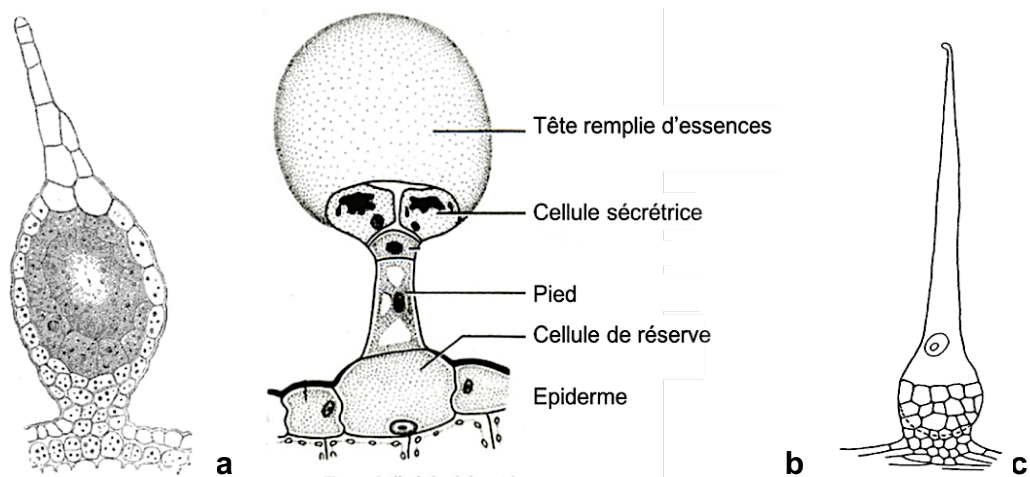


Figure.1.8. Les différents types de poils sécréteurs chez les végétaux : **a.** Poil massif sécréteur [77] ; **b.** Poil glanduleux avec tête unicellulaire [78] ; **c.** Poil unicellulaire urticant [79]

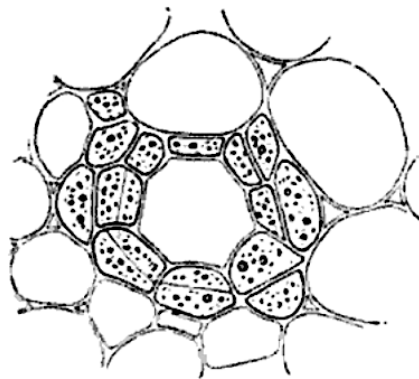


Figure.1.9. Schéma d'un canal sécréteur [77]

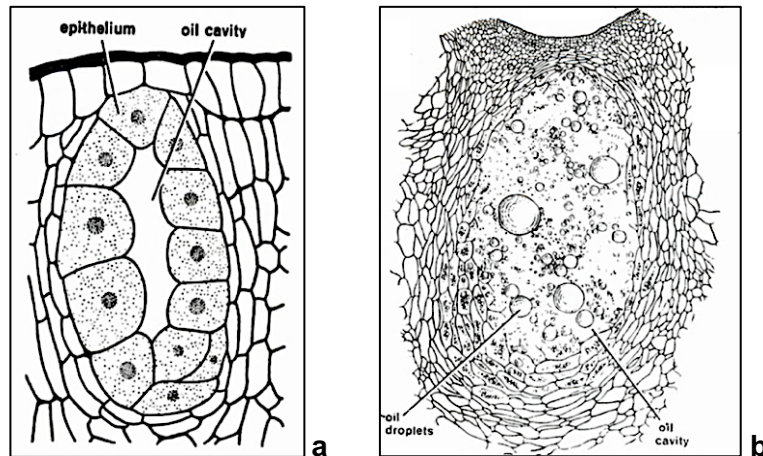


Figure.1.10. Schéma de cavité sécrétrice : **a.** Schizogène ; **b.** Lysogène [80]

a. Composition des HE

La composition des HE diffère qualitativement et quantitativement d'une espèce végétale à une autre, et d'un organe à un autre dans la même espèce, mais, leurs constituants appartiennent à deux groupes bien distincts : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. En plus de ces deux groupes, elles peuvent parfois contenir des produits issus de la dégradation des constituants non volatils [21].

a.1. Terpènes et Terpénoïdes (isoprénoïdes)

Ce sont les plus fréquemment rencontrés dans les HE et essentiellement les plus volatils d'entre eux, les monoterpènes et les sesquiterpènes. Ils peuvent avoir plusieurs fonctions : alcool, aldéhyde, cétone, ester, éther et phénol, et aussi plusieurs structures : linéaire (acyclique) ou cyclique (mono, bi ou polycyclique) (**Tableau.1.3.** et **Tableau.1.4.**) [21].

Tableau.1.3. Structure de quelques monoterpènes [76] ; [21] ; [81]

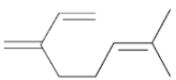
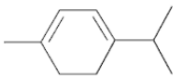
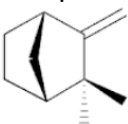
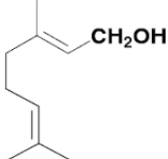
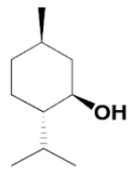
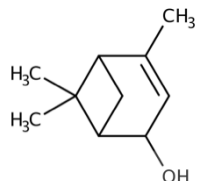
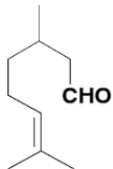
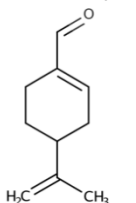

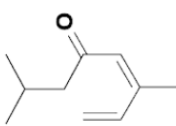
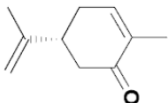
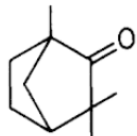
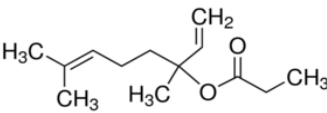
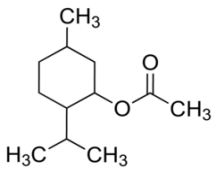
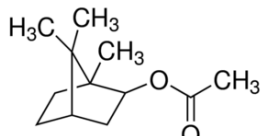
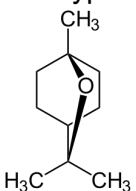
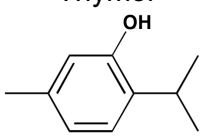
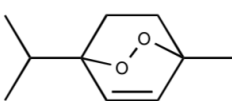
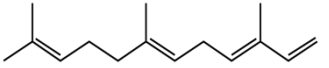
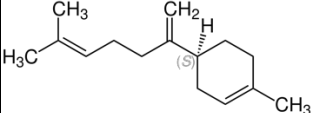
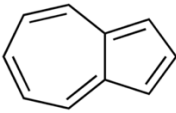
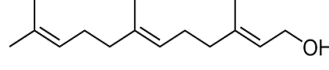
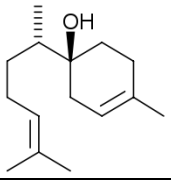
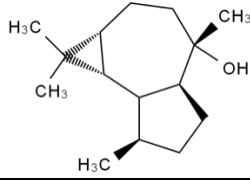
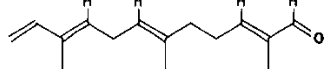
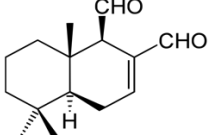
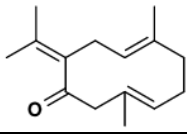
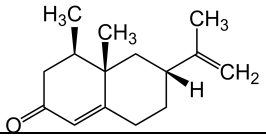
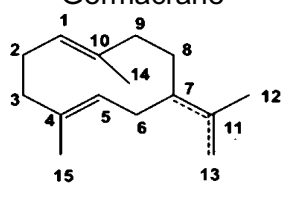
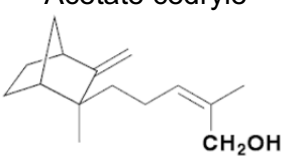
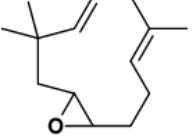
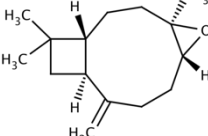
	Acyclique	Monocyclique	Bicyclique
Carbure	Myrcène 	Terpinène 	Camphène 
Alcool	Geraniol 	Menthol 	Verbenol 
Aldéhyde	Citronellal 	Perillaldehyde 	Myrtenal 
Cétone	Tagénone 	Carvone 	Fenchone 
Ester	Propionate de linalyle 	Acétate de menthyle 	Acétate d'isobornyle 
Éther	-	Eucalyptol 	-
Phénol	-	Thymol 	-
Peroxyde	-	Ascaridole 	-

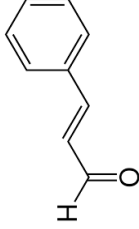
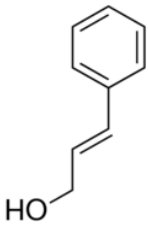
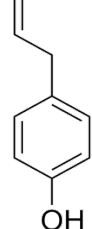
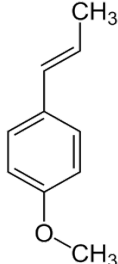
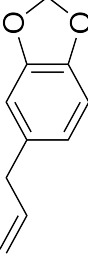
Tableau.1.4. Structure de quelques sesquiterpènes [82] ; [76] ; [21] ; [83]

	Acyclique	Monocyclique	Polycyclique
Carbure	α -Farnésène 	β -bisabolène 	Azulène 
Alcool	Farnesol 	Bisabolol 	Viridiflorol 
Aldéhyde	α -Sinensal 	-	Polygodial 
Cétone	-	Germacrone 	Nootkatone 
Ester	-	Germacrane 	Acétate cédryle 
Epoxyde	-	Humulène epoxide 	β -caryophyllène oxide 

a.2. Composés aromatiques

Ils sont moins abondants que le premier groupe, ce sont des dérivés du phénylpropane et possèdent les mêmes fonctions que celles des terpénoïdes (**Tableau.1.5.**) : Alcool, Aldéhyde, Phénols, Composés méthoxy et Dérivés de méthylène dioxy [83].

Tableau.1.5. Structure de quelques composés aromatiques [76]

Aldéhyde	Alcool	Phénols	Dérivés méthoxy	Composés de méthylène dioxy
Cinnamaldehyde	Cinnamic alcohol	Chavicol	Anethol	Safrole
				

a.3. Autres composés

En plus des terpènes, terpénoïdes et composés aromatiques, d'autres composés peuvent entrer dans la composition des huiles essentielles. Ces composés sont issus de la transformation des molécules non volatiles tels que les acides gras et les terpènes [21].

b. Activités biologiques et pharmacologiques des HE

Les huiles essentielles jouent un rôle très important chez les plantes qui les fabriquent. Elles sont impliquées dans la reproduction et la dispersion des espèces végétales en attirant les pollinisateurs, et les protègent contre les microbes, les insectes et les herbivores indésirables [76] ; [19]. Elles sont aussi dotées de pouvoirs biologiques et pharmacologiques largement rapportés dans des études antérieures. Ce sont d'excellents antimicrobiens et antioxydants, et elles possèdent des propriétés anticancéreuses, antinociceptives, antiinflammatoires, etc. [84] ; [85]. Elles sont utilisées même à l'échelle industrielle dans la fabrication des parfums, savons et produits cosmétiques, et aussi dans la conservation et l'aromatisation de certains aliments [86].

1.2.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des molécules hétérocycliques azotées, constituées d'au moins un atome d'azote dans un noyau hétérocyclique (**Figure.1.11**). Ils dérivent principalement des acides aminés (phénylalanine, tyrosine, tryptophane, lysine, et ornithine) et sont repartis en six classes [36] ; [64] :

- **Les benzyle isoquinolines** : papavérine, berbérine morphine
- **Les tropanes** : atropine, cocaïne
- **Les indoles** (noyau indole) : quinine
- **Les pyrrolizidines** (esters d'alkaloïdes) : sénécionine
- **Les quinolizidines** (dérivés de lysine) : nupharine, lupinine
- **Les purines** : caféine

Ils sont connus pour leur rôle défensif de par leur toxicité parfois violente vis à vis des prédateurs, mais, plusieurs propriétés pharmacologiques leur sont attribuées. A faible dose, ils peuvent avoir une action hypotensive (indoles), antiarrhythmique (quinidine), antimalariale (quinine), anticancéreuse (vincristine), antibiotique (berbérine), analgésique (morphine, cocaïne) stimulante (caféine, atropine), etc. [19] ; [87].

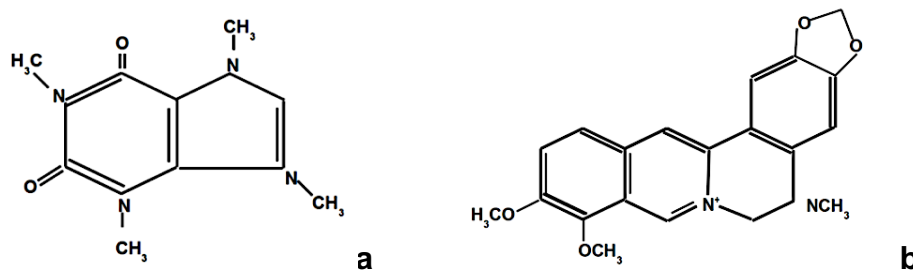


Figure.1.11. Structure de quelques alcaloïdes : **a)** Caféine ; **b)** Berbérine [88]

1.2.4. Les hétérosides

Appelés aussi glycosides, ce sont des métabolites très répandus dans le règne végétal. Ils se composent d'une unité non glucidique ou aglycone (génine) et d'un sucre (glycone), le plus souvent du glucose (**Figure.1.12.**). Ils se divisent en trois familles principales : hétérosides cyanogènes, hétérosides cardiotoniques et saponosides. Grace à leur structure ressemblante et sans être des hétérosides proprement dit, les glucosinolates forment une quatrième famille qui s'ajoute aux trois précédentes [89] ; [36].

1.2.4.1. Les hétérosides cyanogènes

Ils dérivent principalement de quatre acides aminés : la phénylalanine, la tyrosine, la valine et l'isoleucine, mais aussi de la niacine. Ils protègent les plantes blessées par la libération du cyanure très toxique suite à une hydrolyse [36].

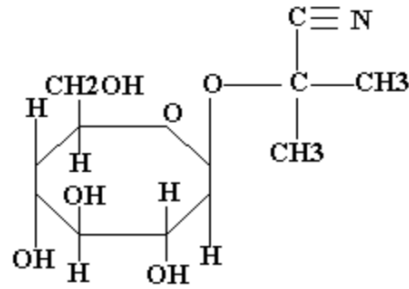


Figure.1.12. Structure de la Linamarine, un glycoside cyanogène [90]

1.2.4.2. Les hétérosides cardiotoniques (Cardénolides)

Dérivés de stérols, ils ont comme principale source les digitales. Ce sont des poisons capables de provoquer des crises cardiaques [21]. Ils sont formés de sucres rares (parfois des désoxysucres) et d'une génine à structure stéroïdique à laquelle est lié un anneau lactone (**Figure.1.13**). La digitaline est le cardénolide le plus connu, elle a été longtemps utilisée dans le traitement des maladies cardiovasculaires, pour sa capacité de diminuer ou de renforcer le rythme cardiaque [89] ; [36].

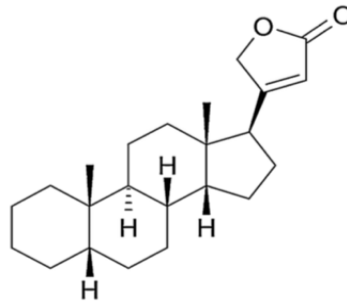


Figure.1.13. Structure d'un cardénolide [91]

1.2.4.3. Les saponosides (saponines)

Ce sont des terpènes glycosylés, caractérisés par leur gout amer et acre. Ils sont constitués d'un sucre hydrophile lié à un triterpène ou un stéroïde aglycone hydrophobe (**Figure.1.14**) qui sont à l'origine de leurs propriétés tensioactives (détergents) [36] ; [92].

Elles sont antimicrobiennes et provoquent des irritations gastriques chez les herbivores qui les ingèrent [36] ; [93]. Elles sont dotées de propriétés médicinales

telles que, l'effet hypocholestérolémiant, anticoagulant, anticarcinogénique, hépatoprotecteur, hypoglycémiant, immunomodulateur, neuroprotecteur, anti-inflammatoire et antioxydant [94] ; [95].

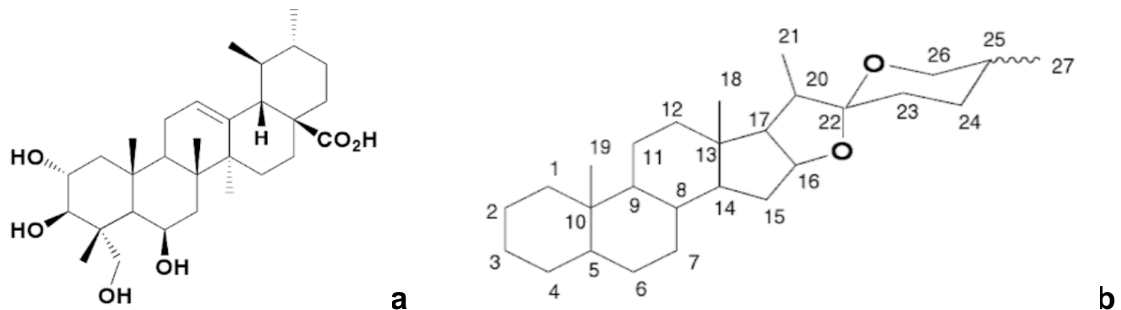


Figure.1.14. Structure des saponosides. **a)** acide madécassique : génine triterpénique. **b)** Spirostane : génine stéroïdique [21]

1.2.4.4. Les glucosinolates (Hétérosides soufrés)

Ce sont des composés qui contiennent du soufre et de l'azote (**Figure.1.15**). Ils se caractérisent par le goût acre et l'odeur forte qu'ils confèrent à la moutarde, au chou, au brocoli, etc. Ils sont tous constitués de glucose, et diffèrent uniquement par la nature de leur groupement R qui peut être un méthyle ou, une longue chaîne linéaire ou ramifiée composée de structure aromatiques ou hétérocycles [36].

Les glucosinolates sont très impliqués dans le caractère invasif des plantes, un moyen de défense contre les microbes, les insectes et les plantes voisines [96]. Ils possèdent aussi plusieurs propriétés pharmacologiques tel que l'effet protecteur vis à vis des substances cancérigènes, antifongique, antibactérien, antioxydante et anti-inflammatoires, etc. [21] ; [97].

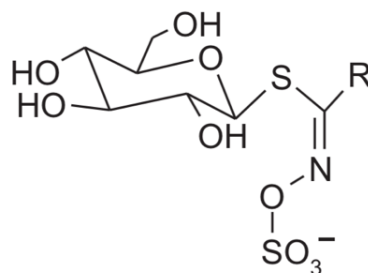


Figure.1.15. Structure générale d'un glucosinolate [98]

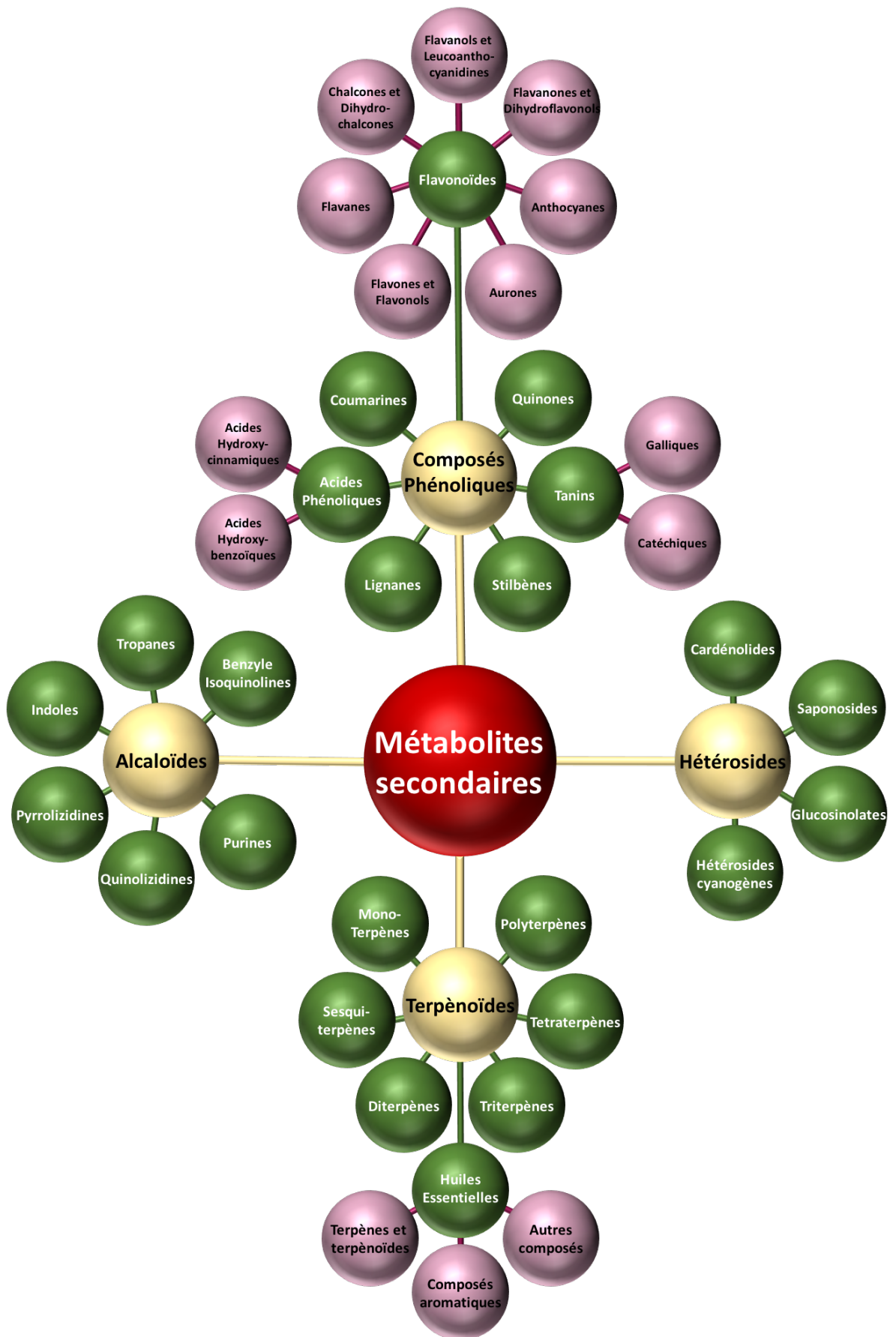


Figure.1.16. Récapitulatif des métabolites secondaires chez les végétaux (MOUHEB, 2018)

1.3. Méthodes d'extraction des métabolites secondaires

La nature de l'échantillon à extraire et le résultat que l'on désire obtenir conditionnent fortement le choix de la technique d'extraction ; autrement dit, avant de choisir la technique, il faut que la cible à extraire soit d'abord bien déterminée. Cette cible peut être un composé inconnu, un composé bien déterminé, un groupe de métabolites ou bien tous les métabolites de la plante, etc. Il est important aussi de bien choisir le solvant à utiliser, aqueux ou organique, polaire ou apolaire, pour que ces métabolites soient extraits de la manière la plus efficace [99].

Il existe différentes méthodes d'extraction, elles peuvent être solide-liquide ou bien liquide-liquide. L'extraction solide-liquide est la technique classique la plus utilisée pour extraire les métabolites à partir d'une poudre végétale immergée dans un solvant. Son principe repose sur le fait que le solvant pénètre à l'intérieur des cellules végétales pour solubiliser et entraîner les métabolites vers l'extérieur pour enrichir le solvant. Le rendement en extrait de cette technique peut être optimisé de différentes manières, telles que la pulvérisation du matériel végétal, l'augmentation de la température et l'agitation du solvant [100].

1.3.1. Extraction au Soxhlet

Le Soxhlet est un appareil qui permet l'extraction à chaud d'un échantillon solide par un solvant de manière continue. Il est composé d'un ballon, surmonté d'un extracteur sur lequel est placé un réfrigérant, et tout le dispositif est placé sur une source de chaleur. Le solvant porté à ébullition dans le ballon s'évapore, puis se condense au contact du réfrigérant et retombe goutte à goutte sur le matériel végétal contenu dans une cartouche en cellulose placée dans l'extracteur (réceptacle). Lorsque le solvant atteint un volume donné, il est vidangé du réceptacle par un système de siphonage pour revenir au ballon, entraînant avec lui les métabolites extraits. A chaque siphonage, la concentration du solvant en composés organiques augmente progressivement jusqu'à saturation. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient clair [101] ; [102] ; [100].

1.3.2. Décoction

L'extraction par décoction consiste à immerger le matériel végétal dans de l'eau froide avant de porter le tout à ébullition quelques minutes. Le décocté est par la suite obtenu après filtration [103].

1.3.3. Macération

La macération consiste à laisser tremper du matériel végétal dans un solvant, pendant quelques jours dans un récipient fermé et à température ambiante. Le mélange est brassé occasionnellement ou constamment. L'extraction étant incomplète avec cette méthode, le marc végétal obtenu après filtration est souvent repris avec du solvant frais afin d'en extraire le maximum de métabolites [104] ; [100].

1.3.4. Hydrodistillation

Le principe de cette méthode est basé sur l'entraînement continu par vapeur d'eau des composés volatils de la plante, libérés après destruction des cellules végétales par l'eau bouillante. La vapeur d'eau chargée de l'essence se condense dans le serpentin du réfrigèrent et s'accumule dans un essencier. Les composés insolubles dans l'eau sont décantés, et l'HE se sépare de l'eau par différence de densité. L'eau et les composés hydrosolubles forment ce qu'on appelle eau de distillation ou hydrolat [100] ; [105]. L'HE est récupérée par le robinet de distribution et déshumidifiée sur du sulfate de sodium anhydre.

1.4. Méthodes d'élimination des solvants d'extraction

1.4.1. Lyophilisation (cryodessiccation ou séchage froid)

La lyophilisation est une technique qui permet le séchage d'un produit congelé par sublimation. Ce processus est réalisé dans un lyophilisateur, sous vide et à basse température (-50/-80°C). Le produit obtenu est ainsi stable et mieux conservé avec la plupart de ses caractéristiques initiales [106] ; [107] ; [108] ; [109].

1.4.2. Évaporation rotative

L'évaporateur rotatif est un appareil utilisé essentiellement pour l'élimination rapide des solvants par distillation et ce, en combinant la température et la basse pression. Le ballon contenant le solvant enrichi de métabolites est simultanément mis en rotation et chauffé par un bain-marie réglé à une température adaptée au solvant. Grâce au vide créé par une pompe, le solvant s'évapore rapidement, se condense au niveau du réfrigérant, puis il est recueilli dans un deuxième ballon fixé à ce dernier [110] ; [111].

1.5. Méthodes d'analyse des extraits

1.5.1. Spectrophotométrie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-Visible est une technique analytique simple et rapide largement utilisée pour les analyses quantitatives. Son principe repose sur le fait qu'une substance en solution absorbe ou émet un rayonnement à une certaine longueur d'onde dans le domaine du visible et du proche ultraviolet (300 et 800 nm), et que ce rayonnement absorbé permettra d'identifier la composition de la substance (λ_{max}), de mesurer la concentration de ses composants, mais aussi d'identifier les groupes fonctionnels des molécules [112] ; [113].

1.5.2. Chromatographie

C'est une méthode utilisée pour séparer les composants d'un mélange complexe, en se reposant particulièrement sur le phénomène d'adsorption physique. Elle est constituée de deux phases : une phase stationnaire (solide ou liquide) par laquelle passe une phase mobile (gaz ou liquide) qui transporte les composants [114] ; [115].

1.5.2.1. Chromatographie à échange d'ions (CEI)

La CEI permet la séparation des ions et des composés polaires selon leur charge ionique. Les particules à séparer sont entraînées par une phase mobile ionique à travers une résine échangeuse d'ions, sur laquelle sont fixés des groupements fonctionnels chargés. L'échange des ions se fait par la compétition à

l'adsorption, entre les contre-ions (échangeables) apportés par l'éluant et les particules de l'échantillon à charge similaire selon leur degré d'affinité, et ce, en même temps que l'éluion des contre-ions et les ions de l'échantillon à charge opposée. Par la suite, la désorption des particules fixées se fait graduellement par l'éluant selon leur degré d'affinité pour la colonne. Les particules sont détectées à leur sortie de la colonne via un détecteur généralement de type conductimètre (**Figure.1.17**) [116] ; [117].

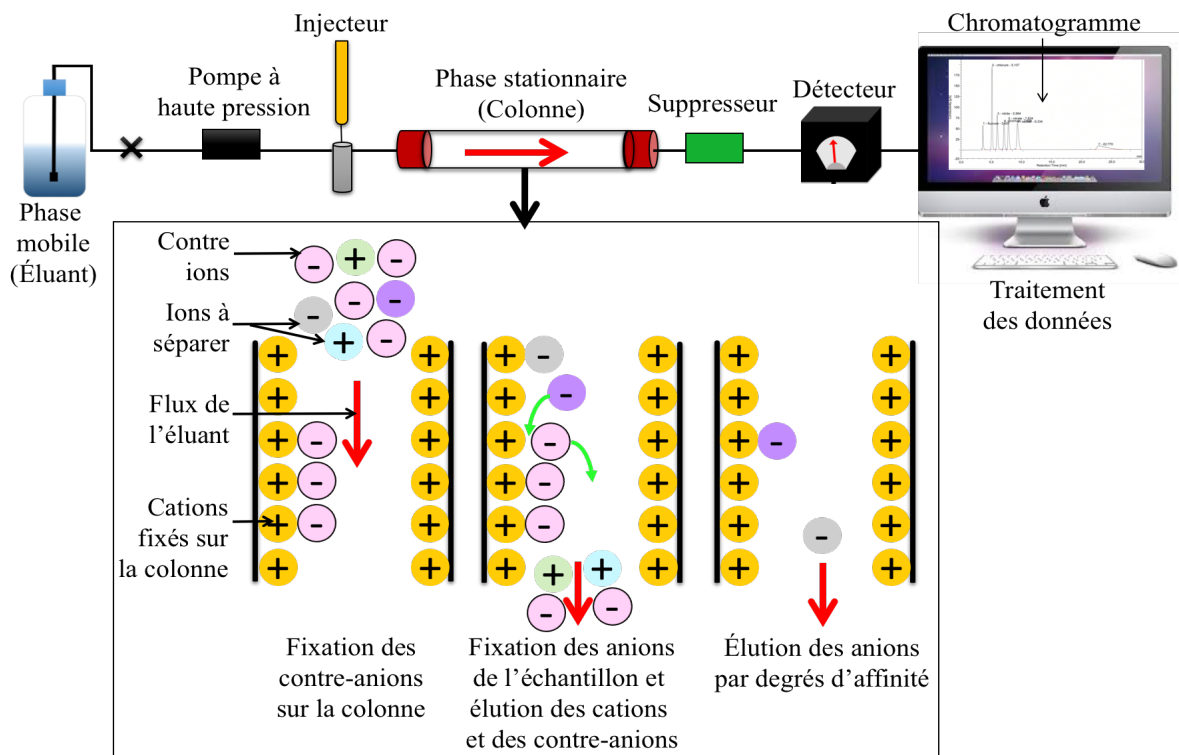


Figure.1.17. Représentation schématique de l'appareillage et du principe de la CEI (**Originale, 2018**)

1.5.2.2. Chromatographie gazeuse (GC)

La GC permet de séparer des composés volatils liquides ou solides thermiquement stables. Les molécules à séparer sont vaporisées à travers un injecteur à haute température et véhiculées par un gaz inerte sous pression, souvent de l'hélium ; à travers une colonne dont la paroi interne est soit recouverte d'un film chimique (phase solide), soit remplie d'un liquide non volatil et insoluble fortement adsorbé sur un support solide (phase liquide). Les molécules séparées selon le principe d'absorption ou de partition, migrent dans la colonne à des vitesses

différentes en fonction de leur volatilité et leur affinité (polarité) pour celle-ci : plus leur affinité est forte et/ou sont moins volatiles, plus elles mettront du temps pour migrer et vice-versa (**Figure.1.18**) [118] ; [119].

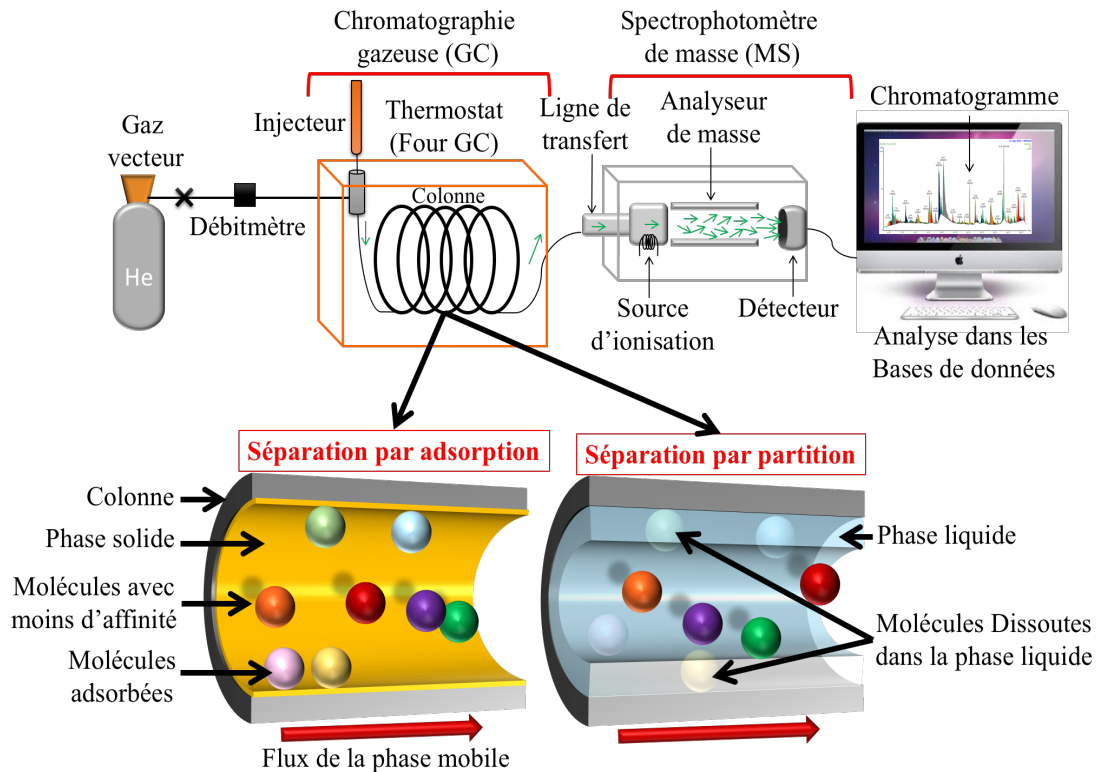


Figure.1.18. Représentation schématique de l'appareillage et du principe de la séparation dans une GC-MS (**Originale, 2018**).

1.5.2.3. La spectrophotométrie de masse (MS)

La MS est une technique d'analyse très sensible, qui permet de déterminer la masse moléculaire des molécules analysées ainsi que leur identification et leur quantification même à l'état de trace. Elle se base sur l'ionisation et la fragmentation d'une molécule (**Figure.1.19**), suivies de la détermination de la nature et l'abondance de l'ensemble des ions formés [120].

Son association à la GC est très avantageux : le chromatographe sépare les constituants du mélange à analyser, alors que le spectromètre détermine la masse des éléments, permettant ainsi de les identifier. La technique GC-MS est dotée de logiciels, qui permettent la comparaison automatique des spectres obtenus avec le contenu des bibliothèques spectrales qui ne cessent de se mettre à jour [121].

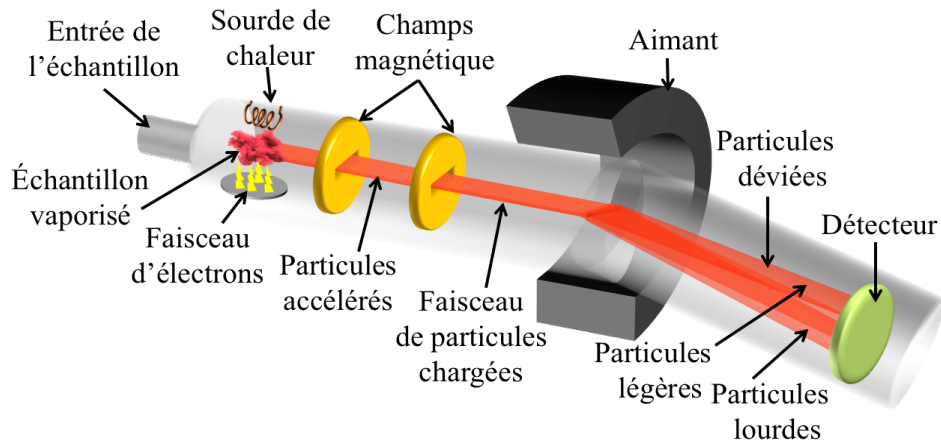


Figure.1.19. Principe de la spectrométrie de masse (Adaptée de [122])

1.6. Quelques activités biologiques et pharmacologiques des plantes médicinales

1.6.1. Activité antimicrobienne

Le traitement et la prévention contre les infections microbiennes se basent principalement sur l'utilisation d'antimicrobiens qui exercent une toxicité inhibitrice sélective, temporaire ou permanente contre les microbes en cause, et ce, sans être nuisibles ou toxiques aux cellules de l'organisme hôte. Ces antimicrobiens peuvent être soit naturels, lorsqu'ils sont élaborés par des microorganismes ; semisynthétiques, lorsque les antimicrobiens naturels subissent des modifications chimiques ; ou bien synthétiques, lorsqu'ils sont entièrement de synthèse chimique [123] ; [124] ; [125].

Cependant, malgré l'efficacité de ces antimicrobiens, leur utilisation abusive, inappropriée et parfois même inutile, a été responsable de l'apparition et l'augmentation inquiétante de résistances et surtout des multirésistances bactériennes [123] ; [126].

Face à la perte d'efficacité et aux innombrables effets secondaires de la majorité d'antibiotiques disponibles, et surtout face à l'émergence des bactéries multirésistantes, il est très important et dans l'urgence d'élaborer et d'appliquer des stratégies efficaces pour lutter contre ces phénomènes, d'où la nécessité de découvrir de nouvelles substances ou molécules avec de nouveaux mécanismes d'action inconnus des microorganismes [127] ; [128] ; [129].

Les plantes élaborent plus de 100 000 métabolites secondaires différents, dont plusieurs possèderaient un effet antibiotique qui mérite d'être investigué de manière plus approfondie [130] ; [131].

Plusieurs études concernant l'activité antimicrobienne des métabolites végétaux, ont montré que les plantes pourraient être une potentielle source de nouveaux prototypes d'antibiotiques [132]. Les mécanismes impliqués dans l'effet antimicrobien de chaque métabolite sont probablement très complexes et plusieurs hypothèses les concernant ont été avancées. Les différents métabolites pourraient agir sur la paroi bactérienne en perturbant son organisation [133], sur la membrane cytoplasmique en s'intercalant dans la bicouche lipidique [134] ; [135], en inhibant des enzymes par des composants oxydés [133], en inhibant la synthèse des acides nucléiques et le métabolisme énergétique [136], etc.

1.6.1.1. Tests de sensibilité aux antimicrobiens

Le test le plus couramment utilisé pour déterminer la sensibilité d'une souche microbienne vis à vis d'un antimicrobien est la méthode de l'antibiogramme. Son objectif consiste à prédire le résultat d'un traitement par un antimicrobien contre une souche identifiée ou non, mais aussi d'orienter le clinicien dans le choix de l'antimicrobien à administrer ou à prescrire. Les méthodes les plus utilisées pour tester cette sensibilité sont le test de diffusion par disque sur milieu gélosé solide (qualitative) et le test de dilutions en milieu gélosé solide (quantitative).

La méthode de diffusion par disque sur milieu gélosé solide permet de classer une souche dans l'une des cinq catégories de susceptibilité selon le Clinical and Laboratory Standards Institute [137] :

- 1. Susceptible ou sensible (S)** : signifie qu'il y a une forte probabilité que l'antimicrobien soit efficace avec la dose testée.
- 2. Susceptible à dose dépendant (SDD)** : signifie que l'antimicrobien testé serait efficace à un dosage plus élevé et/ou plus fréquent sans qu'il y ait de risque pour le patient.

3. Intermédiaire (I) : cette catégorie peut avoir plusieurs interprétations :

- L'antimicrobien testé serait efficace à un dosage plus élevé en étant concentré dans le site de l'infection et sans qu'il y ait de risques pour le patient.
- Si la partie corporelle cible est difficile d'accès pour l'antimicrobien, son utilisation nécessite une extrême prudence.
- Qualifiée parfois de 'zone tampon' car elle tient compte des incertitudes techniques et biologiques. Selon cette interprétation le succès du traitement est imprévisible car, soit la souche microbienne est faiblement résistante *in vitro* et est classée comme susceptible alors qu'elles pourraient être résistantes *in vivo* et conduirait à l'échec du traitement ; soit que sa résistance *in vitro* n'est pas suffisante pour la classer comme résistante mais pourrait être suffisamment faible pour que le traitement fonctionne.

4. Résistante (R) : signifie que l'antimicrobien testé est inefficace.

5. Non susceptible (NS) : lorsque aucun seuil de résistance ne lui a été défini vis à vis d'un antimicrobien à cause de l'absence ou la rareté de souches résistantes. [138] ; [139] ; [140].

La seconde méthode permet de déterminer la concentration de l'antimicrobien la plus faible capable d'inhiber un développement visible d'une souche microbienne. Les résultats sont rapportés en microgrammes par millilitre ($\mu\text{g/ml}$) [139].

Dans les deux méthodes, les catégories sont établies par comparaison à des interprétations standards recommandées par le **CLSI** (Clinical & Laboratory Standards Institut) ou l'**EUCAST** (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

1.6.1.2. Généralités sur les souches testées

Dans le souci de tester l'effet antimicrobien des différents extraits d'*Ajuga iva*, nous présentons brièvement dans cette partie, des généralités résumées dans le **Tableau.1.6.**, sur l'ensemble des espèces microbiennes testées,

Tableau.1.6. Récapitulatif des espèces microbiennes testées [143] ; [144] ; [145] ; [146]

Bacteries					
Gram	Nom	Famille / genre	Description	Habitat	Pouvoir pathogène
Négatif	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Colibacille Mobiles	Ubiquitaire, Commensal du tube digestif	Infections urinaires Gastroentérites et diarrhées
	<i>Salmonella spp</i>		Bacille Mobile	Parasite de l'homme Intestins d'animaux	Gastroentérites, Toxiinfection
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	Bacille Mobile Aérobie strict	Saprophyte ubiquitaire	Infections nosocomiales diverses, respiratoires, urinaires cutanées, méningites, otites,
Positif	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillaceae</i>	Bacilles Sporulant	Ubiquitaire	Pneumonies, bactériémies, septicémies, infections alimentaires
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	Cocci Immobile Groupées en amas	Flore commensale opportuniste de la peau et des muqueuses	Toxiinfection, infections cutanées purulentes, syndrome de choc toxique, septicémies
Champignons					
Moisissure	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus</i>	Filamenteux, Hyphes septés et ramifiés en mycélium, Conidiophore a tête vésiculaire entourée de phialides	Saprophyte ubiquitaire	Otomycose, Infections pulmonaires
Levure	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida</i>	Levure unicellulaire	Commensale saprophyte obligatoire chez l'homme	Infections des muqueuses digestives et gynécologiques, candidemies

1.6.2. Activité antioxydante

1.6.2.1. Les radicaux libres

Contrairement à une molécule normale, les radicaux libres sont des molécules instables, possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe (**Figure.1.20**). Pour s'apparier et se stabiliser, ils prennent leur électron manquant à partir d'une autre molécule. L'absence de cet électron les rends très réactifs chimiquement, et leur permet de générer rapidement d'autres radicaux libres en oxydant et endommageant d'avantage d'autres molécules.

Les radicaux libres auxquels nous sommes constamment exposés peuvent avoir diverses provenances. Leurs sources sont soit exogènes, tels que les rayons x, les rayons ultraviolets, les polluants, les pesticides, les herbicides, certains composants alimentaires, la fumée de cigarette, produits chimiques toxiques, etc, ou bien endogènes tels que le métabolisme cellulaire et l'inflammation. [147] ; [148] ; [149] ; [150].

Ils existent une multitude de radicaux libres ; les plus courant dans l'organisme vivant sont les ROS ou Espèces Réactives d'Oxygène. D'après GADOTH et GÖBEL, [151], 1 à 5% de l'oxygène qui entre à l'intérieur des cellules pour la production d'énergie, sont partiellement réduits en ROS. Ils sont produits naturellement dans la mitochondrie, le cytosol et les organites cellulaires et jouent le rôle important d'intermédiaires au cours de nombreuses réactions. [152] ; [153] ; [154] ; [151]. Ils interviennent dans l'activation des gènes de défense, la destruction des microorganismes lors d'une infection, la communication intracellulaire, le processus inflammatoire, etc. [155] ; [156] ; [150].

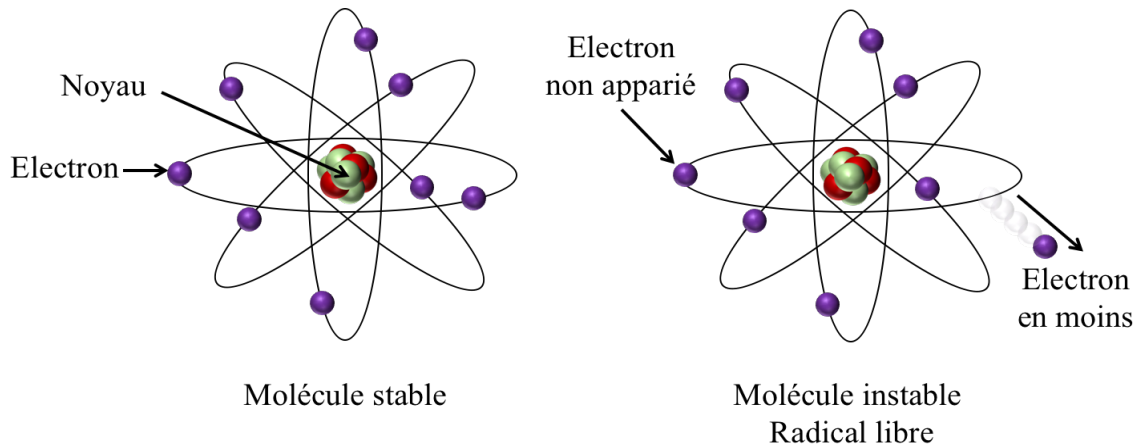


Figure.1.20. Représentation schématique d'une molécule stable et un radical libre (Originale, 2018).

1.6.2.2. Les antioxydants

Ce sont des substances ou molécules capables même en très faible quantités, de prévenir ou de retarder l'oxydation de molécules facilement oxydables (Figure.1.21) [157] ; [158]. Les antioxydants peuvent être soit d'origine **endogène**, synthétisés par les cellules de l'organisme, tels que les facteurs spécifiques (glutathion, l'acide urique) et les enzymes (catalase, superoxyde dismutase, glutathion réductase, etc) [157], ou bien d'origine **exogène**, apportés principalement via l'alimentation (vitamines E, C et B2, les caroténoïdes, les flavonoïdes, les polyphénols, les terpènes, minéraux et oligoéléments, etc.) [159] ; [160] ; [161].

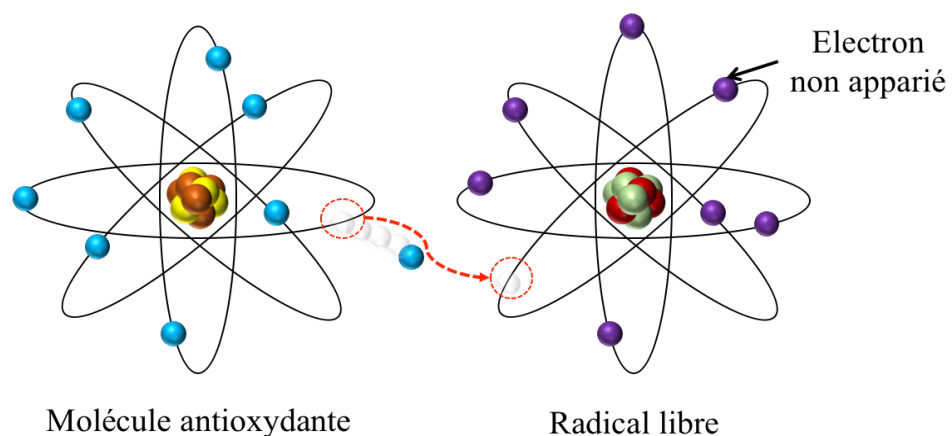


Figure.1.21. Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Originale, 2018).

Le mécanisme de défense des antioxydants consiste principalement à : éliminer ou délocaliser l'O₂ pour diminuer sa concentration, piéger les ROS ou leurs précurseurs, décomposer les peroxydes en produits non radicalaires, se lier aux ions métalliques nécessaires à la génération des ROS, absorber les UV's, etc. [162] ; [163].

1.6.2.3. Le stress oxydant

Depuis quelques années, le stress oxydant ou oxydatif est devenu un concept d'actualité sur lequel la recherche scientifique se concentre, vu qu'il est incriminé dans l'apparition de nombreuses maladies humaines chroniques liées au vieillissement, telle que les maladies neurodégénératives et le cancer.

Une cellule produit continuellement en petites quantités les radicaux libres (composés prooxydants) nécessaires à son métabolisme et en même temps, elle produit les antioxydants pour pouvoir les éliminer, c'est une réaction d'oxydoréduction tout à fait normale. Parfois, cet équilibre physiologique subtil est rompu et l'organisme n'arrive plus à se défendre contre les agressions de ces radicaux libres, à cause de leur surproduction ou bien à cause d'un déficit en antioxydants. Ce déséquilibre peut être réversible si les systèmes antioxydants reprennent le dessus [164] ; [165] ; [150], mais dans le cas contraire, les radicaux libres peuvent causer des dommages oxydatifs très importants à l'ADN (mutations, endommagement des chromosomes), initier la peroxydation des lipides membranaires et la dégradation des polysaccharides et inhibe certaines enzymes clés, etc., provoquant ainsi apoptose, nécrose et mort cellulaire [155] ; [156] ; [150].

1.6.3. Activité antiinflammatoire

1.6.3.1. L'inflammation

L'inflammation est une réponse immunitaire tout à fait naturelle qui se manifeste suite aux diverses agressions que peut subir un tissu : une blessure, une nécrose cellulaire, une infection microbienne, un corps étranger ou bien une réponse immunitaire [166]. Elle est caractérisée par quatre phénomènes typiques :

Tuméfaction, douleur, chaleur et rougeur [167], dus au déclenchement d'une série de réactions physiologiques cellulaires très complexes, pour neutraliser la source de l'agression et réparer les dommages tissulaires causés [168] ; [169].

Le déclenchement du processus inflammatoire est régulé par l'intervention de plusieurs composants dont chacun possède un rôle bien précis. Tout d'abord il y a les **inducteurs** de l'inflammation ; ce sont des signaux détectés par les **capteurs spécialisés** et sont responsables du déclenchement de la réponse inflammatoire par la production de **médiateurs**. Ces derniers, permettent le recrutement et la stimulation des **cellules effectrices** impliquées dans l'inflammation [170].

Les inducteurs peuvent être d'origine **exogène** tels que les motifs moléculaires associés aux agents pathogènes ou PAMP, les facteurs de virulence, les allergènes, les irritants et les composés toxiques [171], ou bien **endogènes**, produits par des tissus endommagés, comme par exemple la fuite de certains composants membranaires lors d'une mort cellulaire, ou bien des fragments issus de la décomposition de certains polymères (**Figure.1.22**) [170].

Les médiateurs, dont la production est stimulée par les inducteurs, peuvent dériver de protéines plasmatiques ou sont sécrétés par des cellules, telles que des leucocytes spécialisés ou des cellules du tissu lésé. Ils jouent un rôle principal dans l'augmentation de la perméabilité vasculaire et selon le besoin, la vasodilatation ou la vasoconstriction, et le recrutement des cellules effectrices [166]. Parmi ces médiateurs (**Figure.1.23**), il y a **les amines vasoactives** (histamine, sérotonine), **les peptides vasoactifs** (substance P, bradykinine, fibrine), **les fragments du complément** (anaphylatoxines), **les médiateurs lipidiques** : les prostaglandines (PGE₂ et PGI₂) et thromboxanes, **les facteurs activant les plaquettes**, **Les cytokines inflammatoires** : TNF (Tumor Necrosis Factor) et les interleukines IL-1, IL-6, et IL-17, **les chimiokines ou chémokines** et **Les enzymes protéolytiques** (Élastine, cathepsines) [170] ; [166].

Les **cellules effectrices (Figure.1.23)** : ce sont toutes les cellules impliquées dans l'inflammation. Elles peuvent faire partie soit des cellules du tissu lésé ou bien des cellules immunitaires recrutées par les médiateurs de l'inflammation [172].

1.6.3.2. Étapes de l'inflammation aiguë (Figure.1.24)

- 1- **Reconnaissance** ou **phase tissulaire** : le stimuli est d'abord reconnu par des cellules locales ou par des molécules dans la circulation sanguine. Les cellules de reconnaissance expriment sur leur surface membranaire des récepteurs spécifiques au stimuli, et déclenchent la production de médiateurs pro-inflammation afin d'amplifier la réponse immunitaire [170] ; [166].
- 2- **Recrutement** ou **phase vasculaire** : les médiateurs provoquent une augmentation de la perméabilité vasculaire (exsudat), afin de diluer les facteurs nocifs, de capturer et de recruter davantage vers le site lésé des éléments du système immunitaire en circulation, principalement des leucocytes neutrophiles, les anticorps et le complément. [173] ; [166].
- 3- **Élimination de l'agent nuisible** ou **phase effectrice** : une fois la cible atteinte, les neutrophiles tenteront de détruire l'agent nuisible en libérant leur puissant contenu en molécules toxiques et granules, telles que les radicaux libres (ROS), la protéinase, etc. [174] ; [175] ; [170].
- 4- **Régulation de la réponse** : si la réponse inflammatoire aiguë est suffisante, la phase de la régulation est déclenchée par le passage des prostaglandines pro-inflammatoires aux lipoxines antiinflammatoires, qui inhibent le recrutement des neutrophiles et favorisent celui des monocytes essentiels à l'étape de résolution et de réparation [170] ; [166].
- 5- **Résolution de l'inflammation et réparation des dommages** : Cette phase dépend du degré des lésions tissulaires. Elle débute par l'élimination des cellules mortes et des microbes (si présents) par les macrophages, puis la résorption de l'œdème liquidien par les lymphatiques, et ensuite le remodelage des tissus endommagés avec l'intervention combinée des résolvines, des protectines, maresines et les facteurs de croissances produits par les cellules endothéliales et les macrophages [176] ; [177] ; [178].

Dans le cas où la réponse inflammatoire aiguë ne parvient pas à neutraliser le stimuli, la réaction inflammatoire persiste et le recrutement des macrophages se fera davantage avec les lymphocytes T si nécessaire, et évoluera en inflammation chronique par la formation de granulomes, où les macrophages incapables de détruire le stimuli, l'entoure de plusieurs couches et l'emprisonne, dans le seul but de protéger l'hôte [179] ; [166].

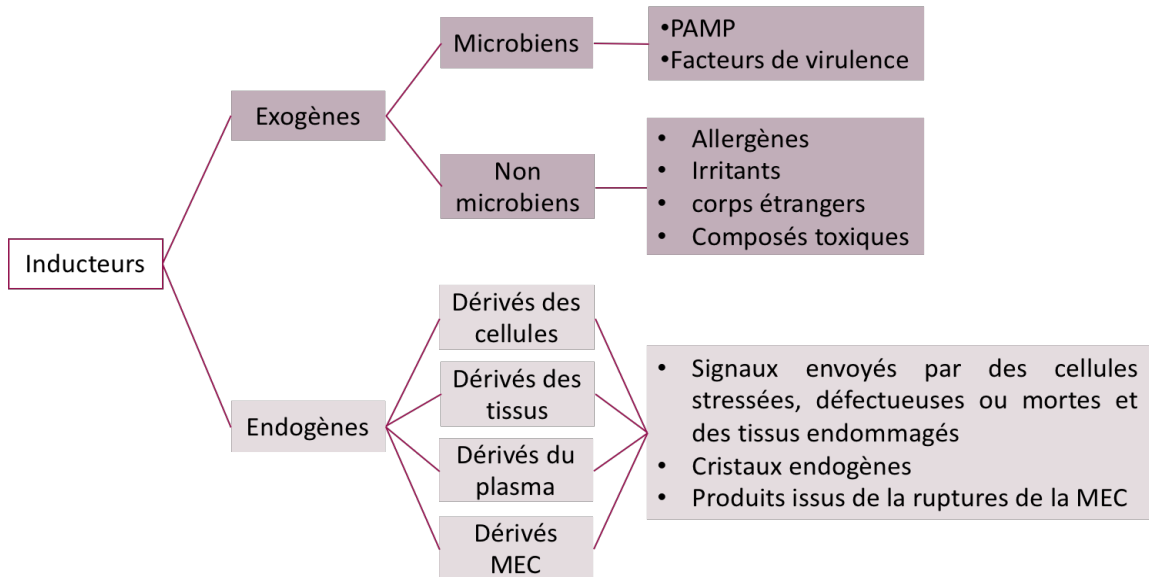


Figure.1.22. Les inducteurs de l'inflammation. **MEC** : matrice extracellulaire [170]

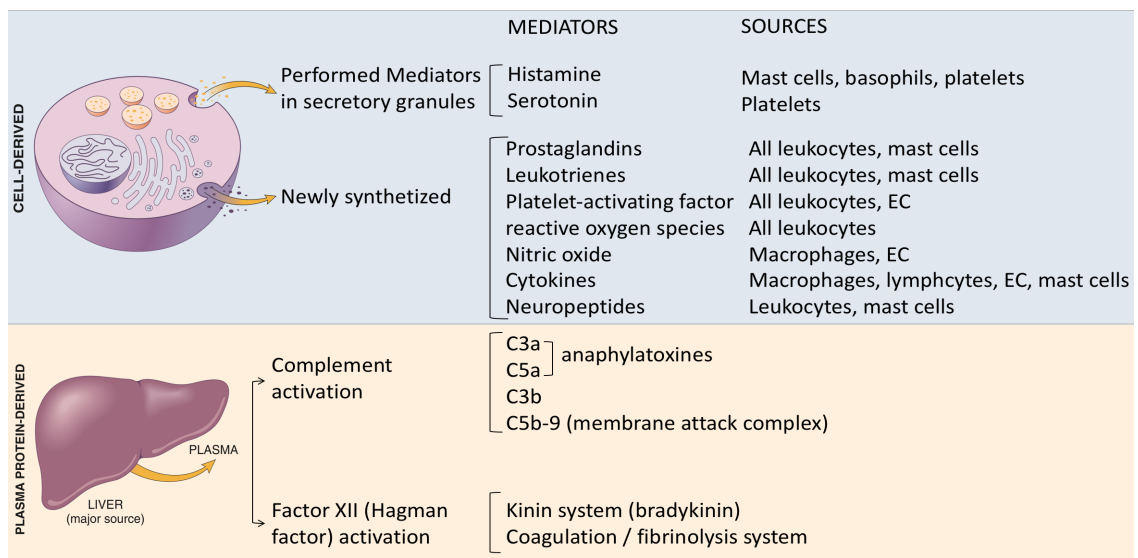


Figure.1.23. Les médiateurs et effecteurs de l'inflammation. **CE**, cellules endothéliales [172]

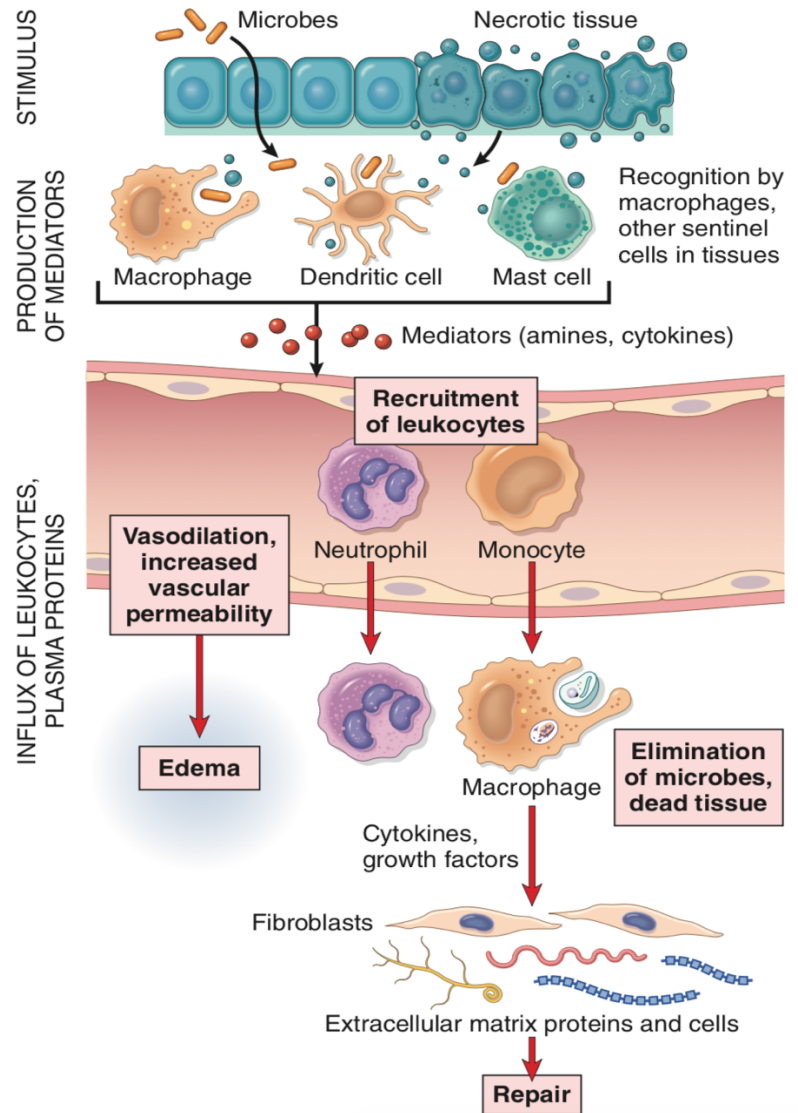


Figure.1.24. Étapes de l'inflammation aiguë [166].

1.6.3.3. Les antiinflammatoires

Ce sont des médicaments utilisés pour soulager les douleurs, la fièvre et l'inflammation [180]. Leurs cibles principales sont les molécules clés dans la physiopathologie de la réaction inflammatoire [167]. Les antiinflammatoires se répartissent en deux classes principales :

- 1- Les antiinflammatoires stéroïdiens (AIS) :** ce sont des substances dérivées du cortisol, principalement le glucocorticoïde (Gc) surrénalien [181]. Ils inhibent particulièrement les événements initiaux d'une réponse inflammatoire et favorisent aussi la résolution de l'inflammation [182].

2- Les antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS) : regroupent les médicaments qui, à faible dose produisent un effet analgésique et antipyrétique et à plus forte dose des effets anti-inflammatoires [183]. Ils agissent principalement comme inhibiteurs des enzymes cyclooxygénase (COX-1 et COX-2) qui interviennent dans la synthèse de la prostaglandine (Prostaglandine E2 (PGE₂) et prostacycline (PGI₂) incriminées dans la douleur, la fièvre et l'inflammation. Les AINS les plus connus sont l'aspirine, le diclofenac, l'ibuprofène et l'indométacine [184] ; [185] ; [186].

Bien que les antiinflammatoires exercent une bonne activité thérapeutique, cependant ils peuvent être responsables de beaucoup d'effets indésirables parfois graves. Les Gc utilisés à long terme peuvent causer une ostéoporose, des maladies métaboliques et maladies cardiovasculaires [187] ; [188] ; [189] ; [190].

Les effets secondaires des AINS sont nombreux. Ils inhibent non seulement la réaction inflammatoire, mais également la production gastrique, plaquettaire et rénale des prostaglandines impliquées dans la cytoprotection gastrique, l'agrégation plaquettaire, l'autorégulation vasculaire rénale et l'induction du travail. Leurs effets indésirables concernent tout particulièrement le tractus gastro-intestinal, mais également le foie, les reins, la rate, le sang et la moelle osseuse [191].

1.6.4. Activité antipyrétique

1.6.4.1. La fièvre et l'hyperthermie

Appelée aussi pyrexie, la fièvre est définie par la Commission de la Physiologie Thermique de l'Union Internationale des Sciences Physiologiques (**CPTUISP**), [192] comme étant « un état de température centrale élevée, qui fait souvent, mais pas nécessairement, partie des réactions de défense des organismes multicellulaires (hôte), à une invasion par une matière vivante (microorganismes) ou inanimée, reconnue comme pathogène ou étrangère par l'hôte ». La fièvre est donc un mécanisme de défense tout à fait naturel, causée par certaines conditions bénignes ou pas, et elle est souvent accompagnée de plusieurs symptômes à savoir, la transpiration, des frissons, une sensation de froid, etc. [193].

En cas de fièvre, l'augmentation de la température centrale est généralement liée à une modification des caractéristiques du thermocontrôleur (thermostat) qui entraîne une élévation du point de consigne hypothalamique [194]. Elle est engendrée par des agents dits pyrogènes. Ces pyrogènes sont d'une origine soit **exogène** (ex. toxine bactérienne) ou bien **endogène**, fabriquées par les cellules de l'organisme comme les cytokines et la prostaglandine [193].

La réaction fébrile est principalement déclenchée suite à la reconnaissance de modèles moléculaires associés à des dommages (DAMP) ou à un agent pathogène (PAMP) par les récepteurs spécifiques, entraînant l'activation des cellules immunitaires innées [195], qui libèrent principalement la cytokine pro inflammatoire l'IL-1, qui active la transcription des gènes codant pour des protéines pyrogènes endogènes telles que, le TNF_{∞} , l'IL-1, l'IL6, INF, la COX-2, PGE_2 etc. (**Figure.1.25**) [196] ; [197].

1.6.4.2. Le contrôle physiologique de la fièvre et les antipyrétiques

L'organisme est doté d'un système central de régulation physiologique qui fait intervenir des médiateurs antipyrétiques ou cryogènes, capables de limiter la hausse de température, afin de se protéger des conséquences potentiellement graves d'une fièvre élevée qui dépasse les 41°C [198] ; [199]. Parmi ces substances, il y a l'arginine vasopressine (hormone stimulatrice des mélanocytes), les glucocorticoïdes [198], l' α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH), La lipocortine-1 (protéine anti-inflammatoire très puissante), les cytokines IL-1 β , IL-10, TNF_{∞} et le cytochrome P-450 [200] ; [201] ; [202] ; [203].

Par contre, dans certains cas, la fièvre peut être très néfaste à cause des complications qu'elle peut engendrer [204], telles que les convulsions fébriles [205], malformations congénitales [204], dommages cérébraux, déshydratation, et parfois même le décès de la personne atteinte [206], d'où la nécessité urgente de faire baisser la température.

Les antipyrétiques sont des médicaments utilisés pour arrêter ou inverser l'augmentation de la température centrale induite par les cytokines de la fièvre. L'action de la plupart d'entre eux repose sur leur capacité à inhiber la COX par compétition avec l'acide arachidonique et par conséquent la production des PGE₂ dans l'hypothalamus [185] ; [191]. Les antipyrétiques les plus utilisés sont l'acétaminophène, l'acide acétylsalicylique, l'ibuprofène et le kétoprofène [207].

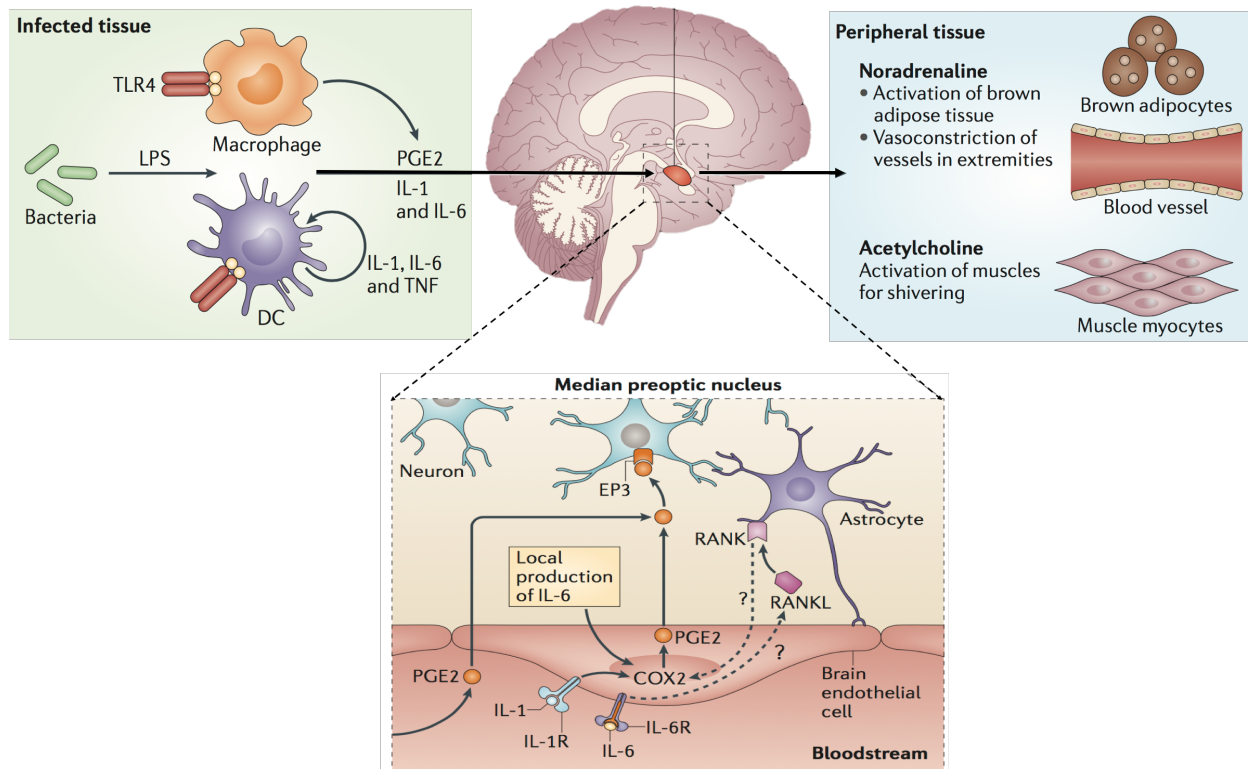


Figure.1.25. Induction de la fièvre durant une infection [195]

1.6.5. Activité antalgique

1.6.5.1. La douleur

La douleur est une perception sensorielle subjective complexe, définie par l'International Association for Study of Pain (IASP), [208] comme étant « une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite en des termes impliquant une telle lésion ». Ceci signifie que la personne atteinte peut présenter des lésions visibles (à l'œil ou après examen médical), des lésions guéries ou bien ne présente pas du tout de lésion (cas de crampe) [209].

Selon la durée d'évolution, la douleur peut être aiguë ou bien chronique.

- a. Douleur aiguë :** C'est une douleur récente qui représente un signal d'alarme important que l'organisme envoie lorsque quelque chose ne va pas. Elle est rencontrée dans une multitude de circonstances telles que, l'accouchement, une intervention chirurgicale, un traumatisme, etc. [209]. Elle est considérée comme une douleur nociceptive, généralement provoquée par une lésion tissulaire, et s'atténue d'elle-même avec la guérison et le repos [210].
- b. Douleur chronique :** C'est une douleur omniprésente qui persiste au-delà de trois mois. Elle est considérée comme une douleur neuropathique, qui peut durer même après guérison des lésions en cause [210]. Ce type de douleur peut avoir des répercussions psychologiques, professionnelles, sociales et familiales, étant donné qu'elle sera la préoccupation essentielle de la personne atteinte [211].

1.6.5.2. Composants du système nociceptif

- a. Les nocicepteurs :** ce sont les terminaisons nerveuses libres non myélinisées de neurones sensoriels. Ils sont présents dans tous les tissus et réagissent aux divers stimuli douloureux, en les décodant et transformant sous forme d'influx nerveux [212] ; [213].
- b. Les fibres nerveuses afférentes :** elles transmettent l'influx nerveux des nocicepteurs vers l'un des centres nerveux (cerveau et moelle épinière) [214].
- c. Système de voies ascendantes ou afférentes :** c'est un faisceau de fibres responsables du traitement de l'information nociceptive et sa propagation centrale vers diverses régions du cerveau (thalamus et cortex) [212].
- d. Système de voies descendantes :** son principal rôle est l'inhibition du signal nociceptif ascendant, en mettant en jeu certains neurotransmetteurs clés tels que la noradrénaline et la sérotonine (5-HT) [215].

1.6.5.3. Les voies de la douleur nociceptive

La douleur nociceptive est en réalité une construction du cerveau. En effet, elle ne se produit pas dans les tissus périphériques lésés, mais c'est le cerveau qui, suite à la réception de signaux afférents issus des nocicepteurs via les fibres neuronales, assemble une sensation de douleur [216].

Le transport de l'information nociceptive de la périphérie vers le SNC implique trois types de neurones. Le premier capte le message nociceptif de la périphérie, le transforme en impulsions électriques, puis le véhicule par le biais de fibres nerveuses vers la moelle épinière où les cellules nerveuses peuvent déjà envoyer à travers les fibres motrices, un message provoquant un réflexe involontaire de retrait face à la source de la douleur. Le second types de neurones prend le relai et transmet les impulsions électriques vers le noyau du thalamus, où aura lieu leur transmission aux neurones du troisième ordre [214] ; [217] qui à leur tour, les conduiront à la fois au cortex pariétal où elles seront décryptées et analysées (localisation, intensité, durée, etc.), et au cortex frontal où sera créé le souvenir de la douleur [218].

En présence de lésion tissulaire ou une inflammation, la sensibilité des nocicepteurs et la perception de la douleur sont augmentées à cause de la libération des médiateurs inflammatoires par le tissu lésé et les cellules du système immunitaire tels que, les bradykinines, les prostaglandines, le TNF, les IL, INF et l'histamine, mais aussi des neurotransmetteurs tels que la sérotonine et l'ATP et bien d'autres substances (**Figure.1.26**) [213] ; [185].

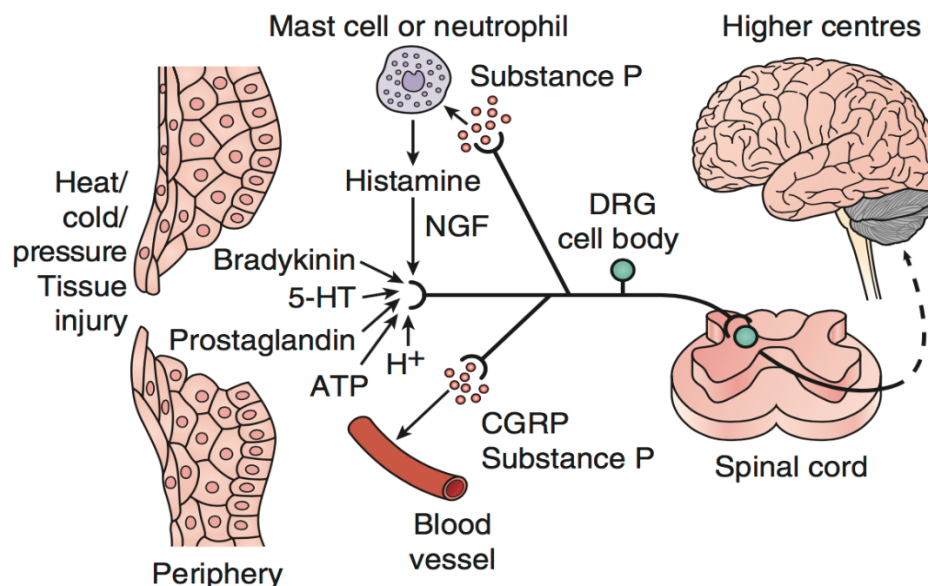


Figure.1.26. Activation nociceptive des neurones. **5-HT**, 5-hydroxytryptamine; **ATP**, adenosine triphosphate; **CGRP**, calcitonin gene-related peptide; **DRG**, dorsal root ganglion; **NGF**, nerve growth factor. (Adaptée de Julius D, Basbaum A I 2001 Nature 413, 203–210 par [191])

1.6.5.4. Inhibition de la douleur nociceptive

1.6.5.4.1. Inhibition endogène

Naturellement, l'organisme est capable d'inhiber la douleur nociceptive en faisant intervenir des peptides opioïdes (opioïdes endogènes) [219] très largement distribués dans le SNC tels que, la bêta-endorphine, les met-enképhaline et leu-enképhaline (encéphalines), les dynorphines et les néoendorphines qui se fixent sur les récepteurs spécifiques aux opiacés, présents sur les terminaisons périphériques des fibres sensorielles [220] ; [221].

1.6.5.4.2. Inhibition exogène par des antalgiques

L'OMS a répartis les antalgiques en trois classes [218] :

- a. Antalgiques de palier 1** : ce sont des antalgiques non morphiniques utilisés pour calmer les douleurs périphériques légères à modérées tel que le paracétamol, l'aspirine et autres AINS.
- b. Antalgiques de palier 2** : ce sont des antalgiques opioïdes (ou morphiniques) faibles, utilisés en cas de douleurs modérées à intenses : codéine, tramadol.
- c. Antalgiques de palier 3** : ce sont des antalgiques opioïdes forts, utilisés pour traiter les douleurs intenses à très intenses sur lesquels les antalgiques du paliers 2 ne fonctionnent plus : Morphine, oxycodone.

1.6.6. Les plantes à activité antiinflammatoires, antalgiques, antipyrétiques

Depuis des siècles, un bon nombre de plantes sont utilisées dans le monde entier pour traiter diverses pathologies. Aujourd'hui leurs composés bioactifs sont de plus en plus investigués pour rechercher de nouvelles molécules avec un effet thérapeutique potentiel et pour développer de nouveaux médicaments avec moins d'effets secondaires. Plusieurs plantes et leurs dérivés sont progressivement utilisés en tant que médicaments complémentaires dans le traitement de l'inflammation, la fièvre, les douleurs, etc., (**Tableau.1.7**) suite aux résultats concluants d'études cliniques et expérimentales [222] ; [223].

Tableau.1.7. Plantes à activité antiinflammatoire, antalgique et antipyrétique

Activité	Plante	Reference
Antiinflammatoire	<i>Curcuma longa</i>	[224] ; [225] ; [226]
	<i>Zingiber officinale</i>	[227] ; [228] ; [229]
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	[230] ; [231]
	<i>Urtica dioica</i>	[232] ; [233]
	<i>Salvia officinalis</i>	[234] ; [235]
	<i>Elaeagnus angustifolia</i>	[236] ; [237]
	<i>Olea europaea</i>	[238] ; [239]
Antipyrétique	<i>L'Hibiscus sabdariffa</i>	[240]
	<i>Curcuma longa</i>	[241]
	<i>Centaurea solstitialis</i>	[242]
	<i>Clematis vitalba</i>	[243]
	<i>Cleome viscosa</i>	[244]
	<i>Diospyros variegata</i>	[245]
	<i>Isatis indigotica</i>	[246]
	<i>Magnolia ovata</i>	[247]
	<i>Ocimum suave</i>	[248]
	<i>Ocimum lamiifolium</i>	
	<i>Salvia africana-lutea</i>	[249]
	<i>Dodonaea angustifolia</i>	
Antalgique	<i>Piper solmsianum</i>	[250]
	<i>Ocimum basilicum</i>	[251]
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	[252]
	<i>Punica granatum</i>	[253]
	<i>Euphorbia heterophylla</i>	[254]
	<i>Salvia africana-lutea</i>	[249]
	<i>Dodonaea angustifolia</i>	

1.6.7. Activité antiulcéreuse

1.6.7.1. Ulcère peptique

Un ulcère est une plaie ouverte sur la surface la peau ou d'une membrane muqueuse résultant d'une dégradation localisée des tissus [255]. L'ulcère peptique désigne un ulcère de la paroi de l'estomac (ulcère gastrique) ou du duodénum (ulcère duodénal), provoqué par l'action digestive du suc gastrique (**Figure.1.27**) [256].

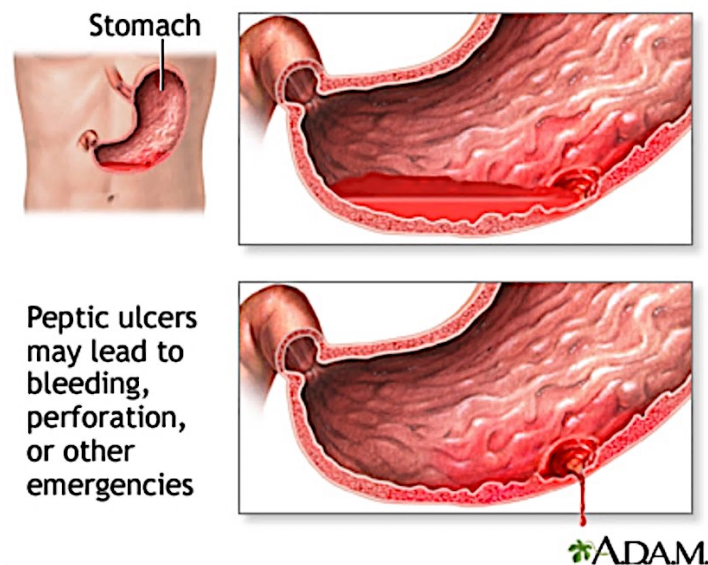


Figure.1.27. Ulcère gastrique [257]

1.6.7.4.1. Les causes d'ulcère gastrique

L'apparition des ulcères résulte probablement d'un déséquilibre entre les facteurs de défense de la muqueuse (bicarbonate, mucine, prostaglandine, oxyde nitrique et facteurs de croissance) et les facteurs agressifs (acide et pepsine, bile et *H. pylori*) [258] ; [259]. Leur formation implique la rupture de la barrière muqueuse et la rupture du tissu sous-jacent due à l'action corrosive de l'acide et de la pepsine, qui dans certains cas provoquent des saignements suite à l'endommagement des vaisseaux sanguins [260].

De nombreux facteurs peuvent contribuer à la formation d'un ulcère tels que,

- 1- Augmentation de l'activité peptique en raison de la sécrétion excessive de pepsine dans le suc gastrique [256].
- 2- Hyperacidité du suc gastrique [256].

- 3- Diminution de la teneur en mucine dans le suc gastrique ou diminution de l'activité protectrice dans l'estomac [256].
- 4- Stress physique ou émotionnel constant [256].
- 5- Alimentation très épicée [256].
- 6- AINS à long terme [258].
- 7- Infections chroniques dues à *Helicobacter pylori* [261].
- 8- Tabagisme [261].
- 9- L'alcool (éthanol) [261].

1.6.7.2. Traitement antiulcéreux

L'ulcère peptique est considéré comme une maladie chronique rémittente et récurrente qui peut durer plusieurs années. Les objectifs de la thérapie antiulcéreuse sont le soulagement de la douleur, la guérison de l'ulcère, la prévention des complications (saignements, perforation) et enfin la prévention des rechutes [259]. Les antiulcéreux agissent par différents modes d'action :

- 1- Réduction de la sécrétion d'acide gastrique :** tel que Les antihistaminiques H2 (Cimétidine, Ranitidine) et les Inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) (oméprazole, Esoméprazole) [259].
- 2- Neutralisation de l'acide gastrique en augmentant le pH (Antiacides),** tel que le bicarbonate de sodium, sodium Citrate, carbonate de calcium [259].
- 3- Protection contre l'ulcère :** sucralfate, sous-citrate de bismuth colloïdal (CBS).
- 4- Antibiotiques Anti-*H. pylori* :** tel que l'amoxicilline [260].

Malgré que la thérapie contre l'ulcère se révèle très efficaces, néanmoins, dans certains cas graves surtout en présence d'hémorragie, seules des procédures opératoires peuvent résoudre le problème [261].

1.6.7.3. Les plantes aux propriétés antiulcéreuses

Beaucoup d'investigations ont été réalisées par de nombreux chercheurs concernant les effets antiulcéreux des d'épices, d'herbes et de plantes médicinales. Il a été démontré qu'un bon nombre d'espèces de plantes médicinales possédaient une bonne activité gastro-protectrice et curative telles que les plantes citées dans le **Tableau.1.8.**

Tableau.1.8. Plantes à activité antiulcéreuse

Plante	Région	Reference
<i>Terminalia fagifolia</i>	Brésil	[262]
<i>Conyza dioscoridis</i>	Egypte	[263]
<i>Euphorbia hirta</i>		
<i>Origanum syriacum</i>		
<i>Salvia lanigera</i>		
<i>Sisymbrium irio</i>		
<i>Solenostemma arghel</i>		
<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	India	[264]
<i>Myrtus communis</i>	India	[265]
<i>Ocimum sanctum.</i>	India	[266]
<i>Laurus nobilis</i>	Turquie	[267]
<i>Melissa officinalis</i>	Egypte	[268]
<i>Pistacia lenticus</i>	Arabie Saoudite	[269]
<i>Solanum nigrum</i>	Egypte	[263]
	India	[270]
<i>Lasianthera africana</i>	Nigeria	[271]
<i>Allophylus serratus</i>	Inde	[272]
<i>Croton campestris</i>	Brésil	[273]

1.7. Monographie d'*Ajuga iva*

1.7.1. Généralités sur la famille des Lamiaceae

Avec un véritable réservoir phytogénétique de 3139 espèces comprenant 314 espèces assez rares, 30 espèces rares, 330 très rares et 600 endémiques, et 64 typiques au Sahara [274], l'Algérie, est l'un des pays méditerranéens connus pour leur richesse en plantes médicinales longtemps utilisées en médecine traditionnelle.

Parmi ces plantes, la famille des Lamiaceae ou Labiatae est considérée comme une importante famille de plantes à fleurs. Avec une de distribution cosmopolite et surtout dans les régions méditerranéennes, elle englobe 4000 espèces réparties dans environ 220 genres [275] ; [276] ; [277].

Les Lamiaceae regroupent des plantes aromatiques annuelles, herbacées, vivaces ou arbustives. La plupart d'entre elles possèdent au niveau de leurs parties aériennes un grand nombre de trichomes, essentiellement des écailles glandulaires qui stockent la grande partie des huiles essentielles [277]. Plusieurs espèces de cette famille sont exploitées et cultivées pour leurs vertus culinaires, aromatiques et médicinales, en particulier leurs huiles essentielles [276] ; [278].

Cette famille a fait l'objet d'intenses investigations phytochimiques dans le but d'isoler ses différents types de composés. Ces études ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les terpénoïdes et stéroïdes [179] ; [280] ; [281], les flavonoïdes [282] ; [283] ; [284], les iridoïdes [285] ; [286] ; [287] ; [288], les composés phénoliques [289] ; [290] ; [291] ; [292] ; [293], et les huiles essentielles [294] ; [295] ; [296] ; [297].

1.7.2. Généralités sur le genre *Ajuga*

Parmi les genres les plus importants de la famille des Lamiaceae (*Lavandula*, *Melissa*, *Mentha*, *Origanum*, *Rosmarinus*, *Thymus*...), se trouve le genre *Ajuga* qui renferme au moins 301 espèces avec de nombreuses variantes. Elles sont persistantes, herbacées, à fleurs annuelles ou vivaces et très répandues sur les quatre continents [298] ; [299] ; [300]. Certaines des espèces sont utilisées

dans les jardins en raison de leurs belles fleurs et d'autres possèdent des usages médicaux divers.

1.7.3. Généralités sur l'espèce *Ajuga iva*

1.7.3.1. Noms communs

Le nom botanique d'*Ajuga* vient du grec : **a** : privatif (sans), et du latin **jugum**, joug : corolle, ce qui signifie corolle dépourvue de lèvre supérieure [301].

Ajuga iva porte plusieurs appellations [302] ; [303]

Arabe : Chendgoura, Meusq el qobour (**Figure.1.28**)

Berbère : Touf et-toulba

Français : Ivette musquée, Bugle



Figure.1.28. Timbre d'Algérie [304]

1.7.3.2. Systématique [305] (**Figure.1. Appendice.B**)

Règne	: Plantae
Embranchement	: Phanérogames (Spermatophytes)
Clade	: Angiospermes
Clade	: Dicotylédones vraies
Clade	: Superasteridées
Clade	: Astéridées
Clade	: Lamidées
Ordre	: Lamiales
Famille	: Lamiaceae
Genre	: <i>Ajuga</i>
Espèce	: <i>Ajuga iva</i> (L) Schreb.

1.7.3.3. Distribution géographique

Ajuga iva est une petite plante qui pousse sur les pentes rocheuses (**Figure.1.29**) et sols profonds, pendant le printemps jusqu'à la fin de l'été, et elle fleurit du mois de Mars au mois d'Octobre. Elle est très répandue dans les régions du Nord-Africain en particulier les pelouses et forêts du Tell algérien, le Maroc, la Tunisie, l'Égypte. Elle pousse aussi dans le sud de l'Europe, Palestine, Maltes, Malaisie, et Hawaii [306] ; [307] ; [300].



Figure.1.29. *A.iva* dans son habitat naturel (MOUHEB, 2015)

1.7.3.4. Description botanique (**Figure.1.30**)

Ajuga iva est une plante aromatique vivace de 5 à 20 cm de hauteur. Elle est ligneuse à la base, velue blanchâtre, et possède une forte odeur de musc et un goût amer. Ses tiges sont vertes, rampantes, rameuses, poilues, très feuillues et florifères dès la base [8] ; [307] ; [308].

Les feuilles sont étroitement oblongues à linéaires, sessiles et pubescentes, de 14 à 35 mm de long, enroulées aux bords, entières ou un peu dentées au sommet (**Figure.1.31**).

Les fleurs sont pourpres, roses, mesurent entre 12 et 20 mm de long et sont disposées par 2 ou 4 par verticille à l'aisselle des feuilles. Le calice velu-laineux, à dents triangulaires, lancéolées, plus courtes que le tube. [8] ; [309] ; [307].

La lèvre supérieure de la corolle est absente ou réduite, et la lèvre inférieure est divisée en trois lobes velus. Les lobes latéraux sont de petite taille et le lobe central est plus grand. La partie centrale du lobe central est de couleur jaunâtre avec des petites taches de la même couleur que la fleur. A l'intérieur de la fleur, il y'a quatre étamines liées à quatre carpelles noirs [309] ; [310].

La plante se perpétue par des bourgeons et les fleurs donnent naissance à des fruits à graines ou akènes. Les graines sont brunes et ont la taille des graines de Nigelle [311] ; [310].

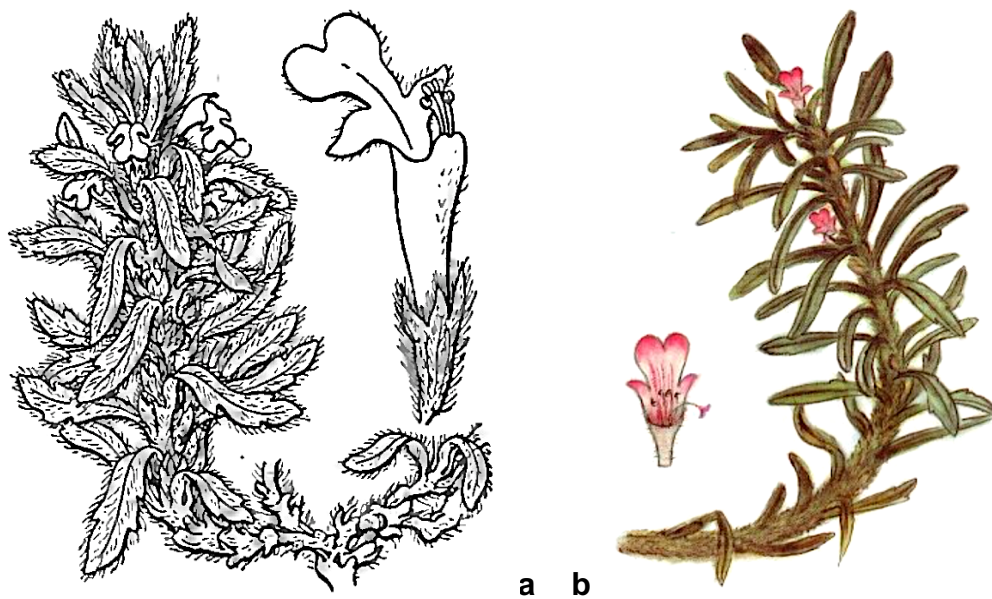


Figure.1.30. *Ajuga iva* selon la littérature : **a)** [312]. **b)** [306]



Figure.1.31. Feuilles d'*A.iva* (MOUHEB, 2015).

1.7.3.5. Composition chimique

Plusieurs études chimiques antérieures avaient montré que la plante est riche en métabolites secondaires à intérêt pharmaceutique et thérapeutique, tels que : les tanins catéchiques, tanins galliques, flavonoïdes, stéroïdes, terpènes, et ecdysones [313].

Plusieurs auteurs ont isolé des ecdysteroides de la plante *Ajuga iva* tel que l'Ecdystérone, 20-hydroxyecdysone, Makisterone A, Cyasterone [314] ; [315] ; [316] ; [317], C-28 Ecdysone-like [318], 24,28-hydromakisterone A, 22-oxocyasterone, 24,25-dehydroprecyasterone [317], 24-Hydroxycyasterone, Ajugastérone B [319], Ajugastérone C [314].

L'équipe de BEN JANNET *et al.*, [320] de Tunisie, ont pu isoler à partir des feuilles d'*Ajuga iva* trois diglycerides « Ivaines A-C » où la molécule glycérol du 1,3-diacyl est acylée symétriquement ou asymétriquement avec l'acide 3-hydroxytetradecanoïc et/ou l'acide 3-hydroxy-hexadecanoïc.

Dans le cadre de la recherche d'agent anti-insectes dans les plantes du genre *Ajuga*, CAMPS *et al.*, [321], ont isolé de l'espèce *Ajuga iva* d'Israël quatre clérodanes diterpénoïdes ; Ivain I, Ivain II, Ivain III, Ivain IV.

BENNAGHMOUCH *et al.* [322], ont isolé des parties aériennes d'*Ajuga iva* du Maroc plusieurs flavonoïdes notamment la quercétine, la lutéoline, le chrysoériol, l'apigénine, la naringénine, le 5,5'- dihydroxy 7,4'-diméthoxyflavone et le 5,7-dihydroxy 4',5'diméthoxyflavone. En plus des flavonoïdes cités, GHEDIRA *et al.*, [323] ont isolé la Naringine et l'Apigénine 7-O néohespéridoside.

Des iridoïdes (Harpagide ; 6-désoxyharpagide ; 8-O-acétylharpagide) ont pu être isolés aussi par ASSAAD *et al.*, [324].

1.7.3.6. Activités biologiques et pharmacologique d'*Ajuga iva*

Ajuga iva est une plante utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter diverses pathologies. Ses parties aériennes sont consommées sous forme de poudre dans du miel, sous forme d'infusion, ou en décoction à raison de 20 g par litre d'eau. [306] ; [302].

Malgré qu'elle fasse partie des espèces médicinales négligées et/ou sous utilisées (**Tableau.1.10**) [325], *Ajuga iva* est considérée comme une vraie panacée vu son large spectre d'activités biologiques et pharmacologiques qu'ont montrées plusieurs études (**Tableau.1.9**).

Tableau.1.9. Activités biologiques et pharmacologiques d'*A.iva*

Activité	Région	Références
Antimicrobienne	Algérie	[326] ; [327]
	Tunisie	[328] ; [329]
Antioxydante	Algérie	[330] ; [331] ; [332] ; [333] ; [334]
	Tunisie	[335] ; [336] ; [328] ; [329]
Hypoglycémique	Maroc	[337] ; [338] ; [339]
	Algérie	[336]
Antirhumatismale	Liban	[340]
Diurétique	Algérie	[341]
Hépatoprotectrice	Libye	[342]
Hypolipidémique (Hypocholestérolémiant)	Maroc	[338] ; [339]
	Algérie	[332] ; [331] [334] ; [343] [344] ; [330]
Vasodilatatrice	Maroc	[345]; [346]
Sédative		
Anti-inflammatoire Antiulcéreuse	Tunisie	[347]
Anti-Urolithiase	Algérie	[348]
Antiappétant (larves et insectes)	Italie (espèce algérienne)	[349]
	Espagne	[350] ; [351]
	Maroc	[352]
Insecticide	Maroc	[353] ; [354]
	Israël	[316]

Tableau.1.10. Espèces médicinales négligées et/ou sous utilisées [325]

Espèces Médicinales	
<i>Ajuga iva</i> L. (Ivette)	<i>Inula viscosa</i> (Inule visqueuse)
<i>Ammi majus</i> et <i>A. visnaga</i> (Ammi)	<i>Marrubium album</i> L. (Marrube)
<i>Atropa belladonna</i> (Belladone)	<i>Myrtus communis</i> (Myrte)
<i>Ceratonia siliqua</i> (Caroubier)	<i>Origanum majorana</i> L.(Marjolaine)
<i>Colchicum autumnale</i> (Colchique d'Automne)	<i>Peganum harmala</i> (Harmal)
<i>Coloquinthis vulgaris</i> (Coloquinte)	<i>Ruta montana</i> (Rute)
<i>Crataegus</i> sp. (Aubépine)	<i>Salvia officinalis</i> (Sauge)
<i>Datura stramonium</i> (Datura)	<i>Sapophora japonica</i>
<i>Globularia alypum</i> L. (Globulaire)	<i>Silybum marianum</i> (Chardon Marie)
<i>Hyoscyamus</i> sp. (Jusquiame noire)	<i>Trigonella fenum-graecum</i> (Holba)

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

2.1. MATERIEL

2.1.1. Présentation de la zone d'étude

La Wilaya de Tizi Ouzou se situe au nord de l'Algérie en plein cœur du massif du Djurdjura ($36^{\circ} 43' 00''$ N, $4^{\circ} 03' 00''$ E). Elle est délimitée au Nord par la mer méditerranée ; au Sud par la Wilaya de Bouira ; à l'Est par la Wilaya de Bejaia et à l'Ouest par la Wilaya de Boumerdes (**Figure.2.1**) [355]. La région est caractérisée par un climat méditerranéen, avec des hivers doux et humides et des étés chauds et secs [356]. Les précipitations varient d'une année à une autre avec une pluviométrie moyenne variant entre 600 et 1000 mm d'eau par an. Sa couverture forestière s'étale sur 112.000 ha, soit 38% de la superficie totale (293.116 ha) et elle est répartie en 48.000 ha de forêts et 64.000 ha de maquis. Une partie de ces forêts (10.000 ha) est intégrée aux 18.000 ha du Parc National du Djurdjura qui fait partie du Patrimoine Mondial de la Biodiversité (Faune et Flore) [357].

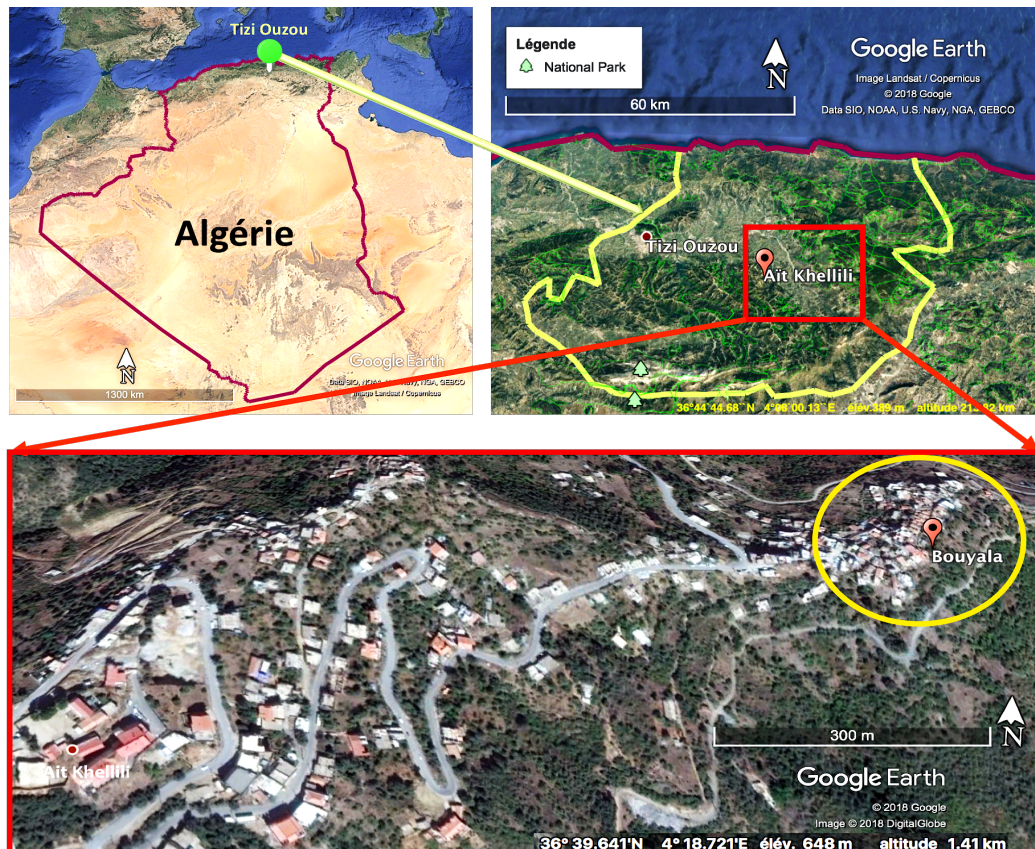


Figure.2.1 Situation géographique du site de récolte (Originale, 2018).

2.1.2. Matériel Biologique

2.1.2.1. Matériel végétal

La sélection de la plante étudiée s'est basée sur plusieurs critères, à savoir ses divers usages en Algérie, les données de la littérature concernant son potentiel thérapeutique, mais aussi, parce qu'elle est considérée comme une plante médicinale négligée et espèce sous utilisée.

Ajuga iva (L.) est récoltée entre le mois d'Avril et le mois de Juillet de l'année 2015 dans le village de Bouyala de la commune Ait Khellili, Wilaya de Tizi-Ouzou. Une partie de la récolte encore fraîche est utilisée pour l'étude botanique ainsi que la détermination de la teneur en eau ; le reste est nettoyé, séché pendant au moins 4 semaines à l'air libre, dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et à température ambiante (20-25°C), jusqu'à stabilisation de la masse. Après séchage, la plante est conservée dans des cartons propres toujours dans les mêmes conditions (**Figure.2.2**).



Figure.2.2. Récolte (a) et stockage (b) de la plante. (Originale, 2015)

2.1.2.2. Matériel animal

Des rats albinos de souche WISTAR (**Figure.1.a. Appendice.C**) et des Souris blanches de souche NMRI (**Figure.1.b. Appendice.C**) achetés de l'Institut Pasteur d'Algérie (Centre d'élevage, Kouba, Alger) ont été acclimatés aux conditions de l'animalerie pendant au moins une semaine. Les animaux ont été alimentés *ad libitum* avec de l'eau et un régime à base de granulés fournis par l'Office Nationale de l'Alimentation du Bétail de Bejaia (**ONAB**), dont la composition est citée dans le **Tableau.1. Appendice.C**.

Les animaux sont élevés dans des conditions d'élevage adéquates, une température moyenne égale à $23\pm 3^{\circ}\text{C}$, une humidité relative de $72\pm 5\%$ et une photopériode de 12/24 heures.

2.1.2.3. Matériel microbiologique

Les souches microbiennes utilisées (Tableau.2.1) sont fournies par le laboratoire de contrôle de qualité de SAIDAL BIOTIC, Gué de Constantine (Alger). Le kit (EZ-CFU™ Microorganisms, Microbiologics, Inc, USA) provient de l'Institut Pasteur Paris (France) et contient la souche microbienne lyophilisée sous forme de pastilles et une solution pour sa reconstitution (**Figure.2. Appendice.C**).

Tableau.2.1. Les souches utilisées dans l'activité antimicrobienne

Souches microbiennes		Espèces	Reference (ATCC)
Bactéries	Gram -	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella spp</i>	8739 9027 14028
	Gram +	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	6633 6538
Champignons	Moisissure	<i>Aspergillus niger</i>	16404
	Levure	<i>Candida albicans</i>	10231

2.1.3. Matériel non biologique (**Appendice E, F, et G**)

2.2. Méthodes de travail

2.2.1. Enquête ethnobotanique

L'enquête ethnobotanique est réalisée sur une période de deux ans (2014-2015), en utilisant une fiche questionnaire modifiée en deux langues (**Figure.1. et 2. Appendice.D**) [12]. La fiche inclue des renseignements personnels du participant ainsi que des renseignements concernant ses connaissances en plantes médicinales. Les participants à cette enquête sont de toute la région de Tizi Ouzou et non pas de la région de récolte uniquement.

La détermination du nom scientifique et du nom vernaculaire (arabe et français), ainsi que la systématique botanique des plantes recensées est réalisée à l'aide de la littérature, notamment le livre :

- Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales de QUÉZEL and SANTA [8],
- Index synonymique, Flore d'Afrique du Nord de DOBIGNARD et CHATELAIN [359],
- Plantes médicinales d'Algérie de BELOUED, [302],
- Glossaire Méthodique de la Langue Kabyle de SI-SAID, [360].

Les données recueillies sont traitées à l'aide du tableur Excel (Microsoft Excel pour Mac®. v.16.16.1 (2018)).

2.2.2. Identification botanique de la plante

L'identification d'*Ajuga iva* est réalisée au niveau de l'herbier du département de botanique de l'École Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA) d'El Harrach.

2.2.2.1. Aspect macroscopique

Dans cette étape, les différentes parties de la plante sont observées à l'œil nu et/ou sous une loupe binoculaire. Les organes observés sont : la fleur (la taille, le nombre de pétales, sépales, étamines, etc.), la feuille (la taille, la forme et la position

par rapport à la tige, présence ou non de poils épidermiques) et la Tige (la taille, la forme, présence ou non de poils épidermiques).

2.2.2.2. Aspect microscopique

Consiste à observer les tissus qui composent la tige et les feuilles de la plante à l'état frais et colorées, afin de localiser des structures particulières et les tissus sécréteurs.

Des coupes transversales fines sont réalisées à l'aide d'une lame de bistouri et déposées dans de l'eau avant coloration.

La méthode de coloration suivie est celle décrite par PRAT, [401], avec quelques modifications. Elle consiste à faire plonger les coupes végétales dans différents traitements successifs avec des rinçages à l'eau entre chaque traitement : hypochlorite de sodium à 12° (10-15 min), eau (5 à 10 min), acide acétique à 10% (1 à 2 min), eau (5 à 10 min), vert de méthyle (15 à 20 min), eau (5 à 10 min), rouge Congo (15 à 20 min). Les coupes sont par la suite rincées et montées entre lame et lamelle pour une observation au microscope optique (**Figure.2.3**).

Les tissus avec des parois cellulosiques apparaissent en rouge et les tissus avec des parois lignifiées et subérifiées apparaissent en vert.

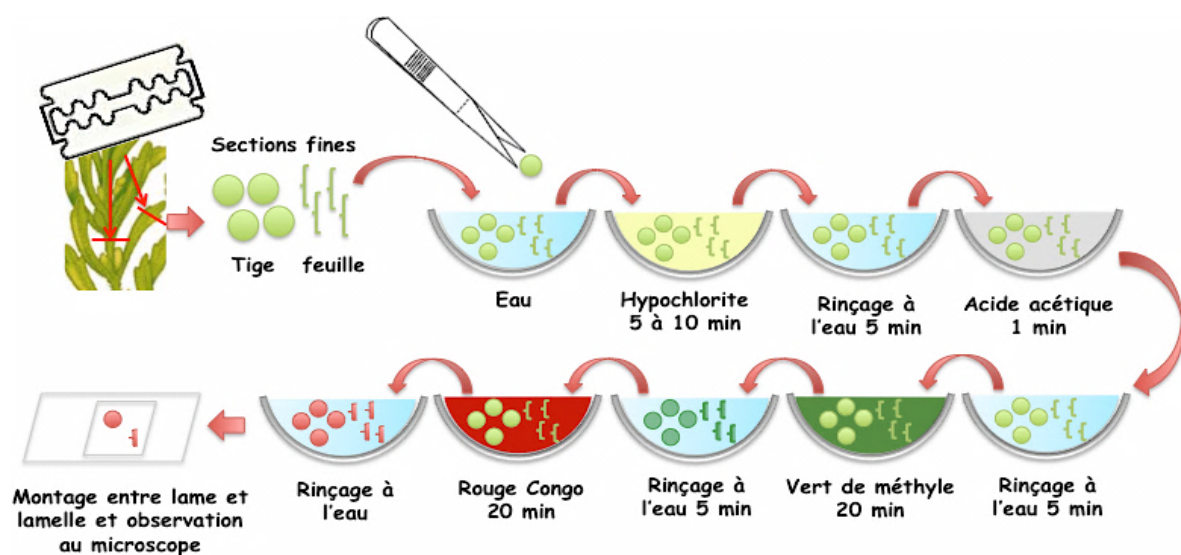


Figure.2.3. Représentation schématique de la double coloration.

2.2.3. Étude phytochimique d'*A.iva*

2.2.3.1. Teneur en eau par la méthode pondérale

La teneur en eau d'*Ajuga iva* est déterminée selon la méthode suivie par ZERRAD et *al.*, [362]. Plusieurs échantillons de poids connu sont placés dans une étuve ventilée réglée à 75°C et sont pesés chaque 24 heures jusqu'à stabilisation du poids sec. La teneur en eau (TE) de chaque échantillon est rapportée à 100g par la formule suivante :

$$TE = \frac{P1 - P2}{P1} \times 100 (\% / \text{g poids frais})$$

P1 : poids frais

P2 : poids sec

2.2.3.2. Teneur en cendres totales

La minéralisation consiste à détruire la matière organique de la poudre végétale et à la calciner jusqu'à obtention de cendres blanches. Elle est réalisée selon la méthode décrite dans le document ISO-1575, [363].

De la poudre végétale de poids connu (5g) est calcinée dans un four à moufle à 525°C, pour au moins quatre heures. Les cendres obtenues sont pesées et la teneur en cendres totales (TCT) est rapportée à 100 g par l'équation suivante :

$$TCT = \frac{M2}{M1} \times 100 (\% / \text{g poids frais})$$

M1 : Masse de la poudre de plante avant calcination.

M2 : Masse des cendres obtenues.

2.2.3.3. Dosage des ions par chromatographie ionique

Le dosage des ions est réalisé à partir d'une solution aqueuse de cendres végétales à raison de 100 mg/l d'eau distillée. La solution obtenue est analysée qualitativement et quantitativement par chromatographie ionique.

La chromatographie ionique est réalisée sur un chromatographe de marque DIONEX modèle ICS 3000. Avant l'injection dans la colonne, tous les circuits sont rincés avec l'échantillon.

Pour l'analyse des cations, la colonne échangeuse de cations utilisée est une Thermo Scientific™ Dionex™ IonPac™ CS12. Les ions sont élués par l'Acide méthanosulfonique (MSA) généré par un système automatique EG (Eluent Generator) avec un débit de 1 mL/min en mode isocratique. La concentration du MSA est à 20 mM et la boucle d'échantillonnage est de 10 µL. L'instrument est équipé d'un système de suppression type CSRS (Cation Self Regenerating Suppressor) permettant d'éliminer les ions de l'éluant avant la détection.

Pour la séparation des anions, la colonne utilisée est une Thermo Scientific™ Dionex™ AS19 échangeuse d'anions. L'analyse est effectuée avec un éluant de potasse (KOH) à 30 mM en mode gradient, avec un débit de 1 ml/min et une boucle d'échantillonnage de 10 µL. L'éluant est éliminé par un supprimeur de type ASRS (Anion Self Regenerating Suppressor).

Le signal des ions est capté par un détecteur de type conductimètre.

Les caractéristiques techniques de la chromatographie sont résumées dans le **Tableau.2.2.** et le **Tableau.2.3.**

Tableau.2.2. Caractéristiques techniques IC-Cations

Éluant	Acide méthylsulfonique
Débit	1 ml/min
Température	35°C
Colonne	Ion PAC CS12 (4x 250 nm)
Détecteur	CD25
Supprimeur	CSRS 4mm
Espèces analysées	Lithium, Sodium, Ammonium, Potassium, Magnésium, Calcium

Tableau.2.3. Caractéristiques techniques IC-Anions

Système	Chromatographie ionique / ANIONS
Éluant	Hydroxyde de Potassium
Débit	1 ml/min
Température	35°C
Colonne	Ion PAC AS19 (4x 250 nm)
Détecteur	CD25
Suppresseur	ASRS 4mm
Espèces analysées	Fluorure, chlorure, nitrites, bromure, nitrate, sulfate

Pour chacune des séquences d'analyse, une gamme d'étalonnage externe est réalisée pour la quantification des ions détectés dans les mêmes conditions que l'échantillon (**Figure.6. et 7. Appendice.I**).

2.2.3.4. Screening phytochimique préliminaire

Afin de mieux comprendre les activités biologiques et pharmacologiques d'une plante médicinale, il est nécessaire d'effectuer des tests préliminaires pour identifier les grandes classes de métabolites qui la composent.

Un criblage phytochimique préliminaire consiste à rechercher les phytoconstituants dans un extrait végétal par des tests standards simples et rapides [364]. Leur présence se traduit par différentes réactions en présence de réactifs spécifiques, soit par la formation d'un précipité, le changement de coloration du milieu réactionnel, ou bien une fluorescence... etc.

2.2.3.4.1. Les polyphénols

a. Les tanins [365].

- Tanins catéchiques (condensés ou proanthocyanidines)

A 3 ml d'extrait aqueux sont ajoutés 1,5 ml du réactif de Stiasny, le tout chauffé au bain marie 15 min à 90°C. Un précipité à gros flocons indique la présence de tanins catéchiques.

- Tanins galliques (hydrolysables)

La solution précédente est filtrée et saturée à l'acétate de sodium. 0,1 ml de chlorure de fer dilué à 1% est ajouté. Coloration bleue noirâtre intense indique la présence de tanins galliques.

b. Les flavonoïdes

A 5 ml d'extrait aqueux sont ajoutés 5 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) à 10% et 5 ml d'ammoniaque (NH_4OH) à 50%. Accentuation de la coloration ou virage au bleu violacé indique la présence d'anthocyanes et une coloration moins intense la présence d'hétérosides flavoniques [21].

- Réaction à la cyanidine

Ajouter à 5 ml d'extrait aqueux, 1 ml d'alcool isoamylique, quelques copeaux de magnésium et 5 ml d'HCl à 50% (dans de l'éthanol). Une couleur rose orangée indique la présence de flavones, et une couleur rose violacée la présence de flavanones [21].

La même réaction est répétée avec 5 ml d'extrait aqueux, mais sans ajout de copeaux de magnésium. Une couleur rouge immédiate indique la présence de chalcones et aurones [366].

La même réaction avec 5 ml d'extrait aqueux sans copeaux de magnésium, mais avec un chauffage au bain marie ($100^\circ C$) pendant 15 min. Une couleur cramoisie indique la présence de Leucoanthocyanes (Flavonols, Flavanonols) et une couleur rouge brunâtre la présence du Catéchol [21].

c. Les coumarines : Fluorescence à la lampe UV

Dans un bécher recouvert d'un papier filtre imbibé de NaOH dilué à 25%, 1 g de poudre végétale avec quelques gouttes d'eau sont portés à ébullition dans un bain marie ($100^\circ C$) pendant quelques minutes. Le papier filtre est ensuite examiné sous lampe UV. L'apparition d'une fluorescence jaune-verdâtre révèle la présence des coumarines [21].

2.2.3.4.2. Les stérols et terpénoïdes : Test de Salkowski

a. Les terpénoïdes

A 2 ml d'extrait aqueux sont ajoutés 2 ml de chloroforme puis 3 ml d'acide sulfurique concentré délicatement sur la paroi du tube sans agiter. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux solutions confirme la présence des terpénoïdes [367].

b. Les stérols

A 0,5 g d'extrait sec sont ajoutés 2 ml de chloroforme puis 2 ml d' H_2SO_4 concentré, et le tout est secoué vigoureusement. Une coloration rouge de la phase chloroformique et la coloration vert-jaune de la phase acide confirme la présence des Stérols [367].

c. Les huiles volatiles

Le résidu de 20 ml d'extrait étheré évaporé à sec est dissout dans 3 ml d'éthanol et est concentré à sec une seconde fois. Obtention d'un résidu arôme révèle la présence d'huiles volatiles [368].

d. Les Saponines : test de mousse

0,5 g d'extrait sec est dissous dans 5 ml d'eau distillée dans un tube à essai. La solution est secouée vigoureusement pendant 15 secondes. Une mousse supérieure à 1 cm qui persiste 15 min confirme la présence de saponines [369].

Le test est réalisé avec plusieurs concentrations.

e. Les Iridoïdes

1 ml d'HCL concentré est ajouté à quelques milligrammes d'extrait sec, le tout est chauffé dans un bain marie à 100°C. L'obtention d'un précipité noir indique la présence [365].

2.2.3.4.3. Les Composés Réducteurs : test de Fehling

0,5 mg d'extrait aqueux sec est dissout dans 5 ml d'eau distillée auquel est ajouté le réactif de Fehling bouillant. Obtention d'un précipité rouge-brique indique la présence de composés réducteurs [370].

2.2.3.4.4. Les Mucilages

5 ml d'éthanol absolu sont ajoutés à 5 ml d'extrait aqueux. L'obtention d'un précipité floconneux indique la présence de mucilages [371].

2.2.3.4.5. Les Alcaloïdes : Test de Dragendorff

Faire macérer pendant 24 h, 2 g de poudre de plante dans 15 ml d'eau distillée. Quelques gouttes du réactif Dragendorff sont ajoutées au macérât filtré. Un précipité orange brunâtre indique la présence d'alcaloïdes [370].

2.2.3.4.6. Anthracènes libres (quinines)

Au résidu de 20 ml d'extrait étheré, sont ajoutés quelques gouttes de NaOH dilué (1/10). Une coloration de la phase aqueuse en jaune, rouge ou violet indique la présence de quinones libres [372].

2.2.3.4.7. Les Anthraquinones (glycosides) : Test de Bornträger

50 mg d'extrait sec sont hydrolysés avec de l'HCl pendant 2h au bain marie à 100°C. La solution est filtrée pour obtenir un hydrolysât. Du chloroforme est ajouté à l'hydrolysât à volume égal et le tout est secoué. La partie inférieure chloroformique est prélevée et mélangée avec la moitié de son volume en solution d'ammoniaque à 10%. Une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'antraquinones [364].

2.2.3.5. Étude des principes actifs d'*A.iva*

Afin de caractériser et doser les différents principes actifs d'*A.iva*, les extraits enrichis en composés volatils et/ou non volatils de la plante sont obtenus par extraction de type solide/liquide continue, c'est à dire en immergeant le matériel végétal pulvérisé dans le solvant d'extraction adéquat plusieurs minutes voire plusieurs heures. Les méthodes d'extraction utilisées lors de ce travail sont : l'hydrodistillation pour les huiles essentielles et l'extraction au Soxhlet et la décoction pour les extraits polaires et apolaire.

2.2.3.5.1. Étude des composés volatils

2.2.3.5.1.1. Extraction de l'HE d'*A.iva*

L'HE d'*Ajuga iva* récoltée au mois d'avril est extraite par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif à circuit fermé de type Clevenger (**Figure.1. Appendice.I**) [373], selon la méthode suivie par RAO et *al.*, [374] avec quelques modifications.

Au total 3 kg de matériel végétal sec est hydrodistillé pendant 3 à 4 heures pour chaque extraction (100 g par extraction), afin collecter le maximum d'HE. L'HE est récupérée par séparation liquide-liquide en utilisant un solvant organique, filtrée sur du sulfate de sodium anhydre pour éliminer toute trace d'eau, pesée et ensuite stockée à +4°C dans un flacon opaque et hermétique.

L'indice de réfraction ainsi que les différentes caractéristiques organoleptiques dont l'aspect, la couleur et l'odeur de l'HE obtenue sont notées.

Le rendement en HE (R_{HE}) est calculé selon la formule suivante [375] :

$$R_{HE} = \frac{M_H}{M_P} \times 100 (\%)$$

M_H : Masse de l'huile essentielle en g.

M_P : Masse de la plante traitée en g.

2.2.3.5.1.2. Analyse de l'HE par GC-MS

L'analyse de l'HE d'*A.iva* est réalisée selon la méthode décrite par EL-HAWARY et *al.*, [342]. Elle est effectuée en mode d'ionisation par impact électronique sur un système GC-MS Perkin Elmer (USA), modèle CLARUS 500 GC couplé à un détecteur spectrométrie de masse TurboMass™.

La séparation chromatographique est faite dans une colonne en silice fondue (30 m, i.d. 0.25 mm, épaisseur du film 0.25 µm) remplie d'une phase stationnaire réticulée HP-5MS (5% phenyl, 95% dimethylpolysiloxane, Hewlett Packard, USA). La température initiale est de 80°C, maintenue pendant 3 min, puis augmentée à une température finale de 260°C à raison de 8°C/min qui maintenue par la suite durant 15 min. La température de la source d'ionisation est de 230°C, et celle de l'analyseur quadripôle est de 150°C. l'hélium pure est utilisé comme gaz vecteur et est réglé à un débit de 0.1 ml/min. L'énergie d'ionisation est de 70 eV, et la plage de balayage est entre 40 et 500 *m/z*. Le volume d'échantillon injecté est de 3µL.

Les molécules qui composent l'huile essentielle sont identifiées par le biais de différentes bibliothèques spectrales : NIST, PFLEGER, NBS, WILEY9.

2.2.3.5.2. Étude des composés non volatils

2.2.3.5.2.1. Extraction des extraits polaires et l'extrait apolaire

Les composés polaires et apolaires sont extraits à partir de la plante récoltée au mois de juin.

A. Décoction aqueuse

Une décoction aqueuse à 10 % est préparée en faisant bouillir 100 g de poudre de plante dans 1L d'eau distillée pendant 30 min dans un bain-marie (100°C). Le décocté (**Figure.3. Appendice.I**) est filtré sur du tissu mousseline et sur du papier filtre n°1, puis congelé à - 20°C avant de le soumettre à une lyophilisation. La lyophilisation de l'extrait est réalisée avec un lyophilisateur de marque CHRIST ALPHA 2-4 LSCplus (**Figure.5. Appendice.I**).

B. Extraction au Soxhlet

B.1. Extraction par solvant apolaire

25 g de poudre de plante placés dans une cartouche en cellulose, sont extraits avec 300 ml d'éther de pétrole portés à ébullition dans un Soxhlet (**Figure.2. Appendice.I**). L'extraction est maintenue jusqu'à éclaircissement du solvant dans le siphon. L'extrait étheré sec est récupéré après évaporation du solvant par un évaporateur rotatif sous vide (**Figure.4. Appendice.I**).

B.2. Extraction par solvant polaire

Le marc de la précédente extraction est séché et réintroduit dans une autre cartouche en cellulose et placé dans le Soxhlet. L'extraction est réalisée avec 300 ml d'éthanol absolu en ébullition. Le solvant est ensuite évaporé dans l'évaporateur rotatif afin d'obtenir l'extrait éthanolique sec (**Figure.5. Appendice.I**).

Toutes les extractions sont réalisées en triplicata et les extraits secs obtenus sont pesés pour déterminer le rendement selon l'équation ci-dessous puis sont conservés à - 20°C jusqu'à utilisation.

$$R = \frac{M_{\text{ext}}}{M_{\text{éch}}} \times 100 (\%)$$

M_{ext} : masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

M_{éch} : masse de l'échantillon végétal de départ en g.

2.2.3.5.2.2. Dosage des principes actifs

A. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans des extraits végétaux est une étape primordiale, vu que la majorité des propriétés biologiques et pharmacologiques des plantes leurs sont attribuées. C'est une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du réactif Folin-Ciocalteu, constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) de couleur jaune, qui devient bleu lorsqu'il est réduit par les polyphénols oxydés, en oxyde de tungstène et de molybdène (**Figure.2.4**).

L'intensité de la couleur bleue est proportionnelle à la quantité des polyphénols dans l'extrait et possède une absorption maximale entre 755 et 770 nm.

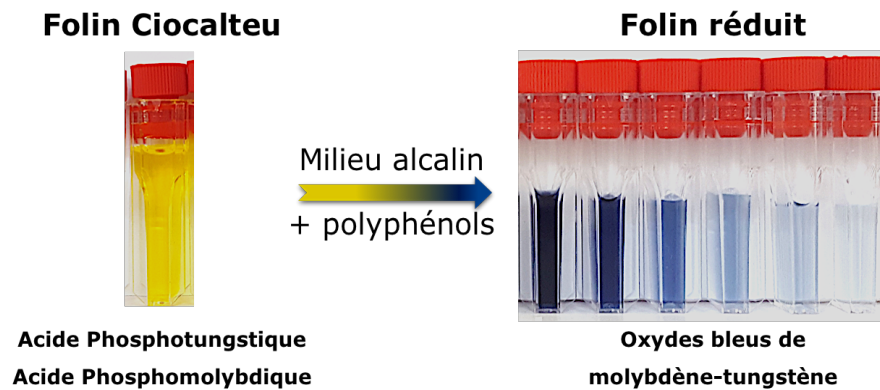


Figure.2.4. Réduction du réactif Folin-Ciocalteu (**Originale, 2018**).

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits d'*A.iva* (aqueux, étheré, éthanolique) est réalisé selon la méthode de FOLIN et CIOCALTEU, [376] décrite par WONG et *al.*, [377]. 200 μ l d'extrait (1:10) sont mélangés avec 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu (1:10). Après 4 min d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité, 800 μ l de carbonate de sodium à 75 g/l (m/v) sont ajoutés. L'ensemble est bien mélangé puis incubé 2h à température ambiante et à l'abri de la lumière.

L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc en utilisant un spectrophotomètre à double faisceau.

La concentration en polyphénols totaux dans l'extrait en solution est déduite à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique, dosé dans les mêmes conditions que les extraits et elle est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par L d'extrait (mg EAG/L ext).

B. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), qui est basée sur la formation d'un complexe chromogène flavonoïdes-aluminium de couleur jaune, dont l'absorbance maximale est à 415 nm.

Le dosage des flavonoïdes totaux est réalisé selon la méthode décrite par FORMAGIO et *al.*, [378]. 500 µl de chaque extrait sont mélangés à 1,5 ml d'éthanol à 95 %. Par la suite sont ajoutés 100 µl de AlCl₃ à 10%, 100 µl d'acétate de sodium à 1M et 2,8 ml d'eau distillée. Le tout est agité et incubé 40 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 415 nm contre un blanc en utilisant un spectrophotomètre à double faisceau.

La concentration en flavonoïdes totaux dans l'extrait en solution est déduite à partir d'une courbe d'étalonnage, établie avec la quercétine dosée dans les mêmes conditions que les extraits, et elle est exprimée en milligrammes équivalent quercétine par L d'extrait (mg EQ/L ext).

C. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés se base sur le même principe que celui du dosage des polyphénols totaux en utilisant le réactif Folin-Denis, qui vire du jaune au bleu suite à la réduction de l'acide phosphomolybdique et tungstique en milieu alcalin, en oxyde de tungstène et de molybdène en présence de tanins condensés.

Le dosage est réalisé selon la méthode décrite par SAXENA et *al.*, [379]. A 1 ml d'extrait sont ajoutés 75 ml d'eau distillée ; 5 ml du réactif Folin Denis ; 10 ml d'une solution saturée de carbonate de sodium. Le volume est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Le mélange est incubé 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 700 nm contre un blanc en utilisant un spectrophotomètre à double faisceau.

La concentration en tanins condensés dans l'extrait en solution est déduite à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide tannique, dosé dans les mêmes conditions que les extraits, et elle exprimée en milligrammes équivalent acide tannique par L d'extrait (mg EAT/L ext).

La teneur en polyphénols totaux en mg EAG/g, en flavonoïdes totaux en mg EQ/g et en tanins condensés en mg EAT/g d'extrait sec est calculée selon l'équation suivante :

$$TP = \frac{C \times V}{m \times d} \quad (\text{mg EAG/g d'extrait de plante})$$

TP : Teneur en Polyphénols (mg EAG/g d'extrait de plante)

C : Concentration de l'extrait (mg EAG/L d'extrait)

V : Volume de l'extrait utilisé dans la réaction (L)

m : Masse de l'extrait utilisée pour préparer la solution à doser (g)

d : Coefficient de dilution

2.2.3.5.2.3. Analyse de l'extrait apolaire par GC-MS

L'analyse de l'extrait étheré est effectuée en mode d'ionisation par impact électronique (EI) sur le chromatographe MASTER GC DANI (DANI Instruments, Inc, Italie) couplé à un détecteur spectrométrie de masse TOFMS de la même marque.

La séparation est faite dans une colonne en silice fondue (30 m, i.d. 0.25 mm, épaisseur du film 0.25 µm) remplie d'une phase stationnaire réticulée HP-5MS (5% phenyl, 95% dimethylpolysiloxane, Hewlett Packard, USA). La température initiale est réglée à 60°C pendant 8 min, puis augmentée à une température finale de 240°C à raison de 2°C/min qui est maintenue pendant 20 min. La température de la source d'ionisation est de 230°C, et celle de l'analyseur TOF est de 200°C. l'hélium pure est utilisé comme gaz vecteur à un débit de 0.5 ml/min. L'analyse est effectuée en mode scan TIC avec une plage de balayage est entre 35 et 450 *m/z* et avec une énergie d'ionisation de 70 eV. L'échantillon est injecté en mode splitless à un volume de 0,6 µL en même temps qu'un standard sous forme d'une série d'alcanes (C8 - C24).

Les molécules qui composent l'extrait étheré sont identifiées par le biais de la librairie spectrale NIST 11 et le calcul de l'indice de Kovats.

2.2.4. Activités biologiques *in vitro*

2.2.4.1. Pouvoir antimicrobien

2.2.4.1.1. Les souches microbiennes

L'activité antimicrobienne des extraits et de l'HE d'*A.iva* est évaluée sur cinq souches bactériennes, dont trois Gram - (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp*) et deux Gram + (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) et deux souches fongiques dont une levure (*Candida albicans*) et une moisissure (*Aspergillus niger*).

2.2.4.1.2. Extraits à tester

En plus de l'extrait aqueux, éthanolique et l'HE extraits par des méthodes utilisant la chaleur, d'autres extraits préparés à température ambiante sont également testés (**Tableau.2.4**) :

- Un macérât aqueux à 10% (24 h de macération dans de l'eau distillée).
- Un macérât éthanolique à 10% (24 h de macération dans de l'éthanol absolu).

Tableau.2.4. Les extraits d'*A.iva* testés pour l'activité antimicrobienne

Extrait	Type d'extraction	Concentration	Solvant
Ethanolique	Soxhlet	100, 300 (mg/ml)	DMSO*
	Macération	100, 300 (mg/ml)	
Aqueux	Décocté lyophilisé	100, 300 (mg/ml)	Eau distillée stérile
	Macération	à 10%	
Huile essentielle	Clevenger	Pure et dilutions de 1 à 0.015 %	Milieu de culture

* **DMSO** : Diméthyle sulfoxyde

2.2.4.1.3. Les antimicrobiens de référence

La sensibilité des souches microbiennes est testée vis à vis d'un antibiotique et d'un antifongique de référence, le Primazol et le Lamidaz respectivement, suivant les mêmes conditions que celles des extraits et de l'HE (**Tableau.2.5**).

Tableau.2.5. Antimicrobiens témoins positifs

Antimicrobien	Famille	Principe actif (DCI)	Dose (1c/ 5 ml)
Antibiotique Primazol	Sulfamides	Sulfaméthoxazole	400 mg
		Triméthopriane	80 mg
Antifongique Lamidaz	Allylamines	Terbinafine chlorhydrate	250

2.2.4.1.4. Protocole expérimental (**Figure.2.5. p.93**)

Afin d'éviter tout risque de contamination, tout le matériel utilisé est stérilisé par autoclavage (18 min à 121°C, pression \approx 2 bars) et sous UV. Toutes les manipulations ont lieu sur paillasse désinfectée et sous hôte à flux laminaire horizontal désinfectée munie d'un bec bunsen.

A. Préparation des souches microbiennes

Des suspensions microbiennes sont préparées à partir des pastilles de souches lyophilisées, réhydratées et incubées entre 34 et 38°C pendant 30 min. Après l'incubation et homogénéisation de la suspension, une dilution est préparée avec 1 ml de la suspension microbienne et 9 ml de solution tampon phosphate (pH 7,2) pour obtenir une concentration finale comprise entre 10 et 100 UFC / 0,1 ml. Les souches sont cultivées sur gélose nutritive pour la préparation des inoculums nécessaires à l'identification et au test antimicrobien.

Bien que les souches soient des ATCC provenant de l'institut Pasteur Paris (France), la confirmation de leur identité est indispensable avant leur utilisation. L'identification est réalisée avec des galeries biochimiques miniaturisées spécifiques (API® 20E, API® Staph et API® 20C, Biomerieux™, France) pour les bactéries et levures (**Figure.1 et 2. Appendice.J**) et une observation macroscopique et microscopique pour la moisissure *Aspergillus niger* après culture (**Figure.3 et 4. Appendice.J**)

B. Évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des différents extraits et l'HE d'*A.iva* est évaluée en utilisant la méthode standard de diffusion sur milieu gélosé solide. Cette méthode consiste à estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes en contact de la substance à tester, qui diffuse sur le milieu gélosé à partir d'un disque en cellulose saturé.

B.1. Préparation des milieux de culture

Trois milieux de culture sont utilisés pour le test antimicrobien :

- **La gélose nutritive (GN)** pour la réactivation des souches,
- **La gélose Mueller Hinton (MH)** pour la culture des bactéries,
- **La gélose Sabouraud (SAB)** pour la culture les champignons.

Les géloses sont liquéfiées dans un bain marie à 100°C puis coulées dans des boîtes de Pétri de 90 mm stériles et à usage unique. Leur solidification est faite à température ambiante. Des géloses inclinées dans des tubes sont utilisées pour le maintien en vie des microorganismes.

B.2. Préparation des inoculums et ensemencement

La méthode suivie est celle préconisée par l'EUCAST [380]. Elle consiste à préparer une culture jeune (18 – 24 h) à partir de laquelle 2 à 3 colonies identiques et bien distinctes sont prélevées et mises en suspension dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. La turbidité de chaque suspension microbienne après homogénéisation, doit être équivalente à celle du standard 0,5 de la gamme McFarland ($1-2 \times 10^8$ UFC/ml). Les inoculums sont ensemencés par écouvillonnage en stries serrées en tournant la boîte à 60° pour couvrir toute la surface de la gélose. L'ensemencement est terminé par un passage de l'écouvillon tout autour du milieu.

L'inoculum est par la suite laissé sécher quelques minutes à température ambiante avant de procéder au test. Pour chaque souche, 7 boîtes de Pétri au total sont ensemencées : 3 boîtes pour la substance à tester, 3 boîtes pour le témoin (+) et 1 boîte pour le control (-) (DMSO ou Eau distillée stérile).

B.3. Dépôt des disques

Des disques en cellulose de 6 mm de diamètre, stérilisés sous UV et saturés de substances à tester, sont déposés au centre des milieux de culture ensemencés, à raison d'un disque par boîte. Après 15 min de diffusion à température ambiante, les boîtes étiquetées sont incubées dans une étuve à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25 °C pendant 72 heures pour les champignons [327].

B.4. Lecture et interprétation des résultats

Après l'incubation, des colonies microbiennes se développent sur la gélose et une zone vierge sans colonies dite zone ou halo d'inhibition apparaît autour des disques. La lecture se fait par la mesure du diamètre de cette zone à l'aide d'un pied à coulisse (**Figure.5. Appendice.J**) [327]. Plus le diamètre est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus elle est résistante. Les diamètres sont par la suite comparés à ceux des antimicrobiens de référence utilisés, et l'interprétation est réalisée selon les directives du CLSI, [137].

C. Évaluation quantitative de l'activité antibactérienne de l'HE

L'évaluation quantitative de l'activité antibactérienne de l'HE consiste à déterminer la concentration minimale inhibitrice ou CMI et la concentration minimale bactéricide ou la CMB de la croissance bactérienne. Son principe de base est le même que celui de l'évaluation qualitative sur milieu solide, sauf que la substance à tester est diluée dans le milieu de culture à différentes concentrations et que le disque est imprégné de la suspension microbienne. Dans ce cas, la méthode est dite dilution en milieu solide. Ce test est réalisé selon le protocole expérimental du laboratoire de contrôle de qualité de SAIDAL BIOTIC (Gué de Constantine).

C.1. Préparation des milieux

A partir d'une solution mère à 1% de gélose MH maintenue en surfusion (1 ml d'HE dans 100 ml de milieu), une gamme de dilutions à différentes concentrations est préparée : 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,06, 0,03 et 0,015%. Les milieux sont coulés dans des boîtes de Pétri de 90 mm stériles et à usage unique.

C.2. Préparation de la suspension bactérienne

Les inoculums sont préparés de la même manière que celle de la méthode de diffusion sur milieu solide. La suspension à 10^8 UFC/ml est reprise par des dilutions successives dans de l'eau physiologique stérile à 0,9%, jusqu'à une dilution comprise entre 10^5 et 10^6 UFC/ml pour chaque souche.

C.3. Dépôt de disques

Des disques en cellulose de 6 mm stériles et imbibés de la suspension bactérienne (3 souches par boîte au maximum) sont déposés à la surface du milieu additionné d'HE pour le test et le T-, et un milieu non additionné d'HE pour le T+. Pour chaque concentration l'essai est répété deux fois. Les boîtes de Pétri sont par la suite incubées à 37 °C pendant 24 heures.

C.4. Lecture et interprétation des résultats

La lecture des résultats se fait par l'observation d'un développement ou non de la souche microbienne sur le milieu additionné d'HE, en le comparant au T-. La CMI est déduite d'après sa définition, en étant la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé, capable d'inhiber la croissance microbienne visible à l'œil nu.

Pour confirmer si l'effet est bactériostatique ou bactéricide, tous les disques ne présentant pas un développement bactérien sont transférés sur une gélose MH (sans HE) et incubés à 37 °C pendant 24 heures avec un T- (MH sans HE ni souche). Selon le résultat du développement des souches bactériennes, la CMB est représentée par la concentration de l'HE, dont le disque ne présente aucun développement bactérien, c'est à dire absence totale de colonies comme le T-.

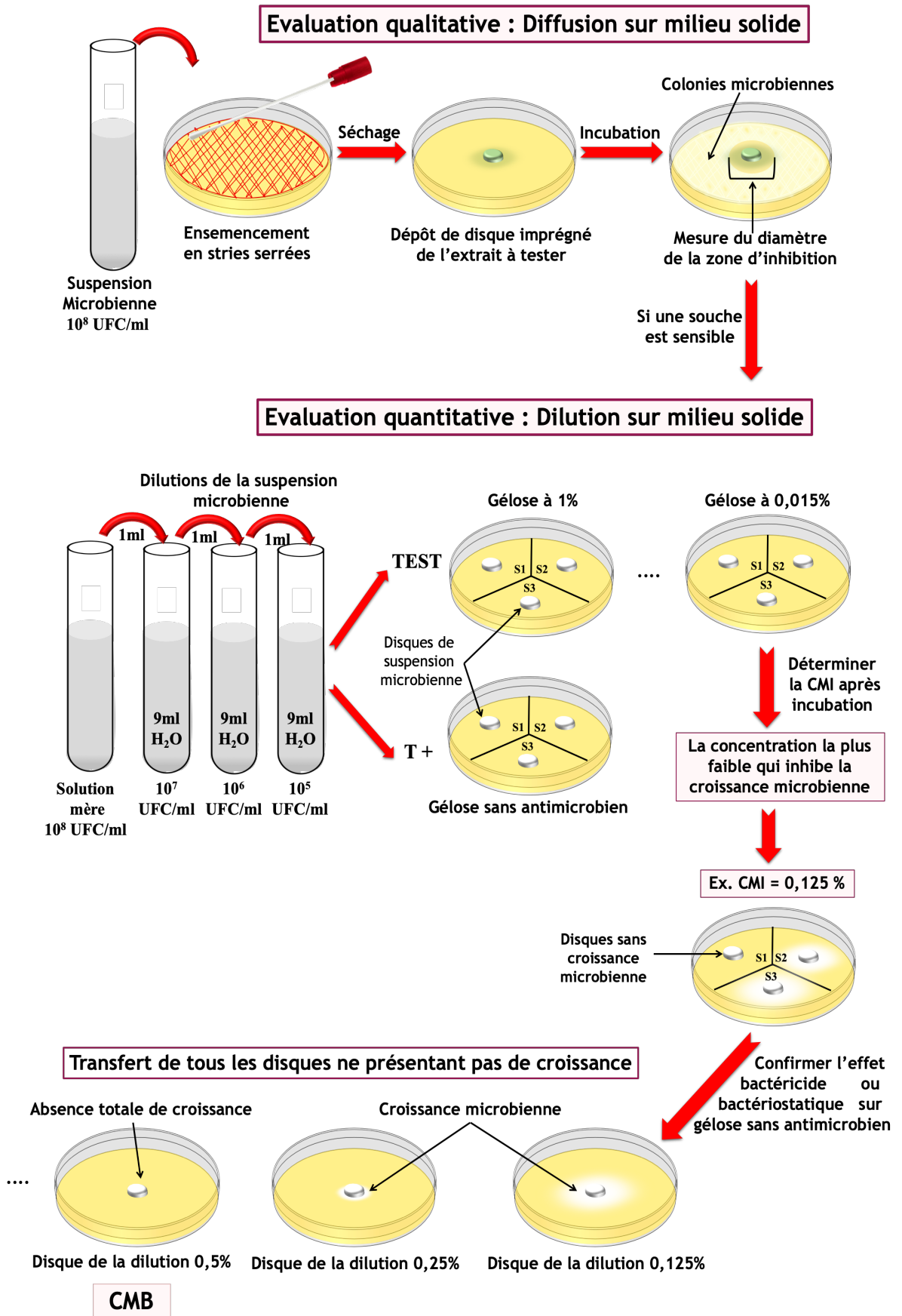


Figure.2.5. Schéma récapitulatif de l'évaluation de l'activité antimicrobienne (Originale, 2018).

2.2.4.2. Activité antioxydante

2.2.4.2.1. Méthode par piégeage du radical libre DPPH

C'est l'une des méthodes les plus utilisées pour évaluer l'activité antioxydante d'une substance. Elle repose sur l'utilisation du DPPH ou le 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl, un radical libre relativement stable qui absorbe à une longueur d'onde comprise entre 515 et 520 nm (**Figure.2.6**). Sa couleur vire du violet profond à un jaune pâle suite à sa réduction par des antioxydants, impliquant ainsi une diminution de l'absorbance [381].

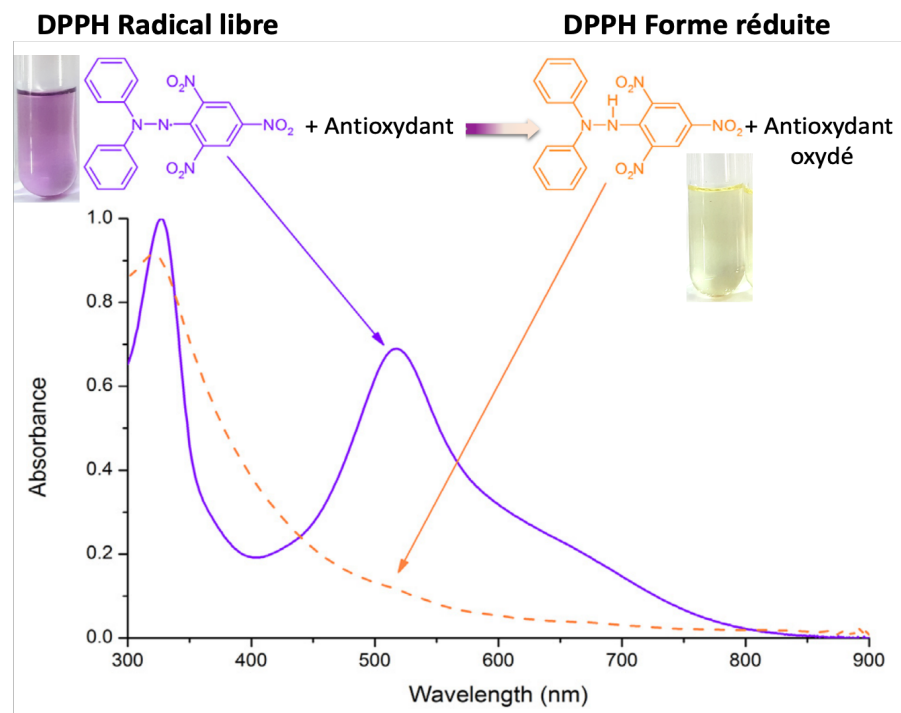


Figure.2.6. Cinétique de la Réduction du DPPH par les antioxydants.
(Adaptée de [382])

L'activité antioxydante des extraits et de l'HE d'*A.iva* est déterminée selon la méthode décrite par BARROS et *al.*, [383] avec quelques modifications. La solution de DPPH à 0,06 mM est fraîchement préparée avant chaque test, en dissolvant 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol absolu. 500 μ l de chaque extrait ou HE à différentes concentrations, sont mélangés à 1,5 ml de la solution de DPPH. Le mélange est incubé pendant 60 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc pour chaque concentration, dans un spectrophotomètre à double faisceau.

Trois contrôles positifs représentés par l'acide ascorbique, l' α -tocophérol et la quercétine sont préparés et analysés dans les mêmes conditions que les extraits et l'HE.

Tous les tests sont réalisés en triplicata

- Expression des résultats

L'activité antioxydante est estimée par le pourcentage de décoloration ou d'inhibition du DPPH (I%) en solution selon la formule suivante :

$$I \% = \frac{A_o - A_t}{A_o} \times 100$$

A_o: absorbance du blanc

A_t: absorbance de l'échantillon

La concentration inhibitrice médiane ou IC₅₀ qui est définie comme étant la quantité d'antioxydants nécessaire pour réduire la concentration initiale du DPPH de 50%, est déduite par régression linéaire à partir de la courbe des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits, de l'HE ou des standards.

La valeur de la IC₅₀ est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire.

Les résultats peuvent aussi être exprimés en puissance antiradicalaire (ARP : Antiradical Power), dont la valeur est proportionnellement liée à l'efficacité des antioxydants [384]. Elle est calculée par la formule suivante :

$$ARP = \frac{1}{IC_{50}} \times 100 \quad [384]$$

2.2.4.2.2. Méthode par réduction du fer(III) au fer(II) ou FRAP

C'est une technique simple et rapide, elle se base sur la capacité des antioxydants à réduire le complexe ferrique du 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (Fe³⁺ TPTZ) de couleur jaune, en un complexe ferreux FE²⁺ TPTZ de couleur bleue (**Figure.2.7**) [385].

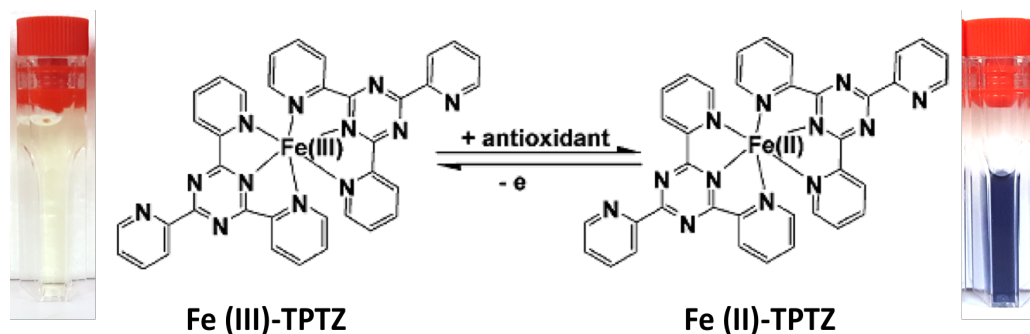


Figure.2.7. Réduction du (Fe(III)-TPTZ) par un antioxydant (Adaptée de [386])

Le pouvoir réducteur des extraits et de l'HE d'*A.iva* est déterminé selon la méthode décrite par BARROS et *al.*, [383] avec quelques modifications. 2,5 ml de chaque échantillon à différentes concentrations sont mélangés avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate à 200 Mm (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de Ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Le mélange est incubé 30 min à 50°C. Pour stopper la réaction, 2,5 ml d'acide Trichloracétique à 10% sont ajoutés et le tout centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min. Par la suite, 5 ml du surnageant sont mélangés à 5 ml d'eau distillée et 1 ml d'une solution de chlorure ferrique à 0,1% fraîchement préparée. La lecture de l'absorbance est effectuée directement contre un blanc, à 700 nm dans un spectrophotomètre à double faisceau.

Un contrôle positif représenté par l'acide ascorbique est préparé dans les mêmes conditions que les extraits.

Tous les tests sont réalisés en triplicata.

- Expression des résultats

Les résultats sont présentés sous forme de graphique, représentant les absorbances en fonction des concentrations des extraits, HE ou standards. Dans ce test l'absorbance est proportionnellement liée au pouvoir réducteur du produit testé.

2.2.5. Activités pharmacologiques *in vivo*

2.2.5.1. Étude de la toxicité aiguë par voie orale

L'étude de la toxicité aiguë permet d'évaluer les effets d'une dose unique d'une substance donnée ; son expression maximale est la mort. Son but principal est de déterminer la DL₅₀ qui est la dose létale pouvant entraîner la mort de 50% des animaux traités [387]. Cette dose est obtenue suite à la réalisation d'une courbe de pourcentage de mortalité des animaux en fonction de la dose administrée, en partant de la dose non létale (0% de décès) jusqu'à atteindre la dose tuant toutes les souris du lot (100%) [388].

La toxicité orale aiguë de l'extrait aqueux d'*A.iva* est évaluée chez les souris conformément à la ligne directrice n° 420 de l'Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) [389], pour les essais de produits chimiques par la méthode de la dose prédéterminée. Ce test a pour but de confirmer la non toxicité de l'extrait aqueux par voie orale, en vérifiant les résultats obtenus par El-Hilaly et *al.*, [9], soit une DL₅₀ supérieure à 14000 mg/kg p.c. (poids corporel).

2.2.5.1.1. Principe de l'essai

Le principe de cet essai est qu'avec un processus séquentiel, utilisant un nombre minimum d'animaux par étape, des informations suffisantes sur la toxicité aiguë de la substance peuvent être obtenues pour permettre sa classification.

Une dose initiale de la substance allant de 5 et 2000 mg/kg p.c. (exceptionnellement 5000 mg/kg p.c.) et fixée selon la disponibilité ou non d'informations la concernant, est administrée par voie orale à un groupe d'animaux de 5 individus au maximum et d'un même sexe, avec un intervalle de gavage de 24 heures minimum entre chaque animal. L'absence ou la manifestation de mortalité chez le premier animal traité avec la dose prédéterminée, détermine l'étape suivante :

- 1) Arrêt de l'essai et attribuer la classification,
- 2) Administration de la même dose à des animaux supplémentaires,

3) Administration de la dose prédéterminée supérieure ou inférieure à des animaux supplémentaires. Dans cette étape, un intervalle de 3 à 4 jours entre les niveaux de doses est nécessaire et varie selon le moment de l'apparition des effets toxiques, leur durée et leur sévérité. Le cas échéant, l'administration de la dose suivante devait être retardée jusqu'à ce qu'on ait obtenu la certitude que les animaux précédemment soumis au traitement survivraient.

2.2.5.1.2. Test de toxicité aiguë orale

Le test de toxicité de l'extrait aqueux d'*A.iva* est réalisé sur 6 lots de 10 souris (30 mâles et 30 femelles au total) pesant entre 23 et 32 g et âgées de 8 à 10 semaines. Chaque lot est constitué de 5 mâles et 5 femelles privés de nourriture avant le test entre 3 à 4 heures, avec accès libre à l'eau.

Les souris reçoivent par voie orale avec une sonde gastrique en inox (**Figure.1. Appendice.K**), les différentes doses de l'extrait aqueux d'*A.iva* reconstitué dans de l'eau distillée comme suit :

Lot 1 : Control : eau distillée.

Lot 2 : 300 mg/kg pc.

Lot 3 : 2000 mg/kg pc.

Lot 4 : 5000 mg/kg pc.

Lot 5 : 8000 mg/kg.

Lot 6 : 14000 mg/kg pc

Le volume total administré chez toutes les souris est de 10 ml/kg p.c.

Les souris sont à nouveau privées de nourriture, pendant 1 à 2 heures. L'intervalle de temps entre le gavage de chaque souris du même lot est fixé à 24 heures et celui entre chaque niveau de dose à 3 jours.

Après chaque traitement, les souris sont surveillées individuellement pendant les premières 30 minutes, de façon régulière pendant les premières 4 heures puis sur une période de 24 heures durant 14 jours après le traitement, pour tout signe de toxicité et de décès. Les observations sont rapportées sur une fiche propre à chaque groupe souris (**Figure.3. Appendice.D**).

Les observations à noter sont les modifications de la peau, des poils, de l'activité somato-motrice et du comportement. L'attention se porte en particulier sur les différentes manifestations telles que les tremblements, convulsion, salivation, diarrhée, léthargie, sommeil et coma (**Tableau.2.6**).

En plus des observations de l'état général des souris, le poids individuel de chaque souris est déterminé juste avant l'administration des traitements (J0) et au 1^{er}, 7^e et 14^e jours après le traitement. Toutes les souris sont sacrifiées à la fin du test et soumises à une autopsie à l'échelle macroscopique. Les reins, le foie, le cœur, les poumons, la rate sont examinés pour d'éventuelles lésions visibles liées à l'administration de l'extrait d'*A.iva*, en les comparant aux organes des souris du lot control.

Tableau.2.6. Signes généraux possibles suite à une toxicité aigue

Fourrure et peau	Couleur, densité, desquamation
Yeux	Couleur, forme et sécrétions
Salivation	Abondance de salive
Somnolence	Forte envie de dormir
Léthargie	Sommeil profond et prolongé
Coma	Altération totale ou partielle de la conscience
Tremblements et Convulsion	Spasmes musculaires répétés et involontaires
Asthénie	Dégradation de l'état général avec faiblesse généralisée
Anorexie	Perte d'appétit
Diarrhée	Selles de consistance plus liquide ou molle que d'habitude
Hypoactivité	Inhibition de l'activité locomotrice ou de comportement
Mortalité	Décès d'un ou plusieurs animaux

- Expression des résultats

La DL₅₀ responsable statistiquement du décès de 50% des animaux traités est calculée à partir de la courbe du pourcentage de mortalité en fonction des différentes doses testées.

Les pourcentages des gains pondéraux (%GP) durant J0-J7, J7-J14 et J0-J14 sont calculés selon la formule suivante :

$$\%GP = \frac{P_n - P_x}{P_x} \times 100 (\%)$$

P_n : n^{ième} mesure du poids corporel

P_x : mesure du poids corporel précédant la n^{ième} mesure (P_n)

2.2.5.2. Activité anti-inflammatoire aiguë : Test de l'Œdème à la carraghénine

La méthode suivie pour évaluer l'activité antiinflammatoire de l'extrait aqueux d'*A.iva* est celle décrite par SORO et *al.*, [390] avec quelques modifications.

Des rats mâles pesant entre 240 et 286 g sont répartis en 4 lots de 6 rats chacun et sont mis à jeun avec accès libre à l'eau, 16 heures avant l'expérimentation.

Pour chaque rat, la circonférence initiale (Ci) de la patte arrière droite est mesurée avec un fil, puis les différents traitements sont administrés par gavage comme suit :

Lot 1 : Control : eau distillée.

Lot 2 : Indométacine à 10 mg/kg p.c.

Lot 3 : Extrait aqueux à 250 mg/kg p.c.

Lot 4 : Extrait aqueux à 500 mg/kg p.c.

Tous les traitements sont administrés à un volume total de 10 ml/kg p.c.

1 heure après l'administration des différents traitements, l'inflammation aiguë est induite chez tous les rats par l'injection de 0,1 ml d'une solution aqueuse de carraghénine à 1% (NaCl : 0,9 %), sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite.

La circonférence (Ct) de la patte arrière droite de chaque rat est mesurée chaque heure durant les 6 h qui suivent l'injection de la carraghénine (**Figure.2. Appendice.K**).

- Expression des résultats

L'importance de l'œdème de la patte enflammée est appréciée par le calcul du pourcentage d'augmentation (%Aug) de la circonférence de la patte de chaque rat, selon les formules suivantes :

$$\% \text{ Aug} = \frac{\text{Ct} - \text{Ci}}{\text{Ci}} \times 100 \quad [390]$$

Ct : circonférence de la patte au temps t

Ci : circonférence initiale de la patte

L'activité anti-inflammatoire est évaluée en calculant le pourcentage d'inhibition de l'œdème (%Inh), qui est exprimé en comparant la moyenne de l'augmentation de l'inflammation chez les groupes traités avec celle du groupe control :

$$\% \text{ Inh} = \frac{\% \text{ Aug t} - \% \text{ Aug c}}{\% \text{ Aug t}} \times 100 \quad [390]$$

% Aug t : Pourcentage d'augmentation moyen de la circonférence de la patte œdématiée du lot control en un temps donné

% Aug c : Pourcentage d'augmentation moyen de la circonférence de la patte œdématiée du lot traité au même moment que celui control

2.2.5.3. Activité antipyrétique : Test de la fièvre induite par la levure de bière

L'activité antipyrétique de l'extrait aqueux d'*A.iva* est évaluée selon la méthode décrite par AMOUZOUN et *al.*, [391] avec quelques modifications.

Des rats mâles pesant entre 190 et 293 g sont répartis en 4 lots de 6 et sont mis à jeun pendant 24 heures avec accès libre à l'eau. Après la pesée et la prise de température rectale avec un thermomètre digital, l'hyperthermie est induite par une injection sous-cutanée dans la région dorsolatérale, d'une suspension aqueuse de levure de bière à 20%, à raison de 20 ml/kg p.c.

Une heure après l'induction de l'hyperthermie et avant l'administration des différents traitements, la température rectale (H0) est mesurée de nouveau (**Figure.4. Appendice .K**) afin d'homogénéiser les lots. Les différents lots reçoivent les traitements comme suit :

Lot 1 : Extrait aqueux à 250 mg/kg p.c.

Lot 2 : Extrait aqueux à 500 mg/kg p.c.

Lot 3 : Control : eau distillée.

Lot 4 : Aspégic à 50 mg/kg p.c.

Tous les traitements sont administrés à un volume de 10 ml/kg pc.

Après l'administration des traitements, la température rectale est mesurée la première et la deuxième heure puis, toutes les deux heures pendant dix heures.

• Expression des résultats

La variation et le pourcentage d'augmentation (%Aug) de la température rectale chez chaque rat ainsi que le pourcentage d'inhibition (%Inh) de l'hyperthermie de chaque traitement sont calculés selon les formules suivantes :

$$\%Aug = \frac{T_n - T_o}{T_o} \times 100 (\%) [391]$$

T_n : Température à un temps donné

T₀ : Température initiale (à H0)

$$\%Inh = \frac{\%Aug_c - \%Aug_t}{\%Aug_c} \times 100 (\%) [391]$$

%Aug c : Pourcentage d'augmentation moyen de la température du lot control en un temps donné

% Aug t : Pourcentage d'augmentation moyen de la température du lot traité au même moment que celui control

2.2.5.4. Activité antalgique : Test de torsions induites par l'acide acétique

L'activité antalgique de l'extrait aqueux d'*A.iva* est évaluée selon la méthode suivie par ZHANG et *al.*, [392] avec quelques modifications.

24 souris mâles et femelles pesant entre 25 et 39 g, sont réparties au hasard en 4 lots de 6 souris chacun et mises à jeun 16 heures avant le test avec accès libre à l'eau.

Une heure avant de provoquer la douleur, les différents traitements sont administrés par gavage comme suit :

Lot 1 : Control : eau distillée.

Lot 2 : Indométacine à 10 mg/kg p.c.

Lot 3 : Extrait aqueux à 500 mg/kg p.c.

Lot 4 : Extrait aqueux à 1000 mg/kg p.c.

Tous les traitements sont administrés à un volume de 10 ml/kg p.c.

La douleur est induite chez toutes les souris par injection intrapéritonéale d'acide acétique à 0,6%, à raison de 10 ml/kg p.c. L'intensité de la douleur est quantifiée en comptant le nombre total de torsions abdominales ainsi que les étirements de pattes sur une période de 25 min (**Figure.3. Appendice.K**).

• Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition des spasmes (%Inh) est calculé avec la moyenne du nombre de spasmes de chaque lot selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inh} = \frac{\text{MSc} - \text{MSt}}{\text{MSc}} \times 100 \quad [392]$$

Msc : moyenne des spasmes du lot control

Mst : moyenne des spasmes du lot traité

2.2.5.5. Activité antiulcéreuse

L'évaluation de l'activité antiulcéreuse de l'extrait aqueux d'*A.iva* est réalisée par la méthode de l'ulcère induit par l'éthanol. Le protocole suivi est celui décrit par ALIMI et *al.*, [393] avec quelques modifications.

2.2.5.5.1. Lésions gastriques induites par l'éthanol

Le principe de cet essai consiste à étudier dans quelle mesure l'extrait aqueux d'*A.iva* peut prévenir les ulcères gastriques induit par l'administration de l'éthanol absolu.

L'expérimentation est réalisée sur 25 rats mâles pesant entre 201 et 265 g et répartis au hasard en 5 lots de 5 rats chacun. Les rats sont privés de nourriture 24 heures avant le test avec accès libre à l'eau jusqu'au 2h qui précèdent le test [394] et sont placés dans des cages à fond grillagé jusqu'à la fin de l'expérimentation pour éviter la coprophagie.

Une heure avant de provoquer les lésions gastriques, les différents traitements sont administrés par gavage comme suit :

- Lot 1** : Control : ne reçoit aucun traitement.
- Lot 2** : Témoin + (lésions) : ne reçoit aucun traitement.
- Lot 3** : Extrait aqueux à 1000 mg/kg p.c.
- Lot 4** : Extrait aqueux à 500 mg/kg p.c.
- Lot 5** : Ranitidine à 50 mg/kg p.c.

Tous les traitements sont administrés à un volume de 10 ml/kg p.c.

Les lésions gastriques sont provoquées en administrant par voie orale de l'éthanol absolu à 5 ml/kg p.c. [395] aux rats des lots 2,3, 4 et 5.

Une heure après l'administration de l'éthanol, les rats sont sacrifiés sous anesthésie à l'éther diéthylique et les estomacs sont prélevés, rincés, incisés suivant la grande courbure avec des ciseaux, puis rincés de nouveau à l'eau physiologique à 0,9% froide (**Figure.5. Appendice.K**).

La muqueuse gastrique de chaque rat est examinée à l'échelle macroscopique en utilisant la loupe (**Figure.6. Appendice.K**). Les lésions peuvent être sous forme d'irritations, de sillons parallèles et allongés le long de l'axe de l'estomac et des points hémorragiques (rouge-noire) ou non. Seuls sont considérés comme ulcérations, les points et les sillons hémorragiques.

Les estomacs sont rapidement fixés au formol à 10% (**Figure.7. Appendice.K**) avant d'être examinés à l'échelle microscopique.

2.2.5.5.2. Examen histologique des muqueuses

Il permet de mieux apprécier à l'échelle microscopique, l'activité ulcérogène de l'éthanol et le degré d'efficacité de l'extrait aqueux d'*A.iva* et ce, en utilisant une coloration dite coloration à l'hématoxyline et l'éosine ou coloration H&E.

La coloration H&E est largement utilisée dans les examens histologiques de routine, elle permet d'apprécier très clairement un grand nombre de structures différentes des tissus, grâce à la coloration bleue à violet foncé du noyau par l'hématoxyline et la coloration à différentes intensités de rose, d'orange et de rouge des autres structures par l'éosine, tels que le cytoplasme des différents types de cellules, les différents réseaux fibreux et les matrices cellulaires [396].

La préparation des coupes histologiques est réalisée selon le protocole expérimental du laboratoire de cytologie du CHU Parnet (Hussein Dey, Alger) et comprend plusieurs étapes :

- **Post lavage** : consiste à laver les estomacs sous l'eau du robinet pendant quelques minutes.
- **Trimming (Figure.8.a. Appendice.K)** : des portions fines et régulières de chaque estomac fixé sont prélevées à l'aide d'un bistouri, puis rangées dans des cassettes marquées.

- ✓ 2 bains d'éthanol 70° : 2 h 30 min chacun,
 - ✓ 2 bains d'éthanol 90° : 2 h 30 min chacun,
 - ✓ 2 bains d'éthanol 96° : 2 h 30 min chacun.
- **Éclaircissement** : comprend 02 bains de xylène : 2 h 30 min chacun.
La déshydratation et l'éclaircissement sont réalisés à température ambiante dans un automate de déshydratation de type carrousel (**Figure.8.b. Appendice.K**).
- **Imprégnation (Figure.9.a. Appendice.K)**: comprend 2 bains de paraffine en fusion (44°C), de 2 h chacun dans l'étuve.
- **Inclusion (Figure.9.b. Appendice.K)** : les tissus sont placés dans des moules en inox remplis de paraffine en fusion et surmonté d'une partie de la cassette. L'ensemble est mis sur une plaque froide à -5°C pour que le bloc enrobé et le moule se solidifient rapidement.
- **Réalisation des coupes (Figure. 9.c. et 10.a. Appendice.K)** : les blocs sont retirés des moules et des sections de 3 um d'épaisseur sont réalisées au microtome rotatif.
- **Étalement des coupes (Figure. 10.b. et c. Appendice.K)** : les sections sont dépliées dans un bain-marie à 37°C, récupérées sur des lames porte objet et transférées dans une étuve réglée à 65°C pendant 24h.
- **Déparaffinage** : consiste à éliminer la paraffine hydrophobe pour permettre aux colorants hydrophiles de pénétrer dans les structures du tissu, en faisant passer les coupes dans une série de différents bains durant quelques minutes :
 - ✓ 2 bains de Xylène : 10 min chacun,
 - ✓ Ethanol à 100° : 3 min,
 - ✓ Ethanol à 90° : 3 min,
 - ✓ Ethanol à 70° : 3 min,
 - ✓ Eau distillée : 1 min.
- **Coloration (Figure.11. Appendice.K)** : la coloration par l'Hématoxyline et Éosine
 - ✓ Hématoxyline de Groat : 5 min.
 - ✓ Eau courante : 5 min
 - ✓ Éosine : 30 sec

- ✓ Eau : rinçage rapide
- **Déshydratation (Figure.11. Appendice.K)** : comprend des bains d'éthanol et de xylène :
 - ✓ Éthanol à 70° : 2 min,
 - ✓ Éthanol à 90° : 2 min,
 - ✓ Éthanol 100° : 2 min,
 - ✓ Xylène : 3 min
- **Préservation et montage (Figure.12. Appendice.K)** : consiste à déposer des gouttes de résine sur les coupes et les couvrir d'une lamelle en verre.
- **Observation** des coupes au microscope photonique

- Expression des résultats

Pour chaque lot, le nombre d'ulcération (**nU**) est compté pour chaque rat et les ulcères sont classés comme suit :

Niveau 1 : points d'ulcérations (pétéchie),

Niveau 2 : ulcérations modérées (ulcères étroits)

Niveau 3 : ulcères hémorragiques étendus

L'indice lésionnel (**IL**) est calculé pour chaque estomac selon la formule suivante [398] :

$$\mathbf{IL = 1 \times (nU \text{ niveau I}) + 2 \times (nU \text{ niveau II}) + 3 \times (nU \text{ niveau III})}$$

Le pourcentage de protection (**%P**) des traitements est calculé avec la formule suivante [393] :

$$\% \text{ Inh} = \frac{\mathbf{ILc+ - ILt}}{\mathbf{ILc+}} \times 100$$

ILc+ : Indice d'ulcérations moyen du lot témoin +

ILt : Indice d'ulcérations moyen du lot traité

2.2.6. Analyse statistique

Tous les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SEM (Standard Error of Mean).

Les moyennes inter et intra-groupes sont comparées par l'analyse de variance univariée (ANOVA), suivie du test de Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification.

Les valeurs de $p < 0,05$ sont considérées comme significatives.

L'analyse statistique est réalisée à l'aide du tableur Excel (Microsoft® Excel pour Mac. v.16.16.1 (2018)) et du logiciel statistique Minitab®17 (Minitab Inc).

CHAPITRE III

Résultats et Discussion

3.1. Enquête ethnobotanique

Les données recueillies durant l'enquête ethnobotanique sont rassemblées en base de données, traitées et analysées, puis interprétées sous formes de données standardisées.

3.1.1. Fréquence d'utilisation des plantes médicinales

3.1.1.1. Selon le type de médecine

Lors de l'enquête ethnobotanique, les 111 participants devaient indiquer le type de médecine à laquelle ils ont recours pour soulager ou guérir leurs affections. Ils avaient le choix entre la médecine traditionnelle (phytothérapie), la médecine moderne, ou bien les deux. Selon les résultats obtenus (**Figure.3.1**), 22,52% mentionnent qu'ils préfèrent la médecine moderne contre 77,47% qui ont recours à la médecine traditionnelle, qu'elle soit seule ou associée à la médecine moderne.

Nos résultats concordent avec ceux de précédentes études, où plusieurs auteurs ont constaté que le pourcentage d'utilisation des plantes médicinales est assez élevé. Les taux étaient de 67,5% pour ZIYYAT et *al.*, [399] ; 76% pour JOUAD et *al.*, [400] et 80% pour EDDOUKS et *al.*, [401].

Parmi les 86 utilisateurs de plantes médicinales, qu'elles soient associées ou non à la médecine moderne, 41,86% affirment que les plantes qu'ils utilisent sont efficaces, 50% les utilisent par acquisition, 5,81% les choisissent parce qu'elles sont moins onéreuses, et enfin 2,33% pensent que les médicaments ne sont plus efficaces. Cette forte utilisation de plantes médicinales dans cette région montre que la médecine traditionnelle conserve toujours une place très importante dans leurs soins de santé primaires, tout en cohabitant avec la médecine moderne. En effet, les couts onéreux proposés actuellement par la médecine moderne ainsi que les éventuels effets indésirables des traitements médicamenteux, sont peut-être les premiers justificatifs du retour vers la phytothérapie.

Les résultats de l'enquête de JOUAD et *al.*, [400], montrent aussi que 72% des utilisateurs sont satisfaits des résultats obtenus par le traitement à base de plantes.

EDDOUKS et *al.*, [401], ont fait le même constat, où 58% des utilisateurs questionnés trouvaient la phytothérapie moins onéreuse, 40% la trouvaient efficace et 65% affirmaient que les plantes sont meilleures que les traitements modernes.

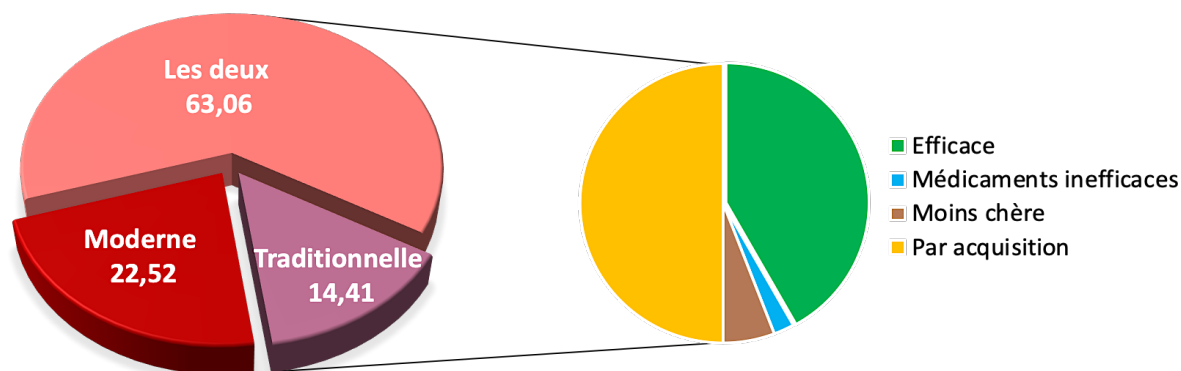


Figure.3.1. Répartition des participants selon le type de médecine.

3.1.1.2. Selon le sexe

L'enquête ethnobotanique est réalisée avec la participation de 73 femmes (65,77%) et 38 hommes (34,23%) (**Figure.3.2**). Sur les 86 utilisateurs de plantes médicinales, 66,28% sont représentés par des femmes contre 33,72% de la population masculine. Ces résultats montrent que malgré l'écart, les hommes sont aussi bien concernés par la médecine traditionnelle que les femmes. Cependant les femmes ont rapporté beaucoup plus de détails concernant les plantes médicinales qu'elles utilisent, cela est peut-être dû au fait que ce soit elles qui s'occupent des différentes préparations à base de plantes chez elles, mais aussi, parce que les femmes sont beaucoup plus attachées à ce savoir traditionnel et le perpétuent par sa transmission entre générations.

Le même constat est retrouvé dans les travaux de ZIYYAT et *al.*, [399] (72%) ; JOUAD et *al.*, [400] (63%) ; EDDOUKS et *al.*, [401] (69%) ; BENKHNIGUE et *al.*, [12] (87,76%) ; BOUALLAMA et *al.*, [402] (72,86%) et ORCH et *al.*, [403] (74,36%).

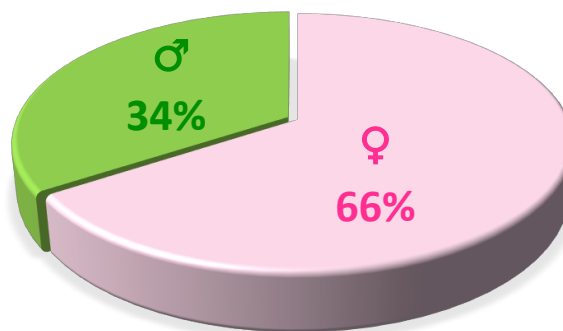


Figure.3.2. Répartition des utilisateurs de plantes selon le sexe

3.1.1.3. Selon l'âge

D'après les résultats obtenus, l'âge des utilisateurs de plantes varie de moins de 20 ans à plus de 60 ans, avec une majorité située dans la tranche d'âge des 20-30 ans, avec un taux de 25,58%. Elle est suivie directement par la tranche d'âge 30-40 ans et 40-50 ans avec des taux très proches de 24,42% et 22,09% respectivement, puis par les 50-60 ans et les plus 60 ans avec un pourcentage de 12,79 % chacun et enfin les moins de 20 ans qui représentent seulement 1,16% (**Figure.3.3**).

Ces résultats montrent que la jeune population s'intéresse davantage à l'usage des plantes médicinales tout autant que la population d'âge moyen, ce qui est déjà un bon signe concernant la transmission des connaissances sur les plantes médicinales entre générations. Cependant, c'est dans les tranches d'âge 50-60 et plus de 60 ans que le plus de renseignements et de détails concernant les plantes médicinales sont constatés. Les connaissances des plantes médicinales, leurs propriétés ainsi que leurs usages thérapeutiques, sont généralement dues à l'expérience assemblée avec l'âge, mais aussi, par la transmission assurée par leurs aînés.

Dans les travaux de ZIYYAT et *al.*, [399], 72% des adultes (20-60 ans) interrogés utilisaient les plantes médicinales ; ce qui équivaut à un taux de 84,88% dans notre enquête. Les travaux de BOUALLAMA et *al.*, [402], ont montré aussi que ce sont les adultes âgés de 40 à 60 ans qui utilisaient le plus les plantes médicinales, avec un taux de 55,71%.

Par contre, les résultats de l'enquête de JOUAD et *al.*, [400], ont montré une répartition d'utilisation des plantes presque similaire entre les utilisateurs adultes (49%) et les utilisateurs âgés (45%) ; et ceux de BENLAMDINI et *al.*, [404], montrent que les plus de 60 ans dominaient dans leur enquête, avec un pourcentage de 26%.

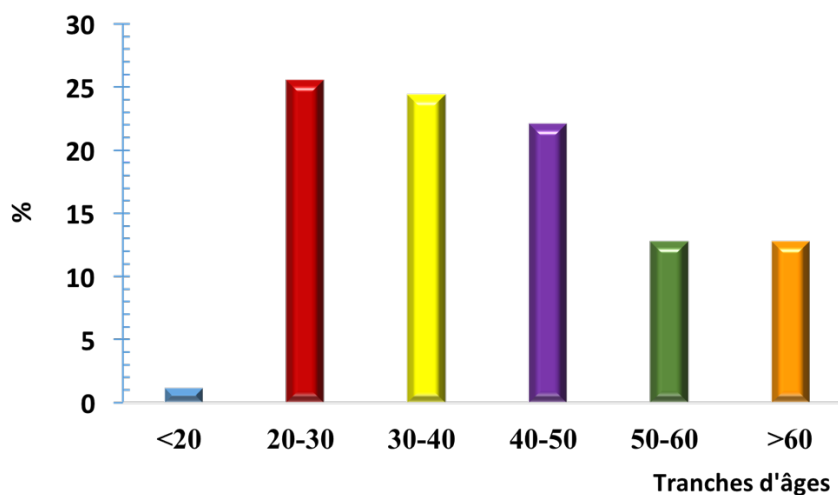


Figure.3.3. Répartition des utilisateurs des plantes par tranches d'âge

3.1.1.4. Selon les doses utilisées

Selon les résultats de notre enquête, 77,91% des utilisateurs préparent leurs plantes avec des doses aléatoires et surtout, sans avoir conscience des risques de toxicité éventuels. Cette pratique sans posologie précise est très courante et se base principalement sur le retour d'expérience concernant l'utilisation des plantes. Cela, pourrait expliquer les intoxications accidentelles même légères par certaines plantes médicinales. D'ailleurs, la grande majorité des participants interrogés lors de notre enquête, comptent sur l'expérience des autres personnes pour le choix des plantes, d'autres préfèrent les conseils des herboristes et la consultation de livres spécialisés, et très peu consultent un médecin ou un pharmacien (**Figure.3.4**).

Des résultats similaires ont été obtenus par EDDOUKS et *al.*, [401], où 65% des utilisateurs se basaient sur l'expérience d'autres personnes, 49% consultaient un guérisseur traditionnel, alors que seulement 1% consultaient un pharmacien.

Par ailleurs, parmi les plantes médicinales les plus couramment utilisées, certaines sont connues par leur pouvoir toxique tels que le *Nerium oleander* [405] ;

[406] et *Nigella sativa* [407] ; [408]. Malheureusement, beaucoup d'herboristes ignorent la toxicité de certaines plantes ainsi que les modalités de leur usage et ne peuvent donc pas mettre en garde leurs clients.

Effectivement, EDDOUKS et *al.*, [401] ont remarqué que 70% des personnes questionnées ne respectaient pas les doses et la durée du traitement prescrites. C'est pour cela que l'utilisation des plantes médicinales doit être rationalisée pour en tirer profit tout en évitant les risques d'intoxication.

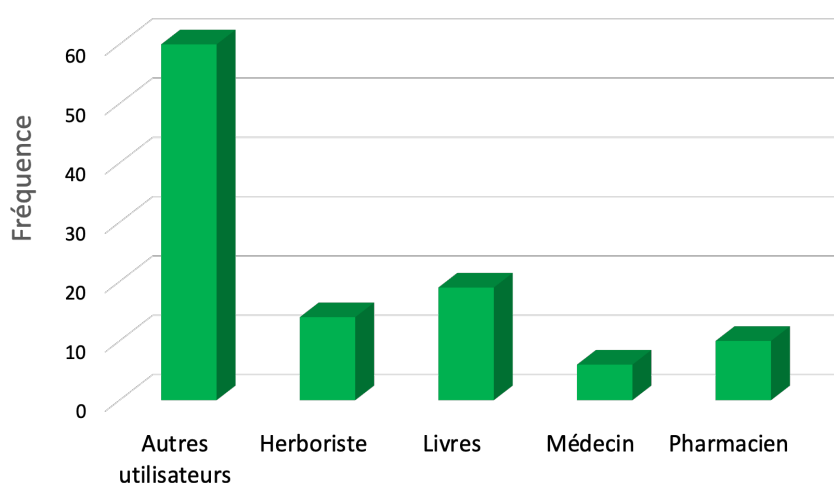


Figure.3.4. Fréquence des sources d'information pour l'usage des plantes

3.1.2. Diversité des plantes médicinales utilisées dans la région d'étude

Lors de l'enquête, nous avons recensé 65 espèces locales et importées, appartenant à 32 familles botaniques.

Parmi elles, les plus importantes sont, la verveine, la menthe, l'origan, l'armoise, l'eucalyptus, le thym, le fenouil, le gingembre, la camomille, le romarin la cannelle, l'anis verte et enfin Chendgoura (*A.iva*) (**Figure.3.5**). La liste détaillée figure dans le **Tableau.1. Appendice.H**.

Parmi les 32 familles, les plus représentées sont les Lamiaceae (12 espèces), les Apiaceae (6 espèces), les Asteraceae (5 espèces), les Fabaceae et les Lauraceae (4 espèces), suivies par les Myrtaceae et Rosaceae (3 espèces) et les

Rhamnaceae, Rutaceae et Zingiberaceae (2 espèces). Les 22 familles restantes ne comptent qu'une seule espèce chacune.

Des résultats similaires ont été observés, avec quelques légères différences, au cours des enquêtes ethnomédicinales réalisées dans plusieurs pays autour du bassin méditerranéen [409], notamment celle de JOUAD *et al.*, [400] ; EDDOUKS *et al.*, [401] ; NAGHIBI *et al.*, [410] ; MEHDIOUI et KAHOUADJI, [411] ; TAHRAOUI *et al.*, [412] ; LAHSISSENE et KHAOUADJI, [413] ; SALHI *et al.*, [414] et par ORCH *et al.*, [403].

Nos résultats montrent bien la diversité des plantes médicinales utilisées par la population de Tizi Ouzou pour leurs soins de santé primaires. Le même constat a été rapporté par MEDDOUR et MEDDOUR-SAHAR, [415], lors de leur enquête ethnobotanique dans la même région, où ils ont inventorié une centaine d'espèces de plantes médicinales, avec une prédominance des Lamiaceae et des Asteraceae.

Des résultats similaires ont été obtenus par NAGHIBI *et al.*, [410] ; LAHSISSENE et KHAOUADJI, [413] ; SALHI *et al.*, [414] et ORCH *et al.*, [403] avec une utilisation assez importante de la menthe, l'origan et le thym (Lamiaceae).

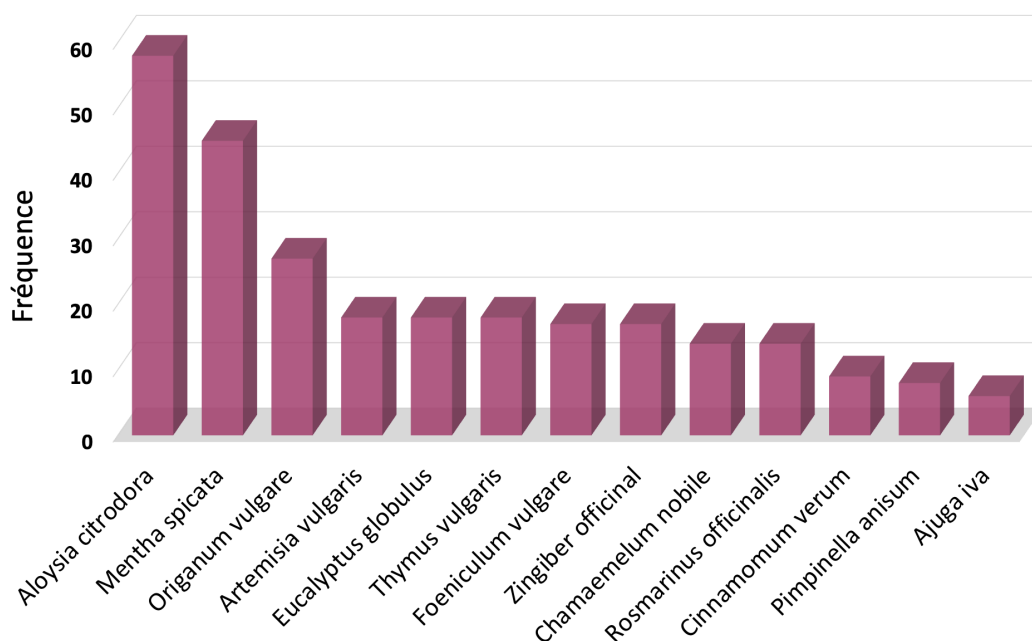


Figure.3.5. Fréquence d'utilisation des différentes plantes médicinales

3.1.3. Fréquence d'utilisation de l'espèce *Ajuga iva* et usages thérapeutiques

Les résultats de l'enquête ethnobotanique révèlent que sur les 86 utilisateurs de plantes, 69,77% n'ont jamais entendu parler de *Chendgoura* sous tous ses noms. Les 30,23% restant qui la connaissent, l'utilisent entière (61,54%) ou uniquement ses feuilles (38,64%), pour préparer des tisanes (88,46%) ou des mélanges à base de poudre de plante et de miel (11,54%) (**Figure.3.6**).

L'utilisation de la partie aérienne seulement peut s'expliquer soit par l'efficacité déjà établie de cette partie en phytothérapie, soit par la bonne volonté du cueilleur à vouloir protéger et assurer la durabilité de l'espèce médicinale.

Nos résultats confirment ceux de plusieurs auteurs, qui ont rapporté que les parties aériennes des plantes médicinales notamment les feuilles, sont les plus utilisées dans la médecine traditionnelle [411] ; [12] ; [404] ; [416].

Plusieurs auteurs ont souligné que le mode d'administration des plantes médicinales le plus fréquent lors de leurs enquêtes ethnobotaniques, était celui des tisanes. En effet d'après l'étude de SALHI et *al.*, [414], les tisanes et plus précisément la décoction, représentaient 62,3% des modes d'administration. Selon eux elles permettent de recueillir le maximum de principes actifs des plantes, et d'atténuer ou d'éliminer leurs éventuels effets toxiques.

Ce mode d'administration est largement rapporté dans la littérature [306] ; [307] ; [303] ; [302], mais aussi dans des études réalisées par MEHDIOUI et KAHOUADJI, [411] (47%) ; BENKHNIGUE et *al.*, [12] (46,41%) et BENLAMDINI et *al.*, [404] (40,55%).

Selon plusieurs études, et contrairement à la nôtre, *A.iva* est une plante très connue et largement utilisée pour traiter de nombreuses pathologies comme le diabète et l'hypertension artérielle, notamment au royaume du Maroc [412] ; [413] ; [402] ; [403].

Malgré la très faible masse de données recueillies au cours de notre enquête, concernant l'usage thérapeutique d '*A.iva*, nous avons tout de même pu déterminer quelques pathologies contre lesquelles elle serait efficace. En effet, la majorité des utilisateurs placent en première position les douleurs ou troubles digestifs, suivis du diabète, la dermatose du cuir chevelu, divers maux, l'hypertension et l'hypercholestérolémie et enfin l'inflammation (**Figure.3.7**).

D'après la classification des soins primaires dans la région méditerranéenne y compris l'Algérie, le groupe thérapeutique qui comprend le plus grand nombre de plantes médicinales est celui des pathologies gastro-intestinales, avec la prédominance de la famille des Lamiaceae [409].

La prédominance des pathologies digestives en phytothérapie, a été rapportée dans diverses études réalisées par, OUELD EL HADJ et *al.*, [416] avec un pourcentage de 26,38% ; SALHI et *al.*, [414] avec pourcentage de 26,15% ; BENLAMDINI et *al.*, [404] avec un taux de 45% ; et MEHDIOUI et KAHOUADJI, [411] avec un pourcentage de 50%, et une prédominance de l'espèce *Thymus broussonetii*.

Nos résultats confirment ceux obtenus par BOUALLAMA et *al.*, [402], où *A.iva* est largement utilisée dans le traitement des pathologies digestives, du diabète, des algies diverses ainsi que les affections internes.

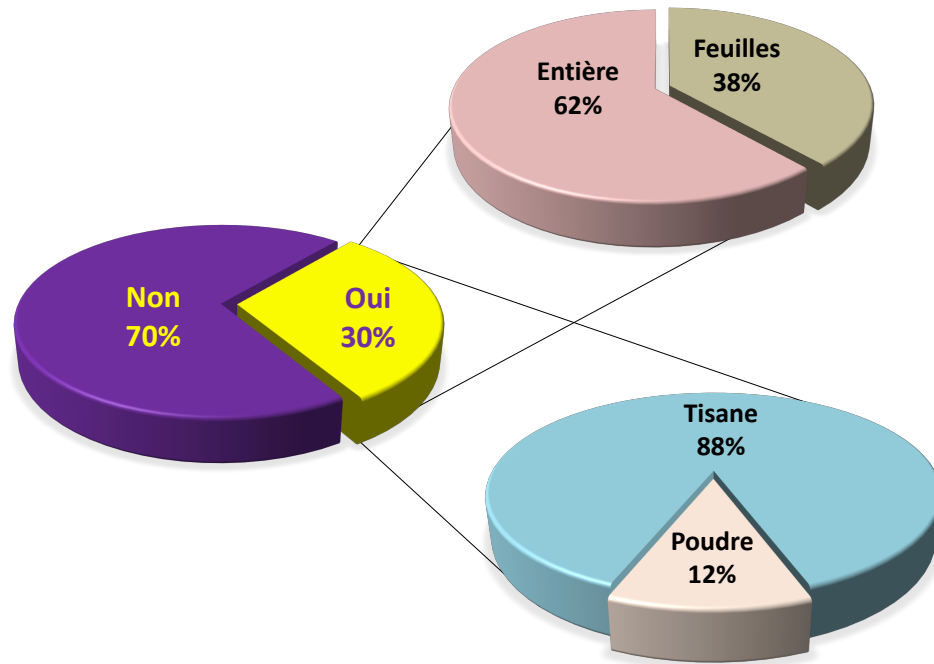


Figure.3.6. Fréquence d'utilisation, parties utilisées et modes d'administration d'*A.iva*

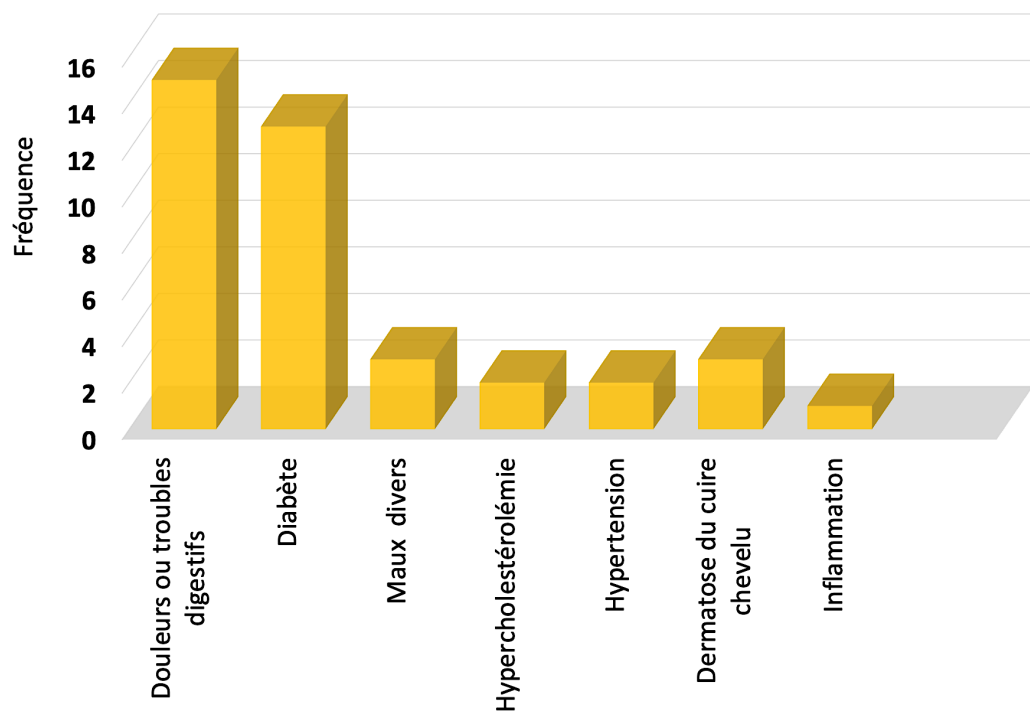


Figure.3.7. Fréquence des usages thérapeutiques d'*A.iva*

3.2. Identification botanique de la plante

La plante récoltée (**Figure.3.8**) est identifiée en la comparant aux spécimens de l'herbier du département de botanique de l'ENSA (El Harrach) (**Figure.3.9**). C'est une plante rampante de petite taille, qui mesure $152,60 \pm 0,21$ mm de long ($n=42$), avec une tige très feuillue et ligneuse vers la base, telle qu'elle est décrite dans la littérature [8] ; [310] ; [307].

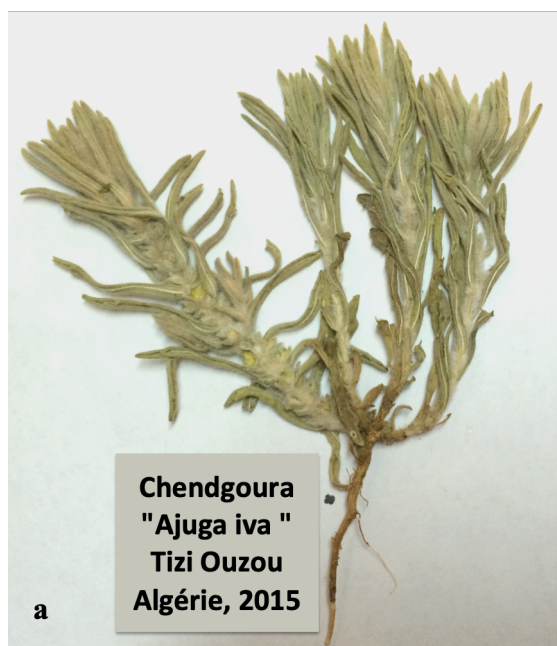


Figure.3.8. Échantillon d'*A.iva* récoltée à Bouyala, Tizi Ouzou : (a) sec, (b) frais (Originale, 2015).



Figure.3.9. Spécimens d'*A.iva* de l'herbier de l'ENSA (Originale, 2015).

L'identification générale de la plante entière est complétée par quelques observations macroscopiques sous une loupe et microscopiques sous microscope photonique.

3.2.1. Étude de l'aspect macroscopique

3.2.1.1. La Tige

L'observation à la loupe, révèle une tige verte, très pubescente, à section rectangulaire et mesure $133,72 \pm 21,13$ mm de long ($n=42$) (**Figure.3.10**).

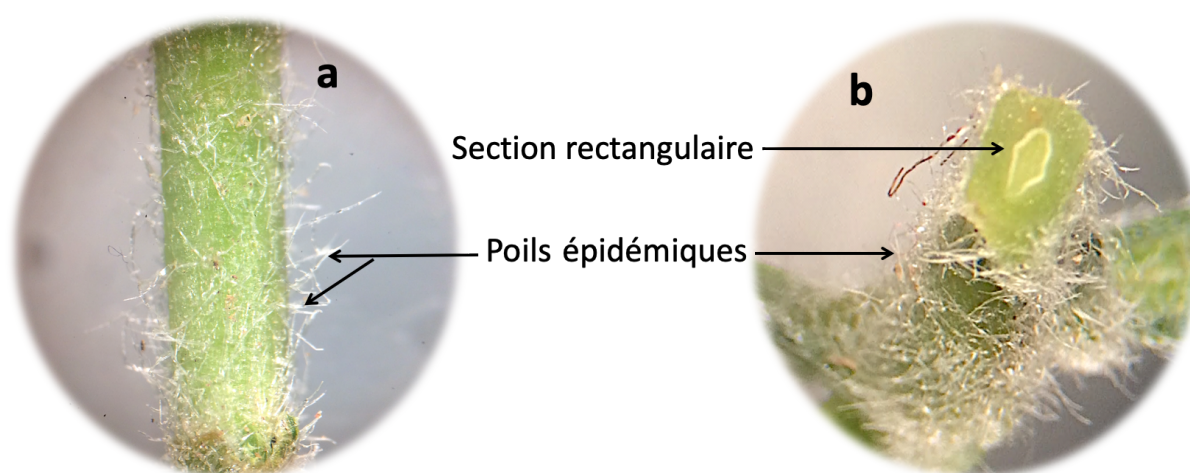


Figure.3.10. Observation de la tige d'*A.iva* sous la loupe (Gx 4,5). **a)** poils épidermiques. **b)** section transversale (**Originale, 2015**).

3.2.1.2. Les feuilles

Très nombreuses, elles mesurent $32,01 \pm 2,88$ mm de long ($n=42$). Ce sont des feuilles sessiles (**Figure.3.11**), d'un vert foncé sur la face supérieure et un vert clair sur la face inférieure, de forme oblongue à linéaire, pubescentes, enroulées sur les bords vers la face inférieure et sont soit entières, soit un peu dentées au sommet (**Figure.3.12**).

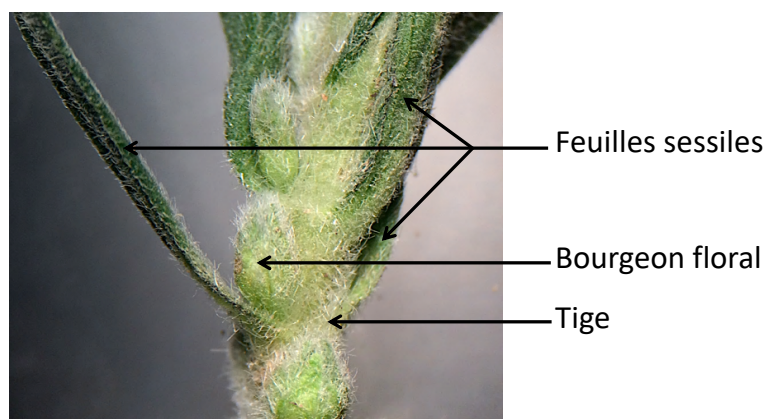


Figure.3.11. Observation des feuilles sessiles d'*A.iva* sous la loupe (Gx2,5) (Originale, 2015).

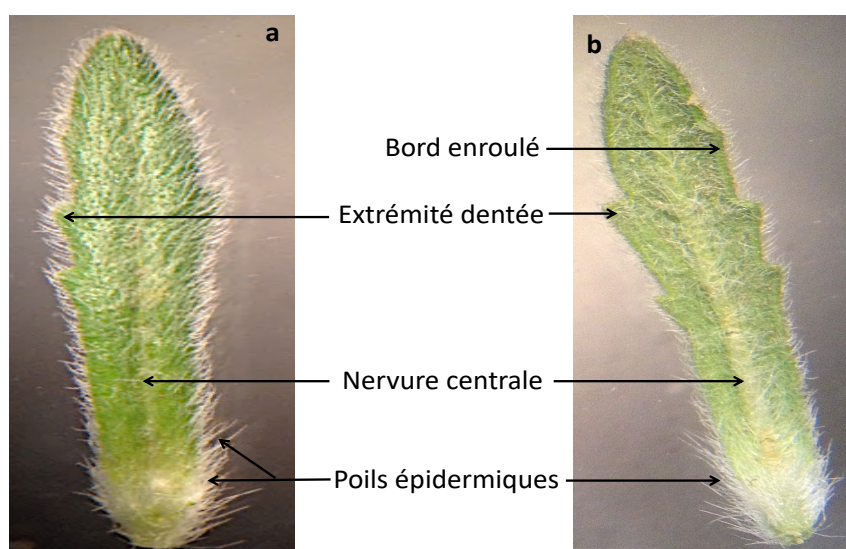


Figure.3.12. Observation de la feuille d'*A.iva* sous la loupe (Gx2,5). **a)** face supérieure. **b)** face inférieure (Originale, 2015).

3.2.1.3. La fleur

A.iva produit de petites fleurs qui mesurent $16,89 \pm 1,19$ mm de long ($n=42$). Elles se disposent par deux ou quatre par verticille (**Figure.3.13**). Leur couleur est blanchâtre au stade bouton, rose très pale au début de l'épanouissement, et deviennent par la suite pourpres (**Figure.3.15**). Le calice mesure $6,11 \pm 0,52$ mm ($n=42$), il est velu, composé de 5 dents triangulaires et porte une corolle à tube en entonnoir, dont la lèvre supérieure est très réduite voir absente (**Figure.3.14**). La lèvre inférieure de la corolle se divise en trois lobes velus. Les latéraux sont de petite taille et le lobe médian est relativement plus grand et dont la partie centrale est décorée d'un trait vertical jaunâtre et des petites taches pourpres (**Figure.3.15**).



Figure.3.13. *A.iva* en période de floraison (**Originale, 2015**).

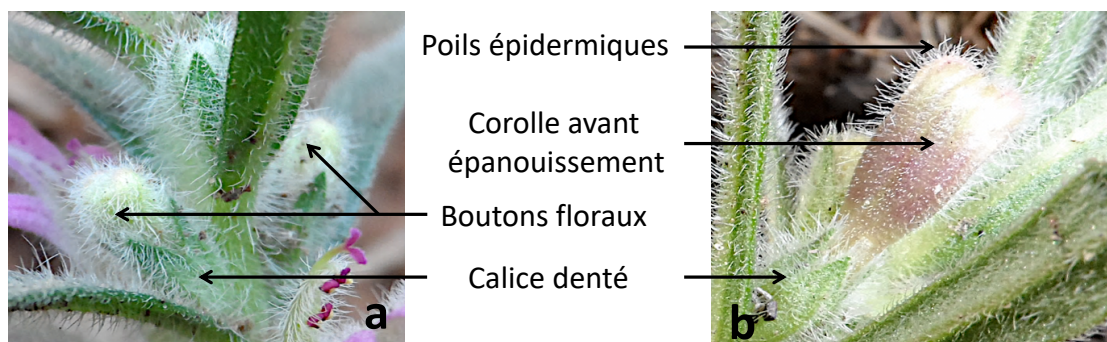


Figure.3.14. Bourgeons d'*A.iva*. **a)** boutons floraux. **b)** corolle avant épanouissement (**Originale, 2015**).

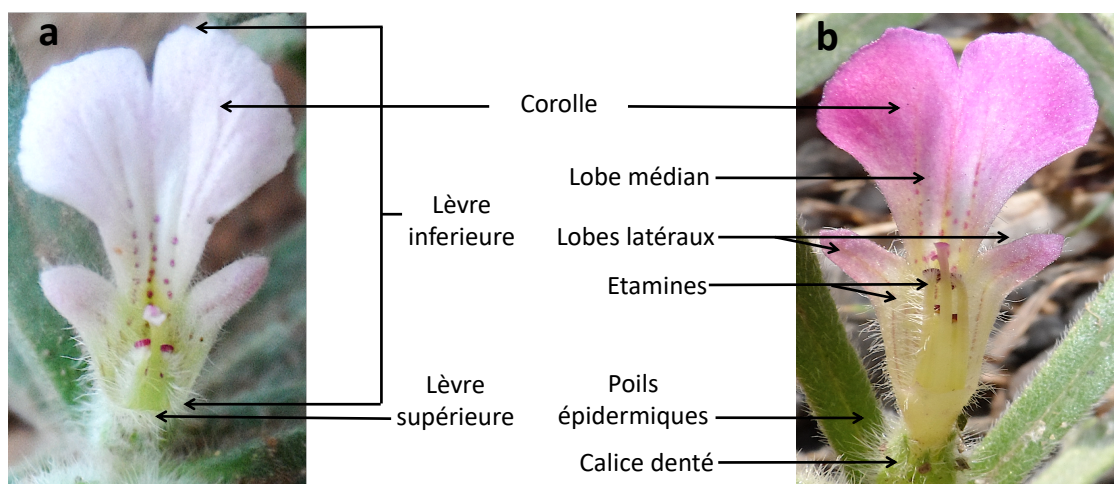


Figure.3.15. Fleur d'*A.iva*. **a)** au début de l'épanouissement. **b)** après épanouissement (**Originale, 2015**).

Dans la fleur, il y'a quatre étamines saillantes et pubescentes, les deux externes plus grandes que les deux autres. Les quatre étamines sont liées à quatre carpelles au fond du calice, et sont surmontées d'un style avec un stigmate bifide (**Figure.3.16**).

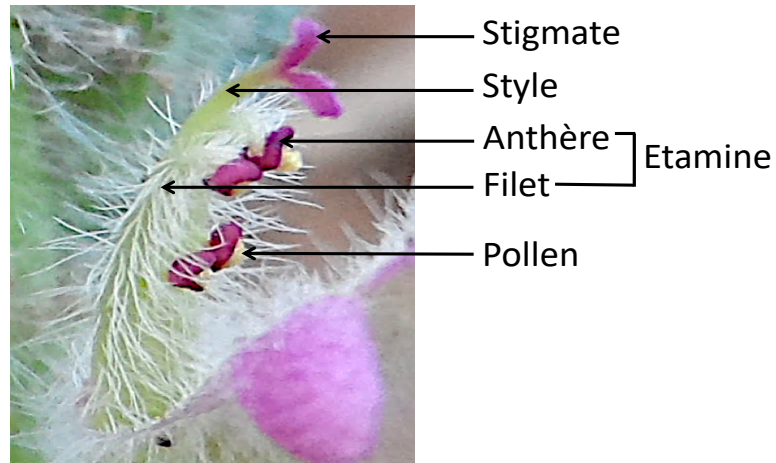


Figure.3.16. Étamines et partie du pistil de la fleur d'*A.iva* (**Originale, 2015**).

Les fleurs produisent des fruits qui contiennent des graines vertes luisantes (**Figure.3.17**) qui deviennent brunâtres, puis noires avec une écorce dure et ridée après maturation (**Figure.3.18**).

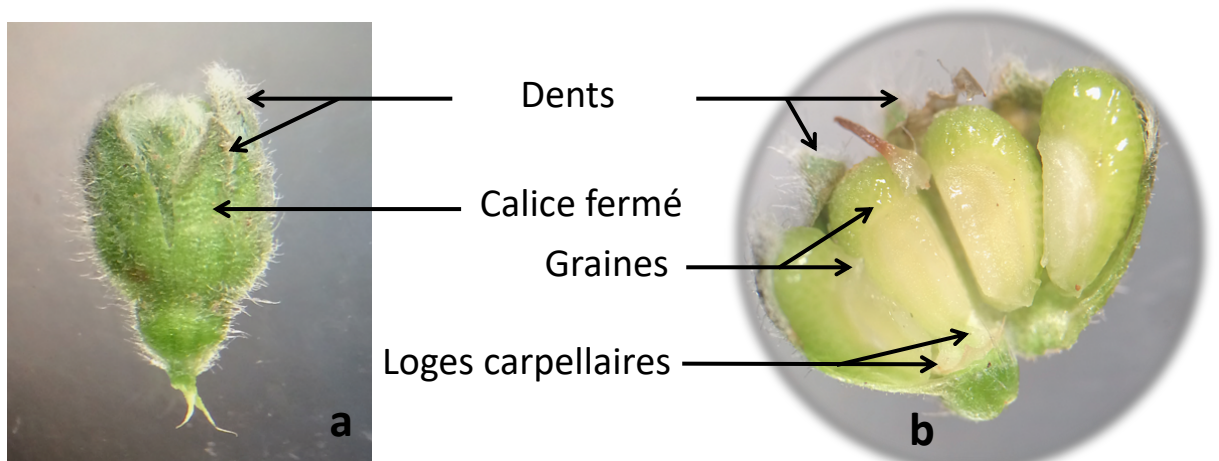


Figure.3.17. Observation du calice d'*A.iva* sous la loupe (Gx 4,5). **a)** calice fermé. **b)** calice ouvert avec des graines immatures (**Originale, 2015**).



Figure.3.18. Observation des graines d'*A.iva* sous la loupe (Gx4,5) (Originale, 2015).

3.2.2. Étude de l'aspect microscopique

L'étude de l'aspect microscopique consiste en l'observation des tissus qui composent les différents organes de la plante, à savoir la feuille et la tige. Cette étape permet de mettre évidence l'existence de structures particulières et des tissus sécréteurs. L'observation est réalisée sur des sections fines colorées.

3.2.2.1. La tige

La coupe transversale de la tige révèle sa forme quadrangulaire, sa pubescence, les différents tissus qui la composent (Figure.3.19) et aussi la présence de quelques poils sécréteurs à tête vésiculaire (Figure.3.20).

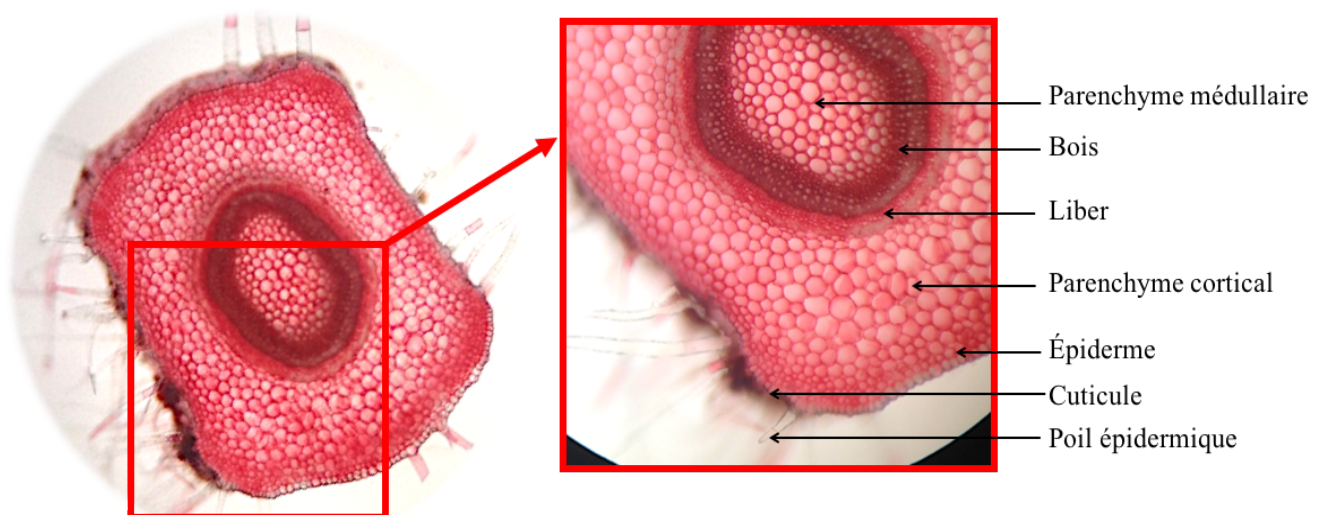


Figure.3.19. Observation de d'une coupe transversale au niveau de la tige d'*A.iva*, sous microscope optique (Gx10) et (Gx40). (Originale, 2015).

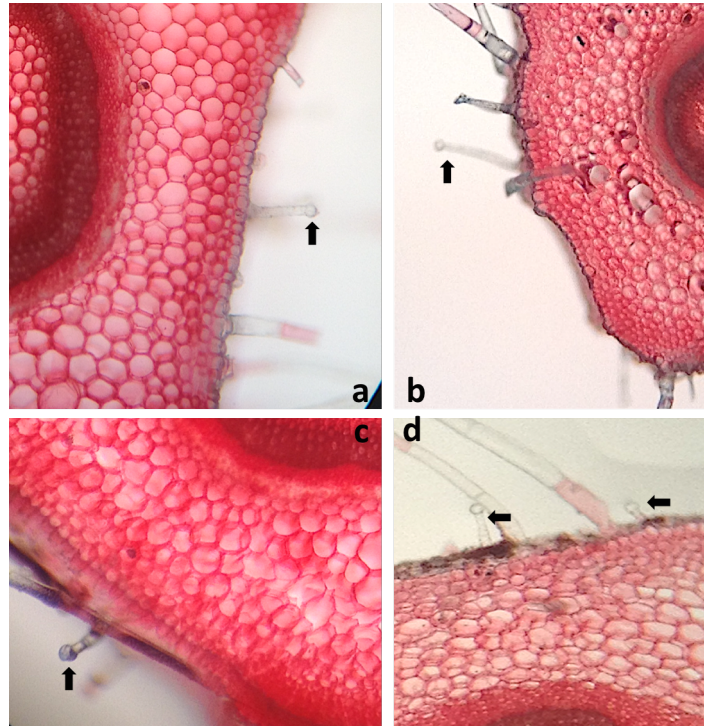


Figure.3.20. Observation des poils sécréteurs à tête vésiculaire (**Flèche**) dans une coupe transversale au niveau de la tige sous microscope optique. **a), b), d)** Gx10. **c)** Gx40 (**Originale, 2015**).

3.2.2.2. La feuille

La coupe transversale de la feuille vue sous microscope, montre qu'elle est composée de deux parties minces entre lesquelles se trouve une partie lobée. Elle est composée de différents tissus, à savoir, un épiderme supérieur et inférieur, un parenchyme palissadique et lacuneux, des faisceaux conducteurs (bois et liber) et un épiderme inférieur (**Figure.3.21**).

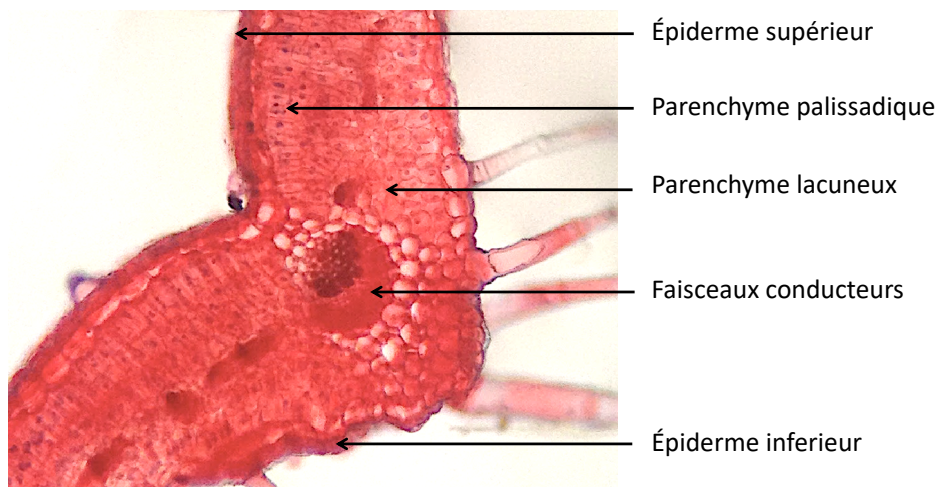


Figure.3.21. Observation de la coupe transversale au niveau de la feuille d'*A.iva*, sous microscope optique (Gx40) (**Originale, 2015**).

3.3. Étude phytochimique

3.3.1. Teneur en eau par la méthode pondérale

Les résultats de la teneur en eau (TE%) d'*A.iva* sont exprimés en moyenne \pm SEM de trois répétitions.

Tableau.3.1. Teneur en eau d'*A.iva*

Poids frais (g)	1,254 \pm 0,005
Poids sec (g)	0,3818 \pm 0,008
TE (%)	69,56 \pm 0,55

D'après les résultats dans le **Tableau.3.1.**, *A. iva* est une plante très riche en eau, avec une teneur avoisinant les 70%, ce qui équivaut presque au 3/4 de son poids à l'état frais.

L'eau est une substance essentielle pour la vie sur terre, étant donné qu'elle est le constituant majeur des organismes vivants. Chez les plantes, l'eau est indispensable pour leur développement ; le maintien de leur structure cellulaire ainsi que le bon déroulement des réactions métaboliques [417]. Elle représente 70 à 95% du poids frais des plantes [418] et joue un rôle très important dans le transport des éléments essentiels à leur survie. Un manque d'eau peut entraîner une diminution de la photosynthèse et par conséquent la réduction de la respiration et l'altération de certains processus enzymatiques. Il est également accompagné par le ralentissement de la multiplication cellulaire, la fermeture des stomates, et dans les cas extrêmes de déshydratation, la mort de la plante [419].

La teneur d'une plante en eau est souvent élevée, mais varie d'une plante à une autre et aussi selon l'organe considéré [419].

3.3.2. Teneur en cendre

Suite à la calcination totale de la poudre d'*A.iva*, nous avons obtenu des cendres sous forme de fine poudre et de couleur gris clair (**Figure.3.22**), avec un poids moyen de 0,6 \pm 0,002 g, soit une teneur de 12,03 \pm 0,05 % **Tableau.3.2.**

Tableau.3.2. Teneur en cendres d'*A.iva*

Poids frais (g)	5,00
Poids sec (g)	0,60 ± 0,002
TC (%)	12,03 ± 0,05

**Figure.3.22.** Calcination d'*A.iva*. a) plante pulvérisée. b) cendres végétales (Originale, 2017).

La cendre représente le résidu inorganique restant, après élimination de l'eau et des matières organiques par combustion. Elle est constituée essentiellement de minéraux faiblement volatiles, qui ne sont pas détruits par le chauffage [420]. Les constituants de la cendre peuvent varier avec le temps, d'une espèce à une autre, mais aussi d'un organe à l'autre chez la même espèce [421].

Chez *Hyptis Suaveolens* une espèce de la famille des Lamiaceae étudiée par PACHKORE et DHALE, [422], le taux de cendre était de 6,88%, ce qui largement inférieur à celui obtenu chez *A.iva* dans notre étude.

BEGUM et *al.*, [423], ont trouvé un taux de cendres totales élevé de 27,5%, chez l'espèce *Asparagus officinales* appartenant à la famille des Asparagaceae.

Une autre étude réalisée par VERMANI et *al.*, [424], sur plusieurs espèces de plantes médicinales utilisées en Inde, montre bien cette différence de taux cendres entre des espèces de différentes familles. Ce taux était de 6,5% chez *Butea monosperma* (Fabaceae), 5,3% chez *Cassia fistula* (Fabaceae), 2,0% chez

Quercus infectoria (Fagaceae), 7,2% chez *Tinospora cordifolia* (Menispermaceae) et enfin 7,4% chez *Cedrela Toona* (Meliaceae).

Les résultats de NDUCHE et al., [425], ont montré aussi une légère différence de taux de cendres chez trois espèces de genre différents, appartenant à la famille des Asteraceae ; à savoir, l'*Ageratum conyzoides* avec 12,13%, *Conyza sumatrensis* avec 14,34% et *Emilia coccinea* avec un taux de 13,23%.

Ces résultats montrent que le taux de cendres varie d'une plante à une autre même si elles font partie du même genre ou de la même famille.

3.3.2.1. Dosage des ions par chromatographie ionique

Les chromatogrammes obtenus suite à l'analyse des cendres d'*A.iva* par chromatographie ionique (**Figure.3.23. et Figure.3.24.**), ont permis de mettre en évidence la présence de 6 minéraux dont 4 cations et 2 anions (**Tableau.3.3**).

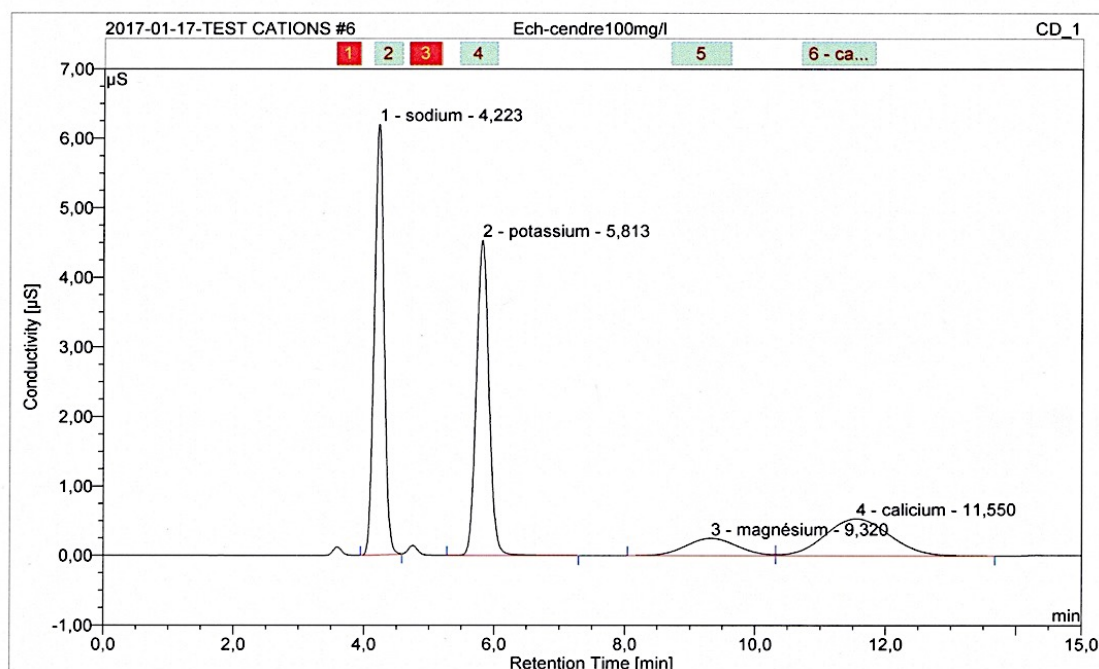


Figure.3.23. Chromatogramme des cations chez *Ajuga iva*.

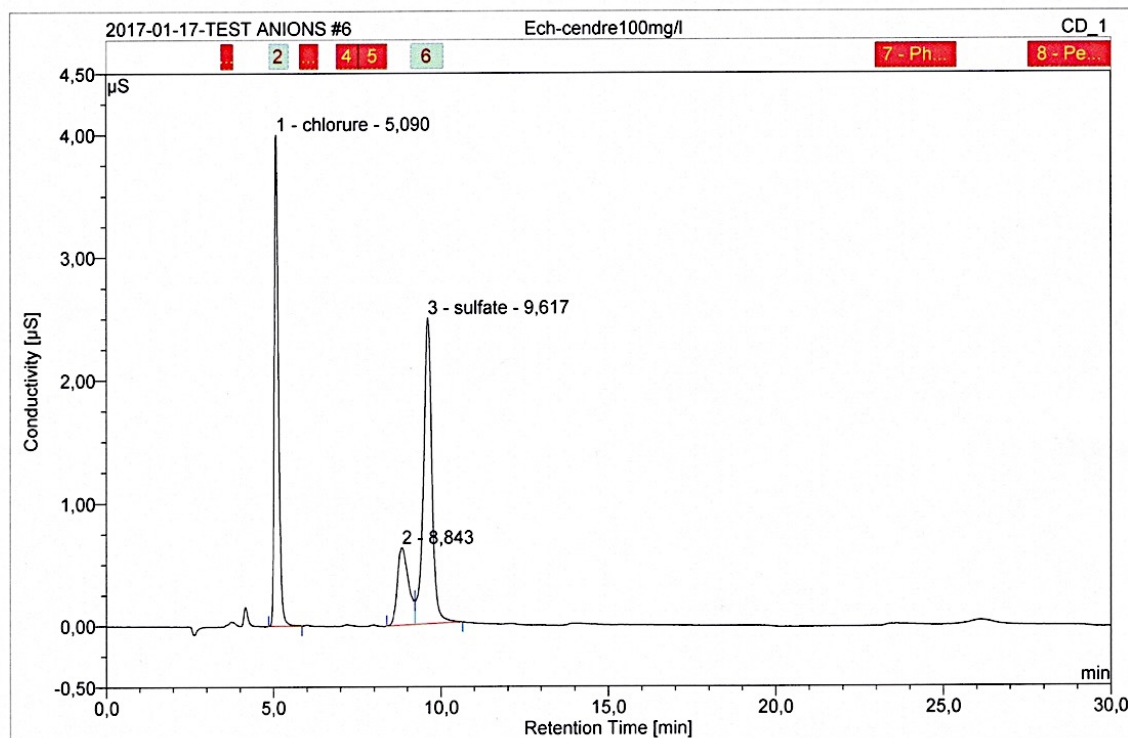


Figure.3.24. Chromatogramme des anions chez *Ajuga iva*.

Les résultats révèlent que *A.iva* contient des éléments minéraux essentiels pour son développement, tels que les macronutriments : sodium, potassium, magnésium, calcium et sulfate, et les micronutriments : chlorure.

Nous remarquons aussi que le potassium occupe la première place avec une teneur de 0,76%, suivi par le sodium à 0,50% et le sulfate à 0,41%, puis le calcium et le chlorure à 0,26% et 0,23% respectivement et enfin le magnésium à 0,06%.

Ces éléments possèdent des fonctions importantes chez la plante, vu qu'ils entrent dans la composition de la paroi cellulaire (oxalate de calcium), de certaines protéines et acides aminés (Vitamines et soufre) et de la chlorophylle (Magnésium), et que certains agissent comme activateurs d'enzymes (Potassium, chlorure) [426].

Cette richesse en éléments minéraux essentiels, justifie peut-être la large distribution de l'espèce *A.iva* jusqu'aux zones arides et semi-arides, où elle s'adapte parfaitement avec la dureté du climat.

Tableau.3.3. Composition minérale d'*A.iva*

Cations				
Pic	Temps de rétention	Minéraux	Concentration (ppm)	Teneur dans 100 g de plante (%)
1	4,22	Sodium	4,162	0,50
2	5,81	Potassium	6,306	0,76
3	9,32	Magnésium	0,497	0,06
4	11,55	Calcium	2,177	0,26
Anions				
1	5,09	Chlorure	1,935	0,23
2	8,84	n.i.	n.i.	n.i.
3	9,62	Sulfate	3,432	0,41

Mis à part les rôles essentiels attribués à ces éléments dans le développement des végétaux, selon THOMAS et KRISHNAKUMARI, [427], il est très important d'investiguer la composition minérale des plantes médicinales, car elle peut bien être à l'origine d'un effet pharmacologique.

D'après VERMANI et *al.*, [424], les minéraux jouent un rôle très important dans la lutte contre diverses maladies et processus dégénératifs. Ils peuvent également prévenir et réduire les dommages dus aux polluants environnementaux et améliorer la capacité de travail et d'apprentissage. Certains minéraux sont essentiels à une alimentation saine, comme le calcium, le phosphore, le potassium et le sodium. En effet, selon l'OMS, [428], Le calcium, le potassium et le magnésium sont des éléments nécessaires pour la réparation des tissus usés, des os et des dents solides et à la mécanisation du corps humain.

D'autres études ont aussi montré l'importance des minéraux tels que le sodium, le potassium, le magnésium, le calcium, le manganèse, le cuivre, le zinc et l'iode, dans la réduction des risques liés aux maladies [429] ; [430].

3.3.3. Screening phytochimique préliminaire

Les résultats des tests colorimétriques en tubes dans le **Tableau.3.4**, révèlent la présence de différents métabolites secondaires dans l'extrait d'*A.iva*. La réaction positive aux tanins, flavonoïdes, iridoïdes, composés réducteurs, mucilages et terpénoïdes est plus prononcée par rapport à celle des huiles volatiles, saponines, stérols et coumarines (**Figure.8. Appendice.I**). Le test se révèle négatif concernant les alcaloïdes, les glycosides et les quinones libres.

L'analyse phytochimique a permis de constater la présence de 2 grands groupes de métabolites secondaires : les composés phénoliques et les composés terpéniques.

Tableau.3.4. Screening phytochimique d'*Ajuga iva*

Principes actifs	Résultats
Tanins	Galliques +++
	Catéchiques +++
Flavonoïdes	+++
Saponines	+
Iridoïdes	+++
Composés Réducteurs	++
Mucilages	+++
Terpénoïdes	+++
Stérols	+
Huile volatile	+
Coumarines	+
Alcaloïdes	-
Glycosides	-
Quinones libres	-

- : Test négatif, + : Test faiblement positif,
 ++ : Test positif, +++ : Test fortement positif.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par HARIRI et OUIS, [431].

Plusieurs études chimiques antérieures avaient montré qu'*A.iva* est riche en métabolites secondaires tels que, les flavonoïdes, stéroïdes, terpènes, et ecdysones [313].

BENNAGHMOUCH *et al.* [322], ont isolé des parties aériennes d'*A.iva* du Maroc plusieurs flavonoïdes notamment la quercétine, la lutéoline, le chrysoériol, l'apigénine, la naringénine, le 5,5'- dihydroxy 7,4'-diméthoxyflavone et le 5,7-dihydroxy 4',5'diméthoxyflavone. En plus des flavonoïdes cités, GHEDIRA *et al.*, [323] ont isolé la Naringine et l'Apigénine 7-O néohespéridoside.

Des iridoïdes (Harpagide ; 6-désoxyharpagide ; 8-O-acétylharpagide) ont été isolés aussi par ASSAAD *et al.*, [324].

3.3.4. Étude des principes actifs d'*A.iva*

3.3.4.1. Étude des composés volatils

3.3.4.1.1. Extraction et rendement de l'huile essentielle (HE)

L'HE extraite par hydrodistillation à partir des parties aériennes d'*A.iva* est de couleur orange foncé, avec un rendement de $0,16 \pm 0,02$ % (**Tableau.3.5**) et (**Figure.3.25**).

Ce rendement est relativement faible malgré l'odeur très forte que dégage cette espèce mais, il peut varier selon la région de récolte, le facteur climatique ainsi que le procédé d'extraction.

Tableau.3.5. Rendement, caractères physicochimiques et organoleptiques de l'HE

Indice de réfraction	1,46133
T ambiante	Semi solide
Aspect + 4	Solide
-18	Congelée
Couleur	Orange foncé
Odeur	Forte et plaisante
Rendement %	$0,16 \pm 0,02$

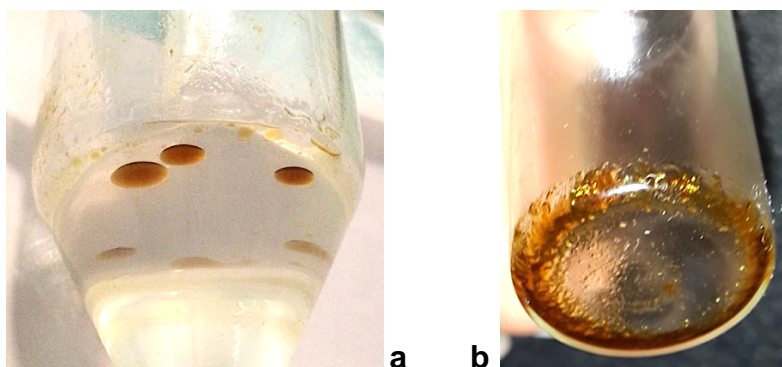


Figure.3.25. Huile essentielle d'*A.iva*. a) dans l'essencier du Clevenger. b) collectée dans un flacon (**Originale, 2015**).

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par les deux auteurs ayant précédemment rapporté le faible rendement de leurs extractions par hydrodistillation, lors de leurs travaux sur la même espèce. En Lybie, le rendement obtenu par EL-HAWARY *et al.*, [342] était de 0,5%, et celui obtenu par CHOUITAH *et al.*, [432] en Algérie était de 0,33%.

Selon une étude réalisée en Turquie par KOCABAS ET KARAMAN, [292], le genre *Ajuga* était classé dans le groupe des genres pauvres en huile essentielle. En effet, les résultats de plusieurs auteurs le confirment, tel que BASER *et al.*, [433] de Turquie, avec un rendement de 0,1% pour *Ajuga bombycina* ; VOHRA et KHOR, [434] du Pakistan avec 0,2% pour *Ajuga bracteosa* ; ARDEKANI *et al.*, [435] d'Iran avec 0,3% pour *Ajuga chamaecistus* subsp. *tomentella* ; MITIĆ *et al.*, [436] de Serbie avec 0,05% pour *Ajuga chamaepitys* ssp. *chia Arcangeli* ; KÜÇÜKBEY *et al.*, [437] de Turquie avec 0,02% pour *Ajuga orientalis* et MOVAHHEDIN *et al.*, [438] d'Iran avec 0,3 % pour *Ajuga chamaecistus* subsp. *scoparia*.

3.3.4.1.2. Composition de l'huile essentielle

L'analyse de l'HE d'*A.iva* par CG-MS, a permis d'obtenir le chromatogramme représenté dans la **Figure.3.26**.

Le chromatogramme comporte 51 pics au total. Chaque pic est soumis à une analyse par spectrophotométrie de masse, permettant ainsi d'identifier plusieurs molécules grâce à leur spectre de masse (**Figures.9 à 14. Appendice.I**) répertoriés dans plusieurs bases de données. La composition est détaillée dans le **Tableau.3.6**.

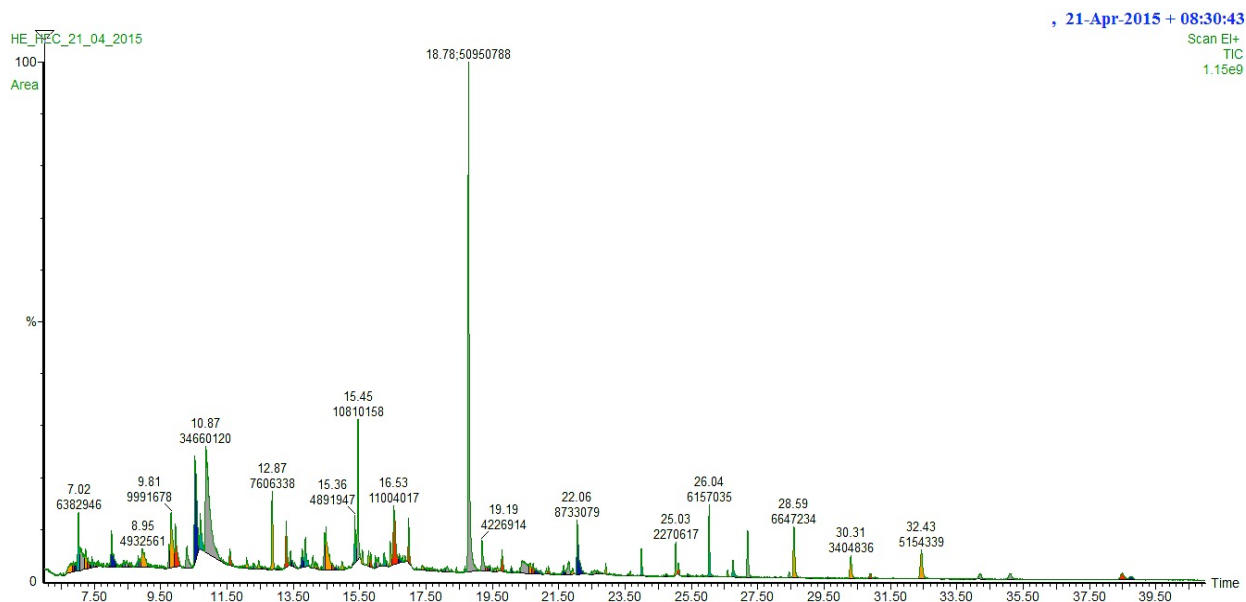


Figure.3.26. Chromatogramme de la CG-MS de l'HE d'*A.iva*.

41 composants majeurs et mineurs, représentant 99,30% de la composition de l'HE d'*A.iva* sont identifiés.

Les composants majeurs sont l'Hexahydrofarnesyl acetone ou phytone (18,21%), le thymol (12,39%), l'anéthol (6,79%), le β -tumerone (3,93%), le (-)-Caryophyllene oxide (3,86%), le carvone (3,57) et le phytol (3,12%). Le pourcentage du reste des composants varie de 2,72% pour le caryophyllene à 0,10% pour le nonadecane.

Tableau.3.6. Composition chimique de l'HE d'*A.iva*

TR	Composant	Aire %
7,0	Linalool	2,28
8,0	Camphor	1,89
8,8	α -terpineol	0,43
8,9	Estragol	1,76
9,8	Cuminaldehyde	0,71
9,8	Carvone	3,57
10,0	Lavandulol	2,27
10,3	Benzoic Acid	1,35
10,5	(E)-Anethole	6,79
10,7	Thymol	1,95
10,9	Thymol	12,39
11,6	α -terpinyl acetate	0,68
12,1	Copaene	0,42

12,9	(E)-Caryophyllene	2,72
13,3	Triacotane	1,78
13,4	α -humulene	0,47
13,8	α -curcumene	0,76
13,9	Trans-beta-Ionone	1,51
14,1	α -Muurolene	0,43
14,5	trans-[2-(E,E-Penta-1,3 dienyl) cyclohexyl] dimethyl maleate	3,05
15,0	(-)-Caryophyllene oxide	0,38
15,4	(-)-Spathulenol	1,75
15,5	(-)-Caryophyllene oxide	3,86
15,8	Ledol	0,49
15,8	15-Oxabicyclo (12.1.0) pentadeca-6,10-diene-7-methanol, 5hydroxy-1,11-dimethyl	0,51
16,0	Apiole	0,40
16,2	τ -Cadinol (Cedrelanol)	0,60
16,4	11,14,17-Eicosatrienoic acid, methyl ester	0,94
16,5	β -Turmerone	3,93
16,8	Nonadecane	0,18
17,0	Hexacosanol	1,31
18,8	Hexahydrofarnesyl acetone	18,21
19,2	isobutyl phthalate	1,51
19,8	(E,E)-Farnesyl acetone	0,86
20,1	Tricosane	0,25
21,2	4-epidehydroabietal	0,31
21,8	2-tetradecynal,4-hydroxy	0,77
21,8	Nonadecane	0,10
22,1	Phytol	3,12
22,9	Hexatriacontane	0,33
24,0	Pentatriacontane	0,80
25,0	Pentatriacontane	0,81
26,0	Tetracosane	2,20
27,2	Tetratetracontane	1,74
28,6	Pentatriacontane	2,38
30,3	2-Methyloctacosane	1,22
32,4	Tetratetracontane	1,84
35,1	Pentatriacontane	0,53
38,5	Pentatriacontane	0,73
Total		99,30
Total diterpènes oxygénés		3,43
Total monoterpènes oxygénés		34,74
Total hydrocarbures sesquiterpènes		4,80
Total sesquiterpènes oxygénés		31,60
Total hydrocarbures non-terpéniques		14,89
Total hydrocarbures non- terpéniques oxygénés		9,84

Le profil chimique de l'HE d'*A.iva* diffère qualitativement et quantitativement de celui rapporté par les deux seuls auteurs ayant travaillé sur l'HE de la même espèce, EL-HAWARY et *al.*, [342] de Libye et CHOUITAH et *al.*, [432] d'Algérie. Cependant, nous avons trouvé quelques composants communs (**Tableau.3.7**).

En effet, les composants majeurs retrouvés par EL-HAWARY et *al.*, [342] étaient le Carvacrol (35,07%), le *n*-Octadecane (10,06%) et le Methyl chavicol (6,50%), et ceux retrouvés par CHOUITAH et *al.*, [432] étaient le Di-(2-ethylhexyl) phthalate Dienestrol (54,04%), l'eucalyptol (12,27%), le Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)- (CAS) *o*-Xylene (7,98%).

Bien que les trois HE possèdent des composants en commun, le taux de la majorité d'entre eux est plus élevé dans l'HE de notre plante (**Tableau.3.7**).

Tableau.3.7. Comparaison de la composition des HE d'*A.iva* avec la littérature

Auteurs	Composants majeurs	Composants communs
<i>Ajuga iva</i>	<ul style="list-style-type: none"> - l'Hexahydrofarnesyl acétone (18,21%), - Thymol (12,39%) - Anéthol (6,79%) - β-tumerone (3,93%) - (-)-Caryophyllene oxide (3,86%) - Carvone (3,57%) - phytol (3,12%) 	<ul style="list-style-type: none"> - Thymol (12,39%) - E-Caryophyllene (2,72%) - Carvone (3,57%) - Linalool (2,28%) - (-)-Spathulenol (1,75%)
EL-HAWARY et <i>al.</i>, [342] (Lybie)	<ul style="list-style-type: none"> - Carvacrol (35,07%), - <i>n</i>-Octadecane (10,06%) - Methyl chavicol (6,50%) 	<ul style="list-style-type: none"> - Thymol (0,73%) - E-Caryophyllene (0,56%) - Carvone (2,14%) - Linalool (1,51%) - Spathulenol (3,24%)
CHOUITAH et <i>al.</i>, [432] (Algérie)	<ul style="list-style-type: none"> - Di-(2-ethylhexyl) phthalate Dienestrol (54,04%) - Eucalyptol (12,27%) - Benzene, 1,2-dimethoxy-4(2-propenyl)- (CAS) <i>o</i>-Xylene (7,98%) - 9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester (CAS) 1-Octadecanol (5,80%) - 3-carene (4,46%). 	<ul style="list-style-type: none"> - (-)-Spathulenol (1,77%)

Plusieurs des composants de l'HE de notre étude sont retrouvés (avec leurs isomères) dans les HE de différentes espèces du genre *Ajuga* et avec des pourcentages différents tel que le (E)- β -Caryophyllène (30,9%) et le caryophyllène oxide (24,9%) dans l'HE d'*Ajuga comata* d'Iran [439] ; le linalool (14,5%) dans *Ajuga chamaeipytis* ssp. *Chamaecistus* d'Iran [440] ; γ -murrène (40,3%) dans *Ajuga chamaeipytis* ssp. *chamaeipytis* d'Espagne [441] ; β -Caryophyllène dans *Ajuga orientalis* d'Iran [442] ; le phytol dans *Ajuga orientalis* de Turquie [437] ; caryophyllène oxide (6,8%) et Hexahydrofarnésyl acetone (6,5%) dans *Ajuga austro-iranica* d'Iran [443] ; β -Caryophyllène, γ -murrène, caryophyllène oxide, α -humulène dans *Ajuga parviflora* d'Inde [444].

Par ailleurs, les résultats de notre étude révèlent que l'HE d'*A.iva* est riche en sesquiterpènes (36,40%), monoterpènes oxygénés (34,74%) et en hydrocarbures (24,73%). Elle contient aussi des diterpènes oxygénés, représentés par le 4-épidehydroabietal et le phytol, mais avec un très faible pourcentage (3,43%).

Nos résultats diffèrent de ceux d'EL-HAWARY et *al.*, [342], où les monoterpènes étaient plus abondants avec un pourcentage de 52,33%, suivis par les hydrocarbures à 27,63% et enfin les sesquiterpènes à 19,44%.

Dans l'étude de MOTHANA et *al.*, [445], sur l'HE d'*Ajuga bracteosa* du Yémen, les monoterpènes étaient également plus abondants avec un pourcentage de 34,2%.

Même constat pour d'ARDEKANI et *al.*, [435]. Les monoterpènes étaient beaucoup plus abondants avec un pourcentage de 74,82% chez *Ajuga Chamaecistus* ssp *tomentella*,

En raison du manque de données suffisantes sur l'HE d'*A.iva*, il n'est pas évident de déterminer les facteurs qui peuvent influencer sur sa composition chimique. Cependant, ces différences pourraient être dues soit à des facteurs environnementaux (climat, saison, altitude, période de collecte et composition du sol) ou bien des facteurs génétiques.

D'après BURBOTT et LOOMIS, [446], les plantes exposées à beaucoup de lumière et à une température élevée produisent beaucoup plus d'HE et une longue période de chaleur provoque une augmentation du taux de matière sèche par plante et donc de la teneur en HE.

EL-KELTAWI et CROTEAU, [447] ; [448] ont montré que la formation d'HE est liée aux régulateurs génétiques, par un effet direct sur le métabolisme des monoterpènes et sur les niveaux d'activité des enzymes biosynthétiques.

3.3.4.2. Étude des composés non volatils

3.3.4.2.1. Résultats des extractions

Les résultats dans le **Tableau.3.8.** révèlent que le rendement des extractions avec les solvants polaires est plus élevé que celui obtenu avec le solvant apolaire. Il est plus élevé pour la décoction aqueuse ($16,08 \pm 0,23\%$) par rapport à l'extraction par l'éthanol ($10,37 \pm 0,13\%$) et l'éther de pétrole ($3,27 \pm 0,06\%$).

Tableau.3.8. Résultats de l'extraction des principes actifs d'*A.iva*

Solvant	Éther	Éthanol	Eau
Type d'extraction	Soxhlet	Soxhlet	Décoction
Aspect (Figure.5.Appendice.I)	Huileux	Pâteux	Floconneux
Couleur (Figure.5.Appendice.I)	Marron foncé	Vert foncé	Marron clair
Rendement %	$3,27 \pm 0,06$	$10,37 \pm 0,13$	$16,08 \pm 0,23$

En général, la teneur en extrait sec peut varier d'une plante à une autre en fonction de plusieurs facteurs tels que, la nature des phytoconstituants, la méthode, la température et le solvant d'extraction, etc.

Nos résultats concordent avec une légère différence avec ceux de MAKNI et *al.*, [328] qui ont obtenu un rendement en extrait méthanolique ($15,00 \pm 1,70\%$) légèrement plus élevé par rapport à l'extrait aqueux ($12,40 \pm 1,90\%$), et différent de ceux d'EL-HILALY et *al.*, [9] concernant l'extrait aqueux (25% p/p).

Plusieurs études ont démontré que le rendement dépend du solvant et de la technique d'extraction [449] ; [450] et que l'extraction à température élevée permettait d'obtenir un meilleur rendement [451] ; [452] et aussi, que l'eau extrait mieux que les alcools absolus [351] ; [353] ; [354]. Ce qui est en accord avec nos résultats.

3.3.4.2.2. Dosage des principes actifs

a. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits d'*A.iva* est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif vire du jaune au bleu plus ou moins intense, en fonction de la quantité de polyphénols présents dans l'extrait en solution.

La teneur en polyphénols totaux est calculée à l'aide de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (**Figure.15. Appendice.I.**) et elle est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ext).

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits d'*A.iva* varie largement avec une différence hautement significative ($p < 0,001$) en fonction du solvant utilisé.

En effet l'extrait éthanolique occupe la première place avec une teneur de $24,18 \pm 0,22$ mg EAG/g ext sec. Il est suivi par l'extrait aqueux avec $20,54 \pm 0,30$ mg EAG/g ext sec, puis en dernière position l'extrait éthéré avec une teneur de $2,45 \pm 0,15$ mg EAG/g ext sec (**Tableau.3.9**).

Tableau.3.9. Teneur en polyphénols totaux des extraits d'*A.iva*

Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g ext sec)		
E. Aqueux	E. Éthéré	E. Éthanolique
$20,54 \pm 0,30$ a,c	$2,45 \pm 0,15$ a,b	$24,18 \pm 0,22$ b,c

Les extraits avec une lettre en commun, présentent une différence significative ($p < 0,001$).

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par MAKNI et *al.*, [328], où la teneur en polyphénols dans l'extrait méthanolique d'*A.iva* de Tunisie, était de $25,69 \pm 2,60$ mg EAG/g ext sec et était plus élevée par rapport à l'extrait aqueux ($16,52 \pm 2,20$ mg EAG/g ext sec).

BYSTRICKA et *al.*, [455] ont signalé que la concentration et la dynamique de la synthèse des polyphénols dans les organes de la plante dépend de l'espèce, du type d'organe et aussi du stade de croissance de la plante.

Nos résultats sont similaires à ceux retrouvés par ALBAYRAK et *al.*, [456] chez les différentes espèces de la famille des Lamiaceae en Turquie (*Mentha piperita*, *Thymus vulgaris*, *Melissa officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Rosmarinus officinalis* et *Salvia officinalis*), avec des teneurs variant de $91,42 \pm 0,6$ mg EAG/g ext sec (*Mentha piperita*) à $111,03 \pm 0,6$ mg EAG/g ext sec (*Salvia officinalis*) dans l'extrait méthanolique, et de $20,06 \pm 0,1$ mg EAG/g ext sec (*Mentha piperita*) à $59,23 \pm 0,1$ mg EAG/g ext sec (*Rosemarinus officinalis*) dans l'extrait aqueux.

STANKOVIC, [457], avait rapporté que la teneur en polyphénols était plus élevée dans l'extrait méthanolique de *Marrubium peregrinum* ($49,27 \pm 0,815$ mg EAG/g d'ext sec) par rapport à l'extrait aqueux ($46,78 \pm 0,258$ mg EAG/g d'ext sec) et l'extrait éthéré ($27,44 \pm 0,556$ mg EAG/g d'ext sec).

Nos résultats concordent aussi avec ceux obtenus par STANKOVIC et *al.*, [453], qui ont noté que la teneur en polyphénols totaux était beaucoup plus faible dans l'extrait éthéré de *Teucrium montanum* L. var. *montanum*, f. *Supinum*, par rapport à l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique.

Cependant, il est à noter que le réactif de Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux polyphénols et peut également réagir avec des protéines, des sucres réducteurs, l'acide ascorbique et des composés soufrés [458].

b. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux dans les différents extraits d'*A.iva* est déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3), qui forme un complexe chromogène de couleur jaune avec flavonoïdes et dont l'absorbance maximale est à 415 nm.

La teneur en flavonoïdes totaux est calculée en s'aidant de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (**Figure.16. Appendice.I**), et elle est exprimée en milligrammes équivalent quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ext sec).

Les résultats dans le **Tableau.3.10.** montrent que l'extrait éthanolique est plus riche en flavonoïdes avec une teneur de $17,15 \pm 0,22$ mg EQ/g ext sec par rapport à l'extrait aqueux ($12,82 \pm 0,38$ mg EQ/g ext sec) et l'extrait éthéré ($1,37 \pm 0,26$ mg EQ/g ext sec), avec une différence très significative ($p < 0,001$).

Tableau.3.10. Teneur en flavonoïdes totaux des extraits d'*A.iva*

Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/g ext sec)		
E. Aqueux	E. Éthéré	E. Éthanolique
$12,82 \pm 0,38$ a,c	$1,87 \pm 0,19$ a,b	$17,15 \pm 0,22$ b,c

Les extraits avec une lettre en commun, présentent une différence significative ($p < 0,001$).

Les résultats obtenus concordent partiellement avec ceux de MAKNI et *al.*, [328] qui ont trouvé que chez *A.iva* de Tunisie, la teneur en flavonoïdes était plus élevée dans l'extrait méthanolique $3,00 \pm 0,30$ mg EQ/g ext sec que dans l'extrait aqueux $1,14 \pm 0,20$ mg EQ/g ext sec, mais avec des teneurs beaucoup plus faibles que celles obtenues dans notre étude.

D'après GAO et LIU, [459], la concentration en flavonoïdes dans les extraits de plantes dépend de la polarité des solvants utilisés pour leur extraction.

La teneur en flavonoïdes peut aussi varier significativement d'une espèce à une autre même au sein de la même famille, comme l'ont démontré SYTAR et *al.*, [460] avec différentes espèces de la famille des Lamiaceae de Slovaquie (*Stachys byzantina*, *Coleus blumei*, *Salvia officinalis*, *Salvia officinalis cv. Purpur*, *Mentha suaveolens* ; *Lavandula officinalis*, *Mentha spicata*, *Rosmarinus officinalis*, *Melissa officinalis*). En effet la teneur en flavonoïdes variait de $0,2 \pm 0,0002$ EQ/g ext sec chez *Melissa officinalis*, à $11,1 \pm 0,003$ EQ/g ext sec chez *Stachys byzantina*.

Nos résultats confirment ceux obtenus par STANKOVIC et *al.*, [453], qui avaient constaté que la teneur en flavonoïdes était plus importante dans l'extrait méthanolique de *Teucrium montanum L. var. montanum, f. Supinum* par rapport l'extrait aqueux et l'extrait éthéré.

STANKOVIC, [457] avait également démontré que l'extrait méthanolique de *Marrubium peregrinum* était plus riche en flavonoïdes ($54,77 \pm 0,598$ mg ER/g d'ext sec) que l'extrait aqueux ($18,78 \pm 0,417$ mg ER/g d'ext sec) et l'extrait éthéré ($22,92 \pm 0,386$ mg ER/g d'ext sec).

c. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés dans les différents extraits d'*A.iva* est réalisé en utilisant le réactif Folin Denis, qui vire du jaune au bleu suite à la réduction de l'acide phosphomolybdique et tungstique en milieu alcalin, en oxyde de tungstène et de molybdène en présence de tanins condensés.

La concentration en tanins condensés est calculée à l'aide de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide tannique (**Figure.17. Appendice.I**), et elle exprimée en milligrammes équivalent acide tannique par gramme d'extrait sec (mg EAT/g ext sec).

Les résultats dans le **Tableau.3.11.** révèlent la présence de tanins dans les trois extraits d'*A.iva* avec des teneurs significativement différentes ($p < 0,001$). L'extrait aqueux se révèle le plus riche avec $8,21 \pm 0,12$ mg EAT/g ext sec. Il est suivi

par l'extrait éthanolique avec $4,45 \pm 0,12$ mg EAT/g ext sec et enfin l'extrait éthéré avec une teneur de $0,09 \pm 0,02$ mg EAT/g ext sec.

Tableau.3.11. Teneur en tanins condensés des extraits d'*A.iva*

Teneur en tanins condensés (mg EAT/g ext sec)		
E. Aqueux	E. Éthéré	E. Éthanolique
$8,21 \pm 0,12$ a,c	$0,09 \pm 0,02$ a,b	$4,45 \pm 0,12$ b,c

Les extraits avec une lettre en commun, présentent une différence significative ($p < 0,001$)

Nos résultats concordent avec ceux de MAKNI et *al.*, [328], qui ont constaté la présence de tanins condensés dans les extraits d'*A.iva* de Tunisie, mais avec une teneur beaucoup plus élevée dans l'extrait méthanolique avec $19,60 \pm 2,90$ EC/g d'ext sec et l'extrait aqueux avec $16,10 \pm 3,30$ EC/g sec.

Plusieurs études ont signalé la présence de tanins condensés avec des teneurs plus ou moins importantes chez des espèces de la famille des Lamiaceae.

En effet DHULL et *al.*, [461] ont trouvé dans l'extrait éthanolique d'*Origanum majorana*, une teneur en tanins condensés ne dépassant pas les 2,5 mg EC/g d'extrait sec.

Même constat avec les travaux d'OBIERO, [462] où la teneur en tanins condensés était faible dans l'extrait aqueux et méthanolique de *Plectranthus barbatus* du Kenya.

3.3.4.2.3. Analyse de l'extrait apolaire par CG-MS

L'analyse de l'extrait éthéré d'*A.iva* par CG-MS nous a permis d'obtenir le chromatogramme représenté dans la **Figure.3.27**.

Le chromatogramme de l'extrait éthéré comporte plusieurs pics, dont chacun a été soumis à une analyse par spectrophotométrie de masse permettant ainsi d'identifier plusieurs molécules grâce à leur spectre de masse répertoriés dans la

base de données NIST 11 et le calcul de l'indice de Kovats. La composition de l'extrait étheré est résumée dans le **Tableau.3.12**.

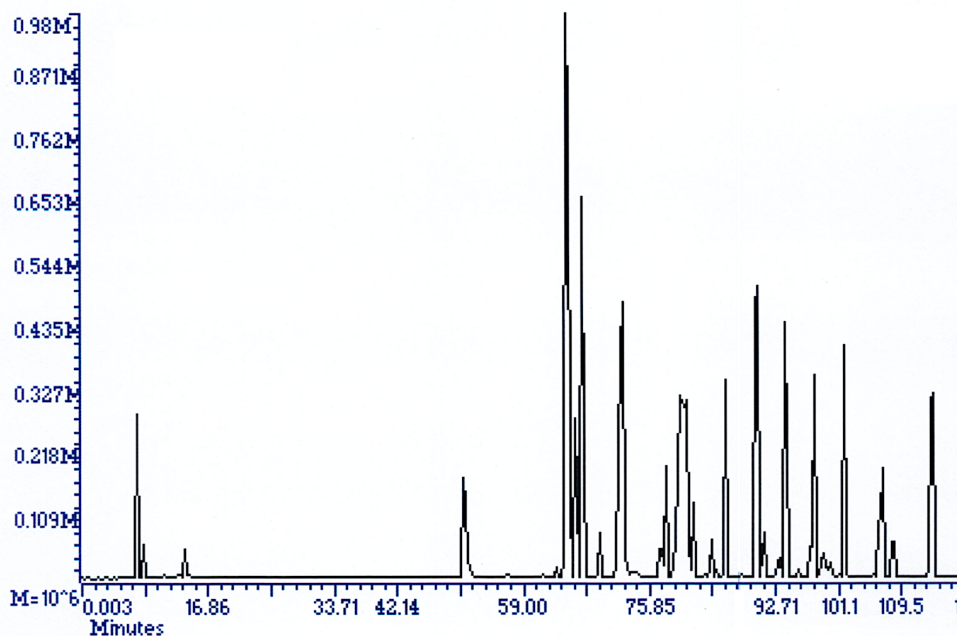


Figure.3.27. Chromatogramme de la CG-MS de l'extrait étheré d'*Ajuga iva*.

27 composants représentant 86,33% de la composition de l'extrait étheré d'*A.iva* sont identifiés.

Les composants majeurs de l'extrait étheré sont le phytol (21,35%), l'acide linoléique (15,11%), le dihydrophytol (8,47%), le l'isophytol (6,91%), l'acide adipique ester (4,98%), l'heptacosane (4,71) et le pentacosane (4,06%). Le pourcentage du reste des composants varie de 2,83% pour le tricosane jusqu'à l'état de traces, comme pour le 2-(2-Hydroxypropoxy)-1-propanol (0,03%).

Tableau.3.12. Composition chimique de l'extrait étheré d'*A.iva*

TR	KI	Composant	Aire %
7,5	904	Nonane	2,16
8,36	919	2-Methylheptan-4-one	0,33
12,94	1002	Ethyl 2-hydroxybutanoate	0,03
13,22	1006	2-(2-Hydroxypropoxy)-1-propanol	0,03
13,89	1015	Bis-(2-hydroxy-propyl)-ether	0,39
50,93	1573	Tridecenol (2E)	2,24

51,97	1591	Hexadecene-1	0,07
61,63	1773	Myristic acid	0,04
63,4	1809	Hexadecanal	0,16
64,32	1827	Loric acid, isopentyl ester	0,22
64,71	1835	Phytol	21,35
65,91	1859	Isophytol	6,91
66,83	1878	Dihydrophytol	8,47
69,12	1923	2-Methyl-hexanoic acid (Caproic acid méthylé)	0,62
72,63	2002	Eicosane	0,42
73,61	2021	Hexadecanoic acid (Acide palmitique)	0,08
77,24	2094	Heneicosane	0,32
79,98	2157	Linoleic acid	15,11
81,1	2183	Stearic acid	0,68
81,69	2197	Dodecane	0,9
83,99	2253	Stearic acid vinyl ester	0,38
85,94	2300	Tricosane	2,83
90,043	2389	Adepic acid di(2-Ethylhexyl) ester	4,98
91,15	2418	Oleic acid, 2-Hydroxyethyl ester	0,5
93,94	2499	Pentacosane	4,06
101,78	2692	Heptacosane	4,71
		Autres hydrocarbures lourds	8,34
Total			86,33
Acides gras			22,61
Terpènes			36,73
Hydrocarbures			26,99

Les résultats révèlent que l'extrait éthéré est riche en terpènes (36,73%), plus précisément les diterpènes tel que le phytol. Il est constitué aussi d'acides gras (22,61%) et d'hydrocarbures (26,99%).

Nos résultats concordent avec ceux de KOURI *et al.*, [464], qui ont constaté la prédominance des terpènes dans la composition de l'extrait éthéré d'*Origanum dictamnus*, avec un taux de 58,42%. Le carvacrol était le composant majoritaire avec 44,97%.

D'après MACH, [463], le phytol issu de la dégradation de la chlorophylle, est essentiel à la biosynthèse des tocophérols (vitamines E) qui protègent les lipides des végétaux des dommages oxydatifs.

Nous constatons aussi que les acides gras dans l'extrait étheré d'*A.iva* sont en majorité des acides gras saturés tel que, l'acide myristique, l'acide stéarique, l'acide palmitique, l'acide laurique et l'acide caproïque.

Des résultats similaires ont été obtenus par MOTAWA *et al.*, [465], qui ont noté que 61,1% des acides gras dans l'extrait étheré de *Nepeta cataria* étaient des acides gras saturés, principalement l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide myristique, l'acide arachidique, l'acide docosanoïque, l'acide laurique, l'acide lignocérique et l'acide hexacosanoïque.

3.4. Activités biologiques

3.4.1. Activité antimicrobienne

3.4.1.1. Activité antimicrobienne des extraits

Les résultats dans le **Tableau.3.13.** montrent que toutes les souches microbiennes sont très sensibles aux antimicrobiens testés avec un diamètre compris entre $37,56 \pm 0,28$ mm et $50,95 \pm 0,26$ mm pour les champignons vis-à-vis du Lamidaz et entre $33,23 \pm 0,89$ mm et $40,29 \pm 0,21$ mm pour les bactéries vis-à-vis du Primazol.

L'action antimicrobienne des extraits aqueux et éthanolique qu'ils soient extraits à chaud ou à froid, se révèle très faible voire nulle vis-à-vis de la majorité des souches microbiennes testées.

En effet, toutes les souches microbiennes montrent une résistance totale vis-à-vis de la macération aqueuse et l'extrait aqueux à 100 mg/ml. Une très faible activité est observée avec l'extrait aqueux à 300 mg/ml avec une zone d'inhibition comprise entre $8,46 \pm 0,51$ mm pour *Escherichia coli* et $8,88 \pm 1,23$ mm pour *Salmonella spp.*

Même constat avec l'extrait éthanolique extrait à chaud. A 100 mg/ml, il se révèle inactif vis-à-vis de toutes les souches microbiennes, et un diamètre de $8,29\pm 0,38$ mm est observé avec à la dose de 300 mg/ml pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Par contre, nous observons une légère activité, considérée très faible avec l'extrait éthanolique extrait à froid, sur *Pseudomonas aeruginosa* ($9,65\pm 0,65$ mm) (**Figure.3.28**), *Bacillus subtilis* ($7,42\pm 0,15$ mm), *Staphylococcus aureus* ($8,19\pm 0,26$ mm) et *Candida albicans* ($9,03\pm 0,55$ mm).

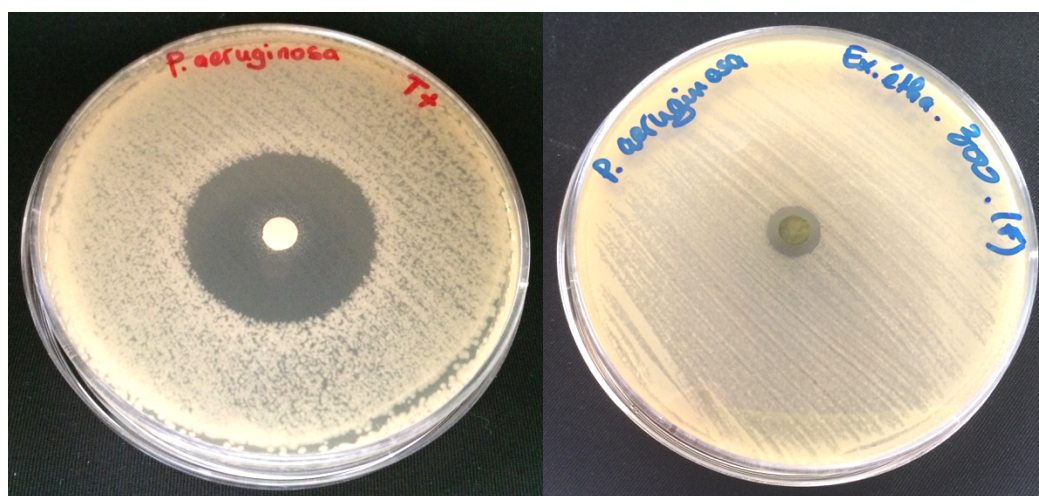


Figure.3.28. Zone d'inhibition. Primazol (T+) et macérât éthanolique d'*A.iva* (Originale, 2016).

Nos résultats confirment ceux obtenus par ZERROUG et *al.*, [326] qui ont constaté une activité nulle du macérât méthanolique d'*A.iva* d'Algérie, sur *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas diminutus*, et une activité assez faible du macérât méthanolique de *Teuricum polium* sur les mêmes espèces.

Dans les travaux de MAKNI et *al.*, [328], l'extrait aqueux d'*A.iva* exerçait une activité très faible sur les souches, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus niger* et *Fusarium*. Même constat pour l'extrait méthanolique sauf pour les espèces, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Fusarium*, où la zone d'inhibition était de 27,20 et 18 mm respectivement.

En utilisant différentes méthodes d'extraction aqueuses (infusion, décoction, macération et percolation), BOUABDELLI et *al.*, [327], ont observé une activité antibactérienne d'*A.iva* uniquement pour sa décoction et seulement sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, avec un diamètre de 18 et 17 mm respectivement. Les autres extraits étaient soit inactifs ou bien leur activité était très faible.

Les polyphénols et les flavonoïdes sont connus pour être synthétisés par les plantes en réponse à des infections microbiennes [468]. On leur attribue aussi plusieurs propriétés biologiques, notamment les propriétés antimicrobiennes [469] ; [30] ; [470].

Vu la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits de la plante étudiée, nous nous attendions à ce qu'une activité antimicrobienne leur soit liée.

Les résultats sont peut-être influencés par les méthodes d'extractions inadaptées à l'extraction de certaines substances actives antimicrobiennes, telles que les iridoïdes, qui ne peuvent être isolés que par l'extraction à l'eau chaude sous pression [471].

3.4.1.2. Activité antimicrobienne de l'HE

Le potentiel antimicrobien de l'HE d'*A.iva* est évalué qualitativement par la présence ou non de zone d'inhibition et quantitativement par détermination de la CMI et CMB.

L'HE d'*A.iva* étudiée exerce un effet antibactérien sur toutes les bactéries utilisées (**Tableau.3.13**). Cependant, les plus grandes zones d'inhibition sont observées pour les souches *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de $28,91 \pm 0,01$ mm et *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de $27,74 \pm 0,03$ mm. Pour les autres bactéries, le diamètre est de $25,74 \pm 0,04$ mm pour *Salmonella spp.*, $23,55 \pm 0,04$ mm pour *Escherichia coli* et enfin $19,61 \pm 0,02$ mm pour *Bacillus subtilis*.

D'après nos résultats, les valeurs les plus faibles de la CMI et de la CMB sont observées pour *Pseudomonas aeruginosa* (CMI = 0,03% v/v et CMB = 0,06 % v/v), elles sont suivies par celles de *Staphylococcus aureus* (CMI = 0,125% v/v et CMB = 0,25 % v/v), *Salmonella spp.* (CMI = 0,125% v/v et CMB = 0,5 % v/v), *Bacillus subtilis* (CMI = 0,25% v/v et CMB = 0,5 % v/v) et enfin *Escherichia coli* (CMI = 0,25% v/v et CMB = 1 % v/v).

Les résultats obtenus révèlent une activité antibactérienne remarquable de l'HE d'*A.iva* sur les bactéries gram positif et gram négatif.

Cette activité est peut-être due à la richesse de l'HE en composants bioactifs, dont l'activité antibactérienne a été prouvée par plusieurs études tels que l'hexahydrofarnésyl acétone [472], le thymol [473] ; [474] ; [475], l'anéthole, le carvone [476] ; [478] ; [479] et le Linalool [479], etc.

Il est à souligner qu'il est possible que des composés mineurs contribuent de manière importante à l'activité antimicrobienne des HE par un effet synergique [480] ; [481].

Nos résultats confirment ceux obtenus par AYARI et *al.*, [329], qui ont noté une bonne activité antibactérienne de l'HE d'*A.iva* de Tunisie sur plusieurs souches bactériennes notamment *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Une bonne activité antibactérienne de l'HE d'*A.iva* d'Algérie a été également rapportée par CHOUITAH et *al.*, [432] sur les souches *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*.

Tableau.3.13. Activité antimicrobienne d'*A.iva*

Souche microbienne	Zone d'inhibition (mm)												CMI % (v/v)	CMB % (v/v)	
	Extraits <i>Ajuga iva</i> (mg/ml)									Témoin négatif		Témoin positif			
	Extraction à chaud					Extraction à température ambiante				Eau distillée stérile	DMSO	ATB			ATF
	Ethanol 100	Ethanol 300	Aqueux 100	Aqueux 300	Huile essentielle	Ethanol 100	Ethanol 300	Macération Aqueuse 10%							
Gram -															
<i>E.coli</i>	0,00	0,00	0,00	8,46± 0,51	23,55 ±0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	39,21±0,8	/	0,25	0,5
<i>P.aeruginosa</i>	0,00	8,29±0,38	0,00	0,00	28,91±0,01	8,29±0,55	9,65 ± 0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	33,23±0,89	/	0,015	0,03
<i>Salmonella spp.</i>	0,00	0,00	0,00	8,88±1,23	25,74±0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	39,73±1,82	/	0,125	0,5
Gram +															
<i>B.subtilis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	19,61±0,02	0,00	7,42 ±0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	40,29 ±0,21	/	0,25	1
<i>S.aureus</i>	0,00	0,00	0,00	8,58±0,02	27,74±0,03	0,00	8,19±0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	39,41±0,17	/	0,06	0,25
Levure															
<i>C.albicans</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	/	0,00	9,03 ± 0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	/	35,56±0,28	/	/
Moisissure															
<i>A.niger</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	/	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	/	50,9±0,26	/	/

3.4.2. Activité antioxydante

3.4.2.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

L'activité antiradicalaire des différents extraits et de l'HE d'*A.iva* est évaluée par spectrophotométrie en mesurant l'absorbance de la réduction du radical libre DPPH, de sa couleur violette à une couleur jaune (**Figure.3.29**), en fonction des différentes concentrations des extraits et de l'HE. Plus le radical est réduit plus l'absorbance sera moindre.

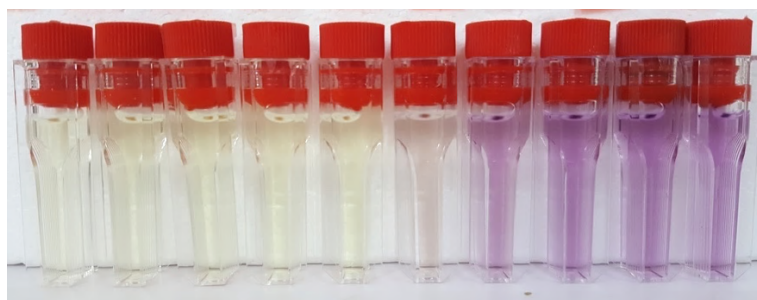


Figure.3.29. Réduction du DPPH par l'acide ascorbique (**Originale, 2018**)

L'activité antiradicalaire des différents extraits et de l'HE d'*A.iva* est comparée à celle des standards (l'acide ascorbique, α -tocophérol et quercétine) testés dans les mêmes conditions que les extraits et l'HE (**Figures. 5, 6, 7. Appendice.J**).

La **Figure.3.30.** représente les pourcentages d'inhibition du DPPH par différents extraits et l'HE d'*A.iva* en fonction de leurs concentrations.

Globalement, tous les extraits et l'HE ont réagi avec le DPPH et ont engendré une réduction plus ou moins importante de l'absorbance à 517 nm.

Les résultats montrent que l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique exercent une activité antioxydante très importante. Ils dépassent tous les deux un pourcentage de 70% à des concentrations de l'ordre de 5 mg/ml pour l'extrait éthanolique et 0,625 mg/ml pour l'extrait aqueux. Les deux extraits présentent un pourcentage d'inhibition plus élevé que celui de l'extrait éthéré, dont le pourcentage d'inhibition n'est que de 63,91% à la concentration de 5 mg/ml (**Tableau.1. Appendice.J**).

Quant à l'HE, son pourcentage d'inhibition dépasse les 50% à la concentration de 0,125 mg/ml pour atteindre 84,524% à la concentration de 0,25 mg/ml. Ce qui fait d'elle la plus active par rapport aux les extraits.

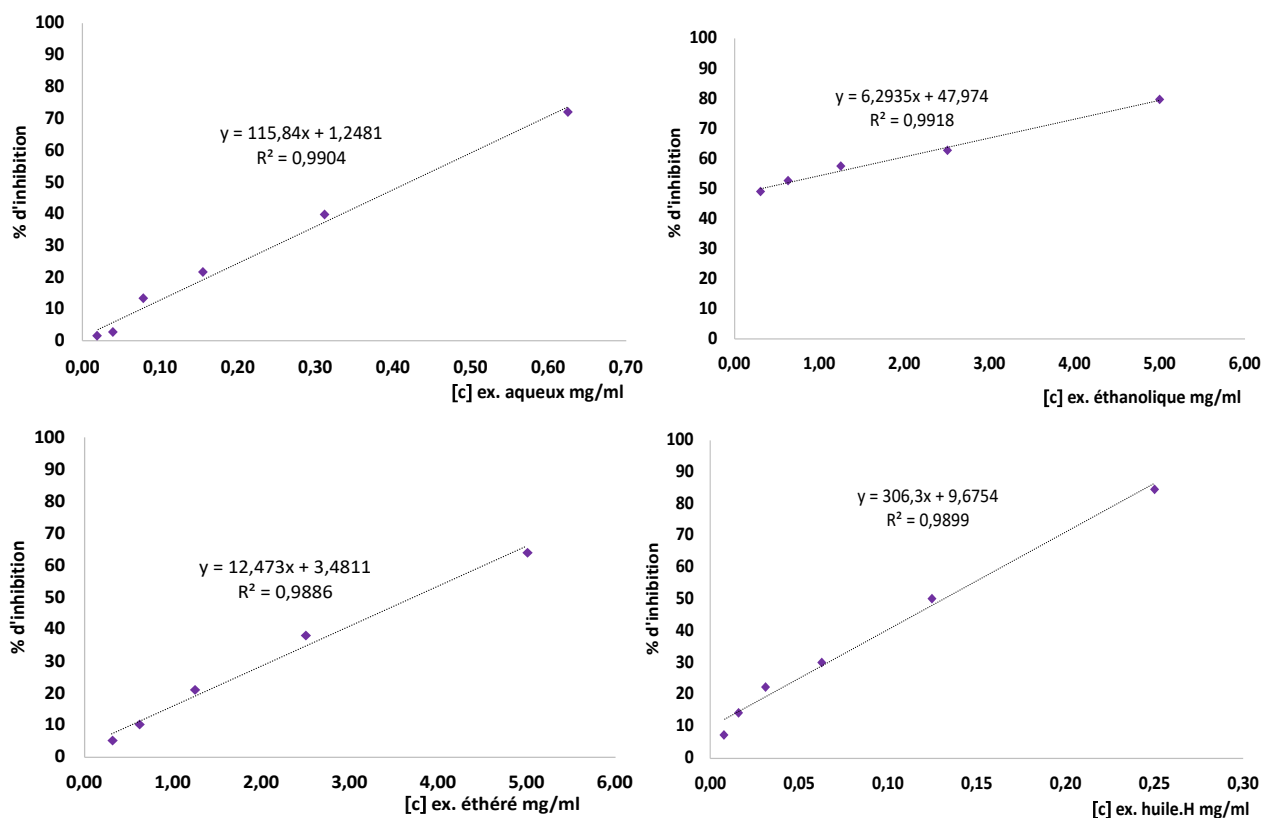


Figure.3.30. Pourcentage d'inhibition du DPPH : extrait aqueux, éthanolique, étheré et l'huile essentielle d'*Ajuga iva*.

Pour mieux apprécier l'activité antiradicalaire, la IC_{50} qui est la concentration nécessaire pour réduire le DPPH de 50%, ainsi que le pouvoir antiradicalaire (ARP) sont calculés pour chaque extrait et l'HE.

La IC_{50} et l'ARP des standards sont également calculés afin de pouvoir faire une comparaison et situer l'activité antiradicalaire d'*A.iva* par rapport à eux.

D'après les résultats du **Tableau.3.14**, la quercétine montre une activité antiradicalaire très puissante avec une IC_{50} de 0,003 mg/ml. Elle est suivie par l' α -tocophérol avec une IC_{50} de 0,017mg/ml et l'acide ascorbique avec 0,027 mg/ml.

Tableau.3.14. IC₅₀ et ARP des extraits et de l'HE d'*A.iva* et des standards

		IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
Extrait	Ex aqueux	0,420	2,376
	Ex éthanolique	0,911	1,097
	Ex éthéré	3,730	0,268
	Huile essentielle	0,131	7,594
Standards	Acide ascorbique	0,027	27,160
	α -tocophérol	0,017	57,971
	Quercetine	0,003	312,265

D'après les valeurs de la IC₅₀ et du ARP calculées, l'HE s'est montrée la plus puissante avec une IC₅₀ de 0,131 mg/ml. Pour les extraits, l'extrait aqueux se place en premier avec une IC₅₀ de 0,420 mg/ml, suivi par l'extrait éthanolique avec une IC₅₀ de 0,911 mg/ml et enfin la plus faible IC₅₀ (3,73 mg/ml) revient à l'extrait éthéré.

Le pouvoir réducteur d'un composé peut être un indicateur significatif de son activité antioxydante [482] vu qu'il est lié à sa capacité de faire don d'électrons à des espèces de radicaux libres et les réduire en une forme plus stable et non réactive [483].

Il a été précédemment rapporté que les polyphénols sont des donateurs efficaces d'atome d'hydrogène au radical DPPH en raison de leurs structures chimiques idéales, ce qui fait d'eux d'excellents antioxydants [484] ; [485].

D'après les travaux de MAKNI et *al.*, [328], les extraits d'*A.iva* de Tunisie possèderaient une puissante activité antiradicalaire comparable au BHA, un antioxydant synthétique utilisé comme standard.

Une excellente activité antiradicalaire de différents extraits d'*A.iva* d'Algérie a été rapportée aussi par BAGHIANI et *al.*, [486].

En étudiant l'activité antiradicalaire d'*A.iva* récoltée de trois régions différentes de Tunisie, SAADAOUÏ et *al.*, [487] ont constaté une très bonne activité antiradicalaire qui variait en fonction de la région de récolte, avec des pourcentages d'inhibition allant de 10% à 25% environ pour une concentration de 1,66 mg/ml.

KHALED-KHODJA et *al.*, [488] ont aussi noté une bonne activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique d'*Ajuga iva* avec une IC₅₀ de 1,168 mg/ml.

On pense également que les composés phénoliques sont capables de régénérer l' α -tocophérol endogène, sous sa forme antioxydante active. Ils sont connus pour inhiber divers types d'enzymes oxydantes. Ces mécanismes potentiels d'action antioxydante font de ces composés une cible intéressante dans la recherche de composés phytochimiques bénéfiques pour la santé [488] ; [489].

Dans ce contexte, plusieurs études avaient signalé l'activité antioxydante des extraits d'*A.iva* par des essais *in vivo*.

CHENNI et *al.*, [331] ont démontré que l'extrait aqueux d'*A.iva* diminuait les dégâts provoqués par le stress oxydatif chez les rats traités par des doses élevées de cholestérol.

BOUDERBALA et *al.*, [333] ont montré aussi que l'extrait aqueux lyophilisé d'*A.iva* réduisait le stress oxydant et diminuait la peroxydation lipidique chez des rats hypercholestérolémiques.

D'après GHEDIRA et *al.*, [323] la défense antioxydante chez les rats hypercholestérolémiques traités par *A.iva* pourrait être due aux flavonoïdes et aux irroïdes qu'elle contient.

BOUDERBALA et *al.*, [334] ont montré que les iridoïdes avaient augmenté l'activité des enzymes antioxydantes dans les globules rouges des rats nourrit par un régime riche en cholestérol.

Par ailleurs, *A.iva* stimulerait l'activité des enzymes antioxydantes, grâce aux flavonoïdes et aux terpénoïdes [336].

Plusieurs études antérieures ont rapporté le puissant pouvoir antiradicalaire des espèces du genre *Ajuga*, telle que *Ajuga postii* (IC₅₀=0,750 mg/ml) et *Ajuga relicata* (IC₅₀=0,205 mg/ml) par SÖNMEZ et KÖSE, [491] ; *Ajuga chamaepitys*

($IC_{50}=0,205$ mg/ml) par TURKOGLU et *al.*, [492] et *Ajuga nipponensis* par HSIEH et *al.*, [493].

Concernant l'HE d'*A.iva*, nos résultats confirment ceux de AYARI et *al.*, [329], qui ont rapporté une puissante activité antiradicalaire de l'HE d'*A.iva* récoltée dans deux régions de Tunisie, avec des IC_{50} de 0,0284 et 0,0326 mg/ml.

BEN MANSOUR et *al.*, [494] ont rapporté une excellente activité antiradicalaire de l'HE d'*Ajuga pseudoiva* avec une IC_{50} de 0,720 mg/ml.

L'activité antioxydante des HE pourrait être attribuée à leur composition chimique [495] qui est déterminée par le génotype et influencée par les conditions environnementales et agronomiques [496]. La relation entre l'activité antioxydante et leurs profils chimiques a déjà été rapportée [497].

Les HE capables de piéger les radicaux libres pourraient jouer un rôle important dans la prévention de certaines maladies telles que, le dysfonctionnement du cerveau, le cancer, les maladies cardiaques ainsi que le déclin du système immunitaire [498] ; [499].

3.4.2.2. Test de réduction du fer FRAP

La **Figure.3.31.** représente le pouvoir réducteur des différents extraits et l'HE d'*A.iva*, ainsi que celui de l'acide ascorbique en fonction de leurs différentes concentrations.

Les résultats montrent que le pouvoir réducteur des extraits et de l'HE est dose dépendant (**Tableau.2. Appendice.J**). A la plus faible concentration (0,16 mg/ml) l'extrait éthanolique présente l'absorbance la plus élevée avec $0,093\pm 0,002$, il est suivi par l'extrait éthéré avec une absorbance de $0,008\pm 0,001$, l'extrait aqueux avec une absorbance de 0,003, et en dernière position l'huile essentielle avec une absorbance de $0,001\pm 0,0001$.

Leur pouvoir réducteur augmente par la suite pour atteindre une absorbance maximale de $1,838 \pm 0,002$ pour l'extrait éthanolique, à la concentration de 5 m/ml. A la même concentration, l'extrait aqueux affiche une absorbance de $1,266 \pm 0,02$, l'HE affiche $0,862 \pm 0,02$ et enfin l'extrait éthéré avec $0,239 \pm 0,005$.

En comparant les extraits et l'HE par rapport au standard utilisé, leur pouvoir réducteur reste très inférieur à celui de l'acide ascorbique qui affiche une absorbance de $2,02 \pm 0,04$ à la faible concentration de 0,125 mg/ml.

Cette différence peut s'expliquer par une faible teneur en composés donneurs d'électrons dans la composition chimique des extraits et de l'HE par rapport au standard.

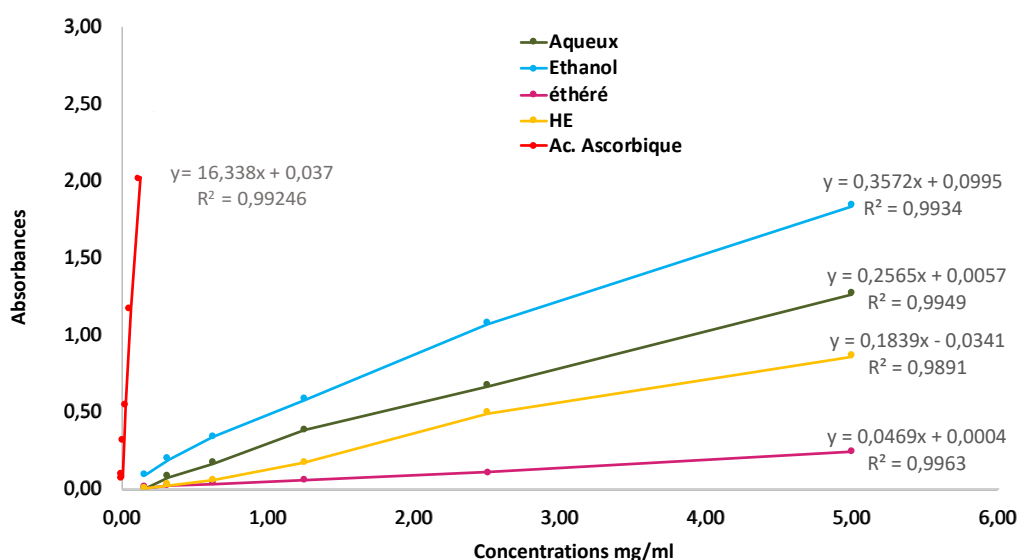


Figure.3.31. Pouvoir réducteur des extraits et l'huile essentielle d'*Ajuga iva*.

Plusieurs travaux réalisés sur la capacité de réduction de fer par les polyphénols des plantes, ont rapporté que le noyau catéchol est la seule structure qui est liée positivement dans le pouvoir réducteur. Cette structure augmenterait le pouvoir réducteur d'un composé à 36% par rapport à un autre qui n'en contient pas. Ils ont suggéré aussi que cette activité est due à la participation des groupements $-OH$ liés à ce noyau [500] ; [501].

La plupart des genres de Lamiaceae sont riches en terpénoïdes, glycosides iridoïdes, composés phénoliques et flavonoïdes. Ces derniers, sont principalement des dérivés de flavones [502] et sont bien connus pour leur large éventail d'activités antioxydantes [490] dues à la présence de la structure catéchol dans leur anneau A ou B [503].

Selon les travaux d'ÖZGEN et *al.*, [504], il existe une corrélation significative entre le pouvoir réducteur et la teneur en composés polyphénoliques des espèces appartenant à la famille des Lamiaceae (*Thymus sipyleus subsp. sipyleus var. sipyleus*, *Teucrium chamaedrys*, *Mentha longifolia subsp. Longifolia*, *Salvia limbata* et *and Thymus fallax*). Ils avaient fait le même constat auparavant, lors de leurs travaux antérieurs sur plusieurs espèces de la famille des Asteraceae [505].

Des résultats différents ont été obtenus par HARIRI et OUIS, [431], où le pouvoir réducteur de la fraction flavonoïde d'*A.iva* était très faible, avec une absorbance inférieure à 0,5 à la concentration de 1 mg/ml. De même pour l'huile essentielle d'*A.iva* testée dont l'absorbance était presque nulle pour toutes les concentrations testées.

Nos résultats confirment ceux de AYARI et *al.*, [329], qui ont constaté un pouvoir réducteur élevé pour l'HE d'*A.iva* récoltées dans deux localités différentes en Tunisie ; 632,12 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g EO}$ pour d'*A.iva* de Beja et 585,46 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g EO}$ pour celle de Bizerte.

Les résultats de KAYANI et *al.*, [506] ont révélé que l'extrait méthanolique d'*Ajuga bracteosa* possédait un excellent pouvoir réducteur avec 718,4 \pm 36 mg EAA/g à la concentration de 1 mg/ml.

3.5. Activités pharmacologiques

Les différentes activités pharmacologiques d'*A.iva* sont évaluées en utilisant une décoction aqueuse lyophilisée, reprise dans de l'eau distillée juste avant administration.

3.5.1. Étude de la toxicité aiguë orale

L'étude de la toxicité est une étape primordiale dans la recherche d'une activité pharmacologique d'une substance inconnue [507], elle vise à évaluer le potentiel toxique de cette substance afin de fournir des informations nécessaires pour protéger la santé humaine [508].

3.5.1.1. Signes de toxicité et mortalité

Lors de l'étude de la toxicité aiguë par voie orale, les souris de tous les lots ne montrent aucun signe clinique de toxicité après l'administration des doses de 300, 2000, 5000, 8000 et 14000 mg/kg de poids corporel (p.c.) de l'extrait aqueux d'*A.iva*.

L'aspect général ainsi que le comportement des animaux est resté normal, mis à part une légère diarrhée chez une seule souris du lot 5 traité avec la dose maximale (14000 mg/kg p.c.), qui est apparue 24 heures après traitement sans aucun autre signe supplémentaire, et qui a disparu le jour même (**Tableau.1. Appendice.K.**). Ceci est peut-être dû au stress lors du gavage.

Aucune mortalité n'est enregistrée et tous les animaux ont survécu à l'issue des 14 jours d'observation, ce qui implique que la DL_{50} est supérieure à 14000 mg/kg p.c.

3.5.1.2. Évolution et gain pondéraux

Le changement du poids corporel dans l'étude de la toxicité est considéré comme un indicateur des effets indésirables de la substance [509] ; [510]. La perte du poids est corrélée à l'état physiologique de l'animal et elle est expliquée soit par une réduction de la consommation des aliments, ou une possibilité d'interactions dose/absorption ou bien par la diminution de la quantité de nourriture absorbée [9].

Dans les directives de l'OECD [389], la forte dose recommandée est de 2000 mg/kg p.c. et exceptionnellement 5000 mg/kg p.c. lorsqu'il y a une nécessité de protéger de la santé de l'homme et de l'animal, et l'environnement.

Durant ce test, la plus forte dose d'extrait aqueux d'*A.iva* sélectionnée est de 14000 mg/kg p.c., précédée de la dose de 8000 mg/kg p.c. Le choix d'inclure des doses plus élevées que celles préconisées par l'OECD est soutenu par :

- 2- Le fait que les utilisateurs des plantes médicinales questionnés lors de notre enquête ethnobotanique, utilisent les plantes de manière aléatoire.
- 3- Le besoin de confirmer les résultats obtenus par El-Hilaly et *al.*, [9] concernant l'effet non toxique d'*A.iva* mêmes à des doses élevées.

Lors de la période d'observation qui a duré 14 jours, le poids des souris est enregistré 1 jour avant le traitement, le jour du traitement et le 1^{er}, 7^e et 14^e jour qui suivent le traitement.

La **Figure.3.32.** et la **Figure.3.33.**, représentent respectivement, la courbe de l'évolution pondérale des souris mâles et femelles de tous les lots y compris le lot control, depuis le jour avant le traitement jusqu'au 14^e jour suivant l'administration des différentes doses de l'extrait aqueux d'*A.iva*.

Le poids corporel des souris traitées qu'elles soient mâles ou femelles, évolue de manière presque identique à celui des souris du lot control. Aucune différence significative n'est enregistrée durant les 14 jours de suivi. Ceci signifie que l'extrait aqueux d'*A.iva* n'a induit aucun changement néfaste sur le poids corporel des souris traitées.

Il est à souligner qu'une légère baisse du poids corporel est enregistrée à J0, chez toutes les souris y compris celles du lot control. Elle correspond à la période de jeûne juste avant l'administration de l'extrait aqueux d'*A.iva*. Les poids des souris reprennent leurs valeurs normales dès la reprise de l'alimentation.

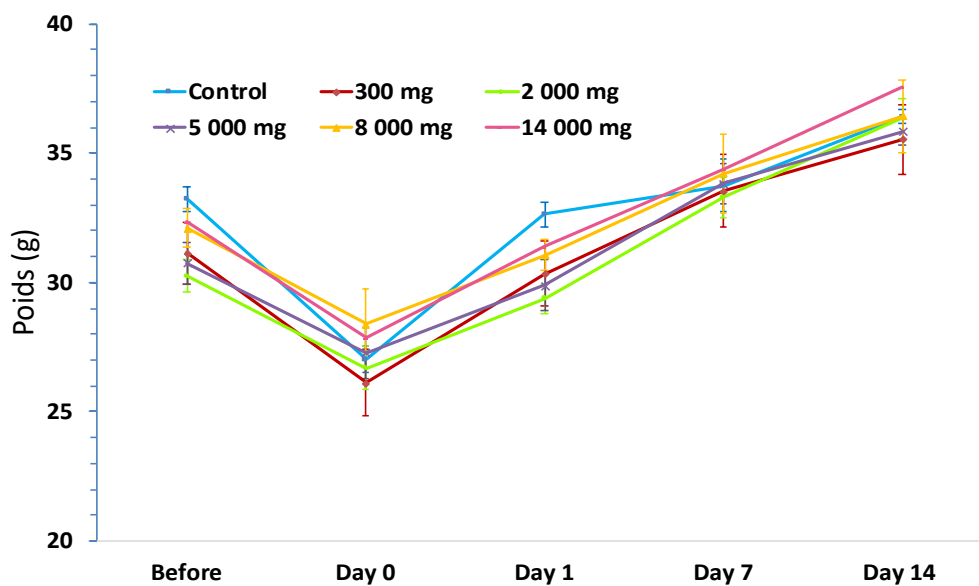


Figure.3.32. Évolution pondérale chez les souris mâles après administration de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva*.

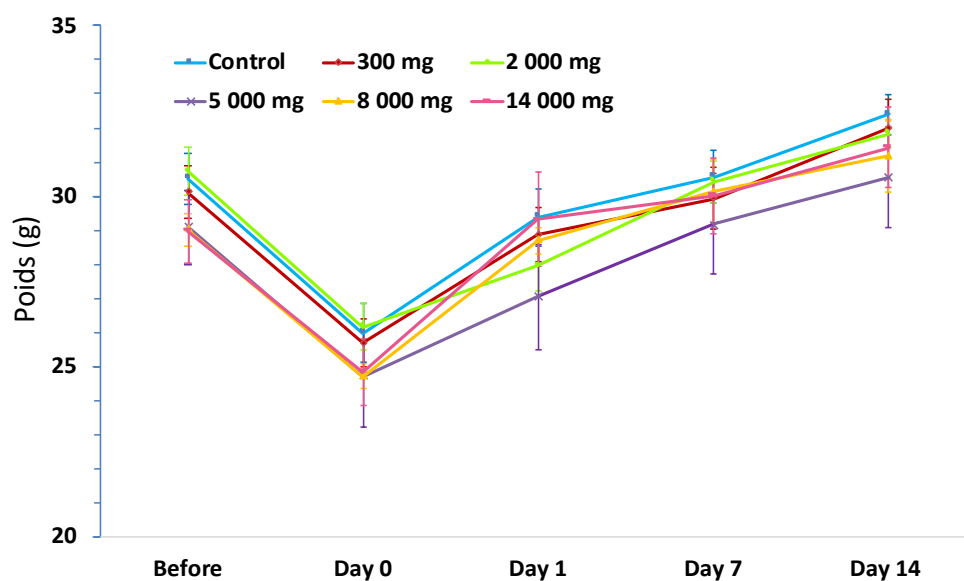


Figure.3.33. Évolution pondérale chez les souris femelles après administration de l'extrait aqueux d'*A.iva*

La **Figure.3.34.** montre le gain pondéral chez les souris mâles et femelles durant la première et la deuxième semaine ainsi que le gain pondéral total lors des deux semaines de suivi.

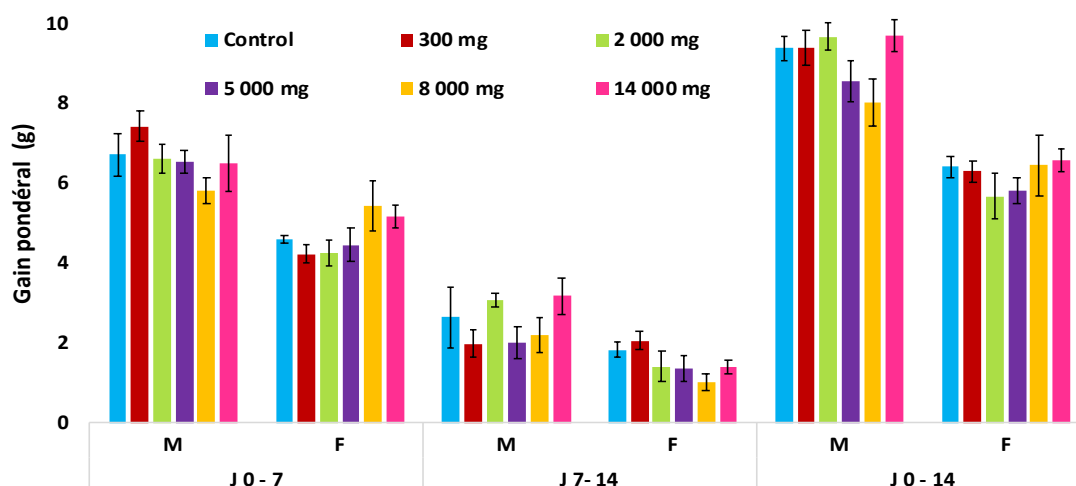


Figure.3.34. Gain pondéral chez les souris mâles (M) et femelles (F) après administration des différents traitements.

Les résultats révèlent qu'il n'y a aucune différence significative entre le gain pondéral chez les souris traitées avec les différentes doses de l'extrait aqueux d'*A.iva*, par rapport aux souris du lot control. Le **Tableau.2., Appendice.K.** montre que le gain pondéral global au cours des deux semaines de suivi, varie chez les mâles de $8,03 \pm 0,60$ g pour ceux traités avec la dose de 8000 mg/kg p.c. à $9,70 \pm 0,41$ g pour ceux traités avec la dose de 14000 mg/kg p.c., contre $9,38 \pm 0,30$ g pour ceux du lot control. Chez les femelles, il varie de $5,68 \pm 0,57$ g pour celles traitées avec la dose de 2000 mg/kg p.c. à $6,59 \pm 0,28$ g pour celles traitées avec la dose de 14000 mg/kg p.c. contre $6,42 \pm 0,27$ g pour celles du lot control. Ceci indique que l'administration de l'extrait n'a exercé aucun effet sur la croissance des animaux.

A la fin de la période de suivi (J14), tous les animaux sont sacrifiés et soumis à une autopsie à l'échelle macroscopique. Les reins, le foie, le cœur, les poumons, la rate sont examinés pour d'éventuelles lésions apparentes, liées à l'administration de l'extrait d'*A.iva*.

L'autopsie générale des souris et l'examen macroscopique des organes cibles ne révèlent aucune altération pathologique apparente ou changement de couleur liés à l'administration de l'extrait aqueux d'*A.iva* par rapport au lot control. Suite à cette conclusion l'étude microscopique n'a pas été entreprise.

En conclusion, toutes les doses orales testées de l'extrait aqueux d'*A.iva* peuvent être considérées comme étant sans danger, dans la mesure où elles n'ont provoqué ni létalité ni altération du comportement général chez la souris.

Selon le Système Général Harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (SGH) [511], l'extrait aqueux des parties aériennes d'*A.iva* peut être classé dans la catégorie 5, des produits non toxiques par voie orale avec une DL_{50} supérieur à 14000 mg/kg p.c.

Nos résultats confirment ceux obtenus par EL-HILALY et *al.*, [9] au Maroc, qui n'ont signalé aucune toxicité liée à l'administration de l'extrait aqueux d'*A.iva* même à la dose la plus élevée (14000 mg/kg p.c.). Ils mentionnent aussi que l'absence d'effets indésirables après l'administration orale de l'extrait peut s'expliquer par la faible biodisponibilité du ou des « composants toxiques », en raison de leur faible absorption dans le tractus gastro-intestinal, ou en raison d'un effet de premier passage élevé et d'un métabolisme rapide en métabolites non toxiques.

Selon ZBINDEN, [512], pour confirmer le caractère non toxique d'un produit végétal, il faut prendre en considération plusieurs facteurs pouvant modifier son profil de toxicité, à savoir le stade de croissance et la maturité de la plante, la ou les parties spécifiques utilisées, la variation saisonnière qui influence l'abondance relative des composés phytochimiques, les conditions de stockage (fraîchement récoltée ou stockée pendant une longue période), etc. Pour ces variables, les études doivent être conduites avec l'extrait de plante brut préparé avec un mélange de plantes entières fraîchement récoltées, d'âges et de stades de croissance différents, collectées à différents moments de l'année.

En outre, étant donné qu'il est bien connu qu'il n'y ait pas de relation cohérente entre une dose unique DL_{50} et une dose quotidienne, des études complémentaires à long terme avec des doses graduées sont nécessaires pour écarter tout effet indésirable à long terme [512].

3.5.2. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux d'*A.iva* est déterminée par la méthode de l'œdème de la patte induit par la carraghénine chez le rat, en mesurant la circonférence de la patte œdématiée des rats de chaque lot.

Les résultats de l'évolution de la circonférence des pattes des rats de chaque lot sont représentés dans la **Figure.3.35**, et les pourcentages d'inhibition de l'inflammation par l'extrait aqueux d'*A.iva* et l'indométacine sont mentionnés dans le **Tableau.5. Appendice.K**.

D'après les résultats obtenus lors du test de l'œdème à la carraghénine, l'extrait aqueux testé présente une activité antiinflammatoire significative et dépendante de la dose.

Dans le lot control, l'injection de la carraghénine à 2 % dans l'aponévrose de la plante du pied des rats, provoque un œdème dont la circonférence initiale de $26,92 \pm 0,33$ atteint son pic à la 2^e heure avec $31,35 \pm 0,38$ mm, soit un taux d'augmentation de $20,09 \pm 1,93\%$.

L'extrait aqueux d'*A.iva* à la dose de 500 mg/kg p.c. montre une excellente activité antiinflammatoire dès la 1^{ère} heure qui suit l'injection de la carragénine. Son action augmente de manière très significative à la 3^e heure ($p < 0,01$) avec un pourcentage d'inhibition de 74,44%, et dure jusqu'à la 6^e heure ($p < 0,05$) qui suit le traitement avec un pourcentage d'inhibition de 92,73%.

De même pour la dose 250 mg/kg p.c., son effet antiinflammatoire débute aussi dès la 1^{ère} heure jusqu'à atteindre un pourcentage d'inhibition de 62,96% ($p < 0,01$) à la 4^e heure. Son effet antiinflammatoire dure aussi jusqu'à la 6^e heure et affiche un pourcentage d'inhibition de 88,97% ($p < 0,05$).

Il est important de souligner que l'extrait aqueux d'*A.iva* exerce un effet inhibiteur significatif à la 3^e heure ($p < 0,05$ à 250 mg/kg p.c. et $p < 0,01$ à 500 mg/kg p.c.), comparant à l'indométacine.

En ce qui concerne l'indométacine, son effet anti-inflammatoire ne débute que 3 heures après son administration aux rats. Elle affiche 67,40% d'inhibition à la 4^e heure ($p < 0,001$) et atteint les 80,67% ($p < 0,001$) à la 6^e heure.

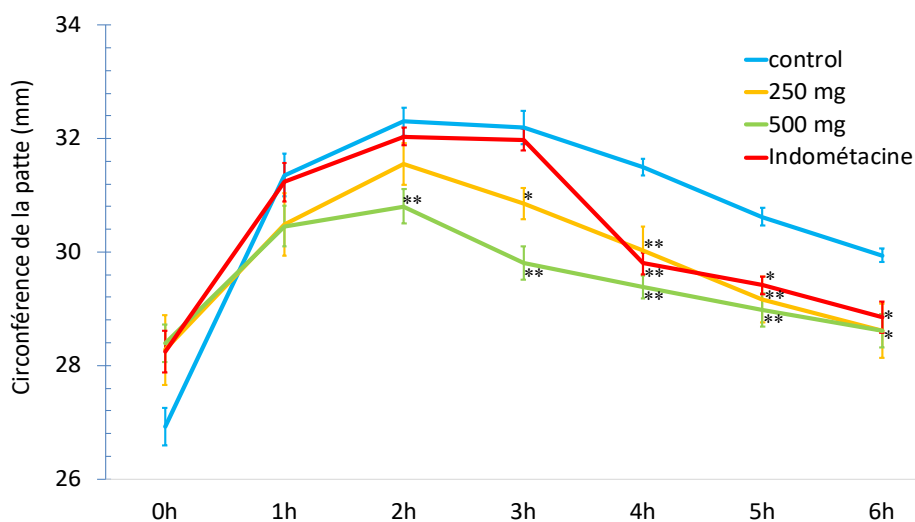


Figure.3.35. Évolution de la circonférence de la patte des rats après administration des différentes doses de l'extrait aqueux d'*A.iva*.

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ significativement différent du lot control

L'effet anti-inflammatoire a été rapporté par plusieurs auteurs concernant les composés polyphénoliques, les flavonoïdes et l'HE de certaines plantes médicinales et aussi celles de la famille des Lamiaceae [449] ; [513] ; [514] ; [515] ; [516] ; [517].

Il est connu que la réponse inflammatoire aiguë provoquée par la carraghénine est biphasique. La première réaction immédiate (1-3h) est médiée par la libération de l'histamine et la 5-HT (sérotonine), tandis que les bradykinines et les PG libérées par les macrophages tissulaires (mastocytes), font office de médiateurs pour une réponse tardive et plus prolongée [518] ; [519] ; [520].

D'après nos résultats et à partir de la 4^e heure, l'effet inhibiteur de l'extrait aqueux d'*A.iva* sur l'inflammation provoquée par la carraghénine est similaire à l'effet de la plupart des anti-inflammatoires non stéroïdiens tel que l'indométacine. Ce constat suggère que l'extrait aqueux agit bien au cours de la deuxième phase du processus inflammatoire, en ayant une action directe ou indirecte sur les médiateurs impliqués dans la deuxième phase de l'inflammation.

Par contre, L'effet antiinflammatoire de l'extrait à aqueux d'*A.iva* observé au cours des premières heures laisse penser qu'il exerce peut-être, une action inhibitrice sur l'histamine et la sérotonine. Cette action antiinflammatoire est probablement due à la présence des composés phénoliques ainsi que des composants de l'HE dans l'extrait aqueux d'*A.iva*.

Nos résultats confirment ceux obtenus par EL-HELA et *al.*, [521] qui ont constaté une activité antiinflammatoire significative de l'extrait méthanolique d'*A.iva* d'Égypte, à des doses allant de 50 à 200 mg/kg p.c.

D'après GAUTAM et *al.*, [522], l'extrait éthanolique de l'espèce *Ajuga bracteosa* posséderait une activité antiinflammatoire importante et prometteuse. Ils supposent une action inhibitrice des isoenzymes COX-1 et COX-2. L'étude indique également que des constituants isolés (ajugarine I, lupuline A, withaferine A, reptoside et 6-désoxyharpagide) pourraient être responsables, au moins en partie, de son activité antiinflammatoire.

Des résultats similaires ont été obtenus par KAITHWAS et *al.*, [523] et SINGH et *al.*, [524] en inde et KAYANI et *al.*, [506] au Pakistan, pour la même espèce.

TOIU et *al.*, [525] de Roumanie, ont aussi rapporté l'activité antiinflammatoire de l'espèce *Ajuga laxmannii*.

3.5.3. Activité antalgique

L'activité antalgique périphérique de l'extrait aqueux d'*A.iva* est évaluée chez la souris, par la méthode des torsions abdominales induites à l'acide acétique.

Les résultats de l'effet antalgique des différents traitements sont représentés dans la **Figure.3.36.** et le **Tableau.6. Appendice.K.**

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux d'*A.iva* réduit le nombre de torsions abdominales de manière dose dépendant. La dose de 1000 mg/kg p.c., a réduit considérablement et de manière significative ($p < 0,05$) le nombre de torsions abdominales à $19 \pm 7,16$ torsions par rapport au lot control qui affiche $51 \pm 7,46$ torsions et ce, avec un pourcentage de réduction de 62,75%.

Le groupe traité avec d'indométacine (50 mg/kg p.c.) a également montré une réduction du nombre de torsions mais, de manière insignifiante et avec un pourcentage de réduction de 23% par rapport au lot control.

D'après les résultats, l'extrait aqueux d'*A.iva* à la dose de 500 mg/kg p.c. a réduit le nombre de torsions à $47,83 \pm 9,52$ torsions abdominales par rapport au lot control, soit une réduction de 6,21%.

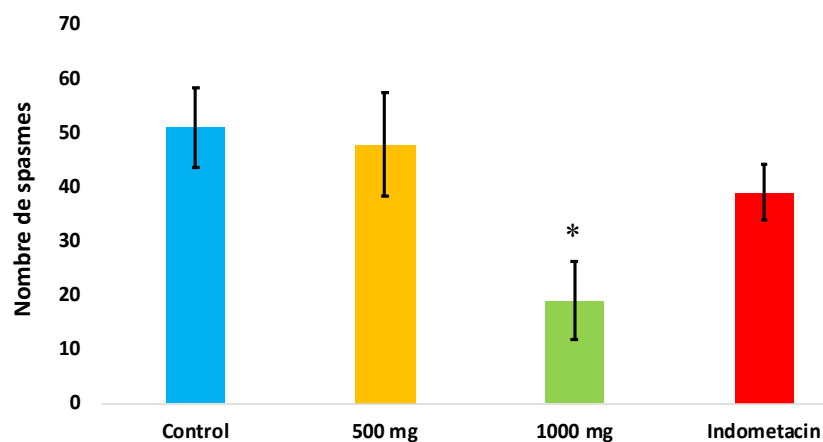


Figure.3.36. L'effet analgésique de l'extrait aqueux d'*A.iva*
 * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ significativement différent du lot control

L'administration intrapéritonéale d'acide acétique provoque par une action enzymatique, la libération d'acide arachidonique tissulaire [526] à partir duquel, sont synthétisées par la voie de la cyclooxygénase les prostaglandines [527]. Les prostaglandines libérées dans les fluides péritonéaux, principalement les prostacyclines et les prostaglandines-E, jouent un rôle très important dans le mécanisme nociceptif aigu de la contraction abdominale [528] ; [526]. Dans cette méthode, les récepteurs péritonéaux locaux peuvent aussi être la cause des torsions chez le modèle animal [529]. Ces torsions sont couramment utilisées pour mettre en évidence une éventuelle activité analgésique périphérique.

Lors des recherches phytochimiques préliminaires ainsi que les dosages des métabolites secondaires, l'extrait aqueux d'*A.iva* étudiée a révélé la présence de tanins, flavonoïdes, terpénoïdes, huiles volatiles, etc. Les résultats de notre étude montrent que les deux doses de l'extrait aqueux d'*A.iva* produisaient un effet antinociceptif. Cet effet pourrait être dû à une inhibition de la synthèse des métabolites de l'acide arachidonique par les différents constituants de la plante.

En effet, il a été rapporté dans plusieurs études antérieures et sur différents animaux, que les flavonoïdes sont impliqués dans l'activité antinociceptive des plantes médicinales [530] ; [531] ; [532] ; [533] ; [534] ; [535].

Nos résultats concordent avec ceux obtenus lors des travaux de KHANAVI et *al.*, [536], qui ont montré une activité analgésique intéressante de l'extrait aqueux d'*Ajuga chamaecistus ssp. tomentella* à la dose de 400 mg/kg p.c.

L'activité antalgique est retrouvée aussi chez *Ajuga bracteosa* [537] ; [538] ; [506] et *Ajuga remota* [248].

Selon les travaux de ALI et *al.*, [527], l'extrait brut de flavonoïdes de l'espèce *Teucrium stockianum* exerçait une activité analgésique périphérique très significative à la dose de 10 mg/kg p.c., comparable à celle l'acide acétylsalicylique à la même dose.

Des résultats similaires ont été obtenus par MIRI et *al.*, [539] avec l'espèce *Teuricum persicum* dont l'activité antinociceptive était liée à sa teneur en flavonoïdes.

Il a été démontré que les composants volatils de certaines plantes joueraient aussi un rôle dans l'effet antinociceptif tel que le linalool, l'oxyde de caryophyllène, et le phytol, en inhibant la sécrétion de prostaglandines et d'acide arachidonique [540] ; [541] ; [542] ; [543].

3.5.4. Activité antipyrétique

L'activité antipyrétique (curative) de l'extrait aqueux d'*A.iva* est évaluée chez le rat, par la méthode de l'hyperthermie induite par la levure de bière.

L'évolution et la variation la température rectale chez les rats de chaque lot sont représentées respectivement dans la **Figure.3.37.** et la **Figure.3.38.** le pourcentage d'inhibition de l'hyperthermie est présenté dans le **Tableau.7. et 8. Appendice.K.**

L'injection sous-cutanée de la levure de bière à 20 % a provoqué une élévation de la température chez les rats du lot control de $36,63 \pm 0,13^\circ\text{C}$ pour atteindre $39,70 \pm 0,05^\circ\text{C}$ dix heures après l'induction de l'hyperthermie ; soit une variation de température de $3,07 \pm 0,12^\circ\text{C}$.

Chez les rats traités avec l'extrait d'*A.iva* à la dose de 250 mg/kg, une baisse de température significative ($p < 0,05$) est observée à partir de la 8^e heure. La variation de température atteint la valeur de $1,75 \pm 0,18^\circ\text{C}$ dix heures après l'induction de l'hyperthermie, soit un pourcentage d'inhibition très significatif de 43,14% ($p < 0,01$) par rapport au lot control.

A la dose de 500 mg/kg de l'extrait aqueux d'*A.iva*, la température passe de $36,68 \pm 0,14^\circ\text{C}$ à $38,23 \pm 0,25^\circ\text{C}$ dix heures après l'induction de l'hyperthermie, soit une augmentation de $1,77 \pm 0,33^\circ\text{C}$. Cette dose induit une baisse de température très significative ($p < 0,01$) par rapport au lot control à partir de la 8^e heure avec un pourcentage de 38,35% qui augmente à 42,02% au cours de la 10^e heure.

D'après les résultats obtenus, les deux doses de l'extrait aqueux d'*A.iva* réduisent de façon significative l'hyperthermie provoquée par la levure de bière chez les rats. Leur effet est comparable à celui du traitement de référence (Aspégic), dont l'effet inhibiteur est aussi très significatif par rapport au lot control. L'Aspégic atteint son pic à la 8^e heure également avec un pourcentage de réduction de l'hyperthermie de 59,88%.

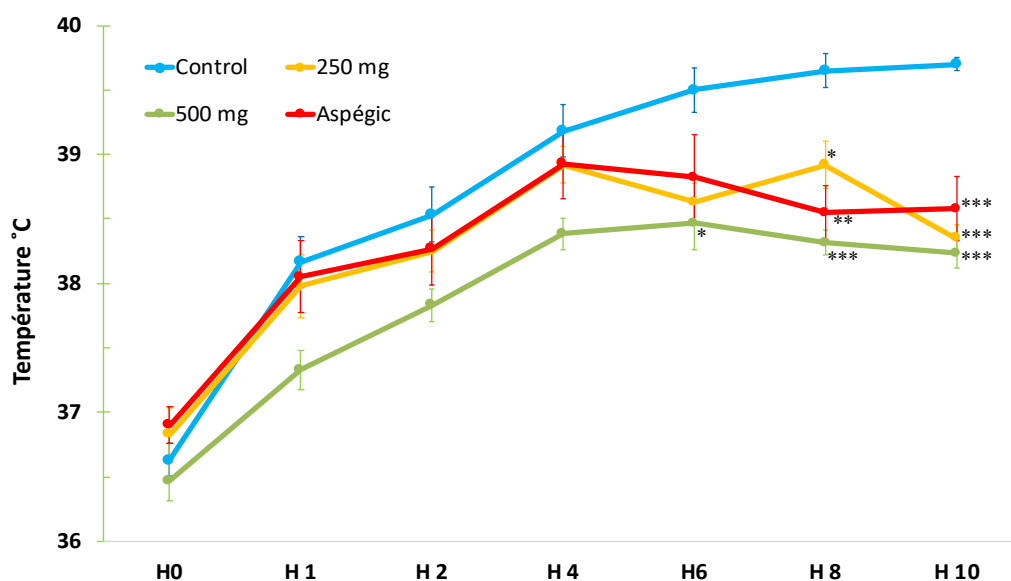


Figure.3.37. Évolution de la température rectale chez les rats

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ significativement différent du lot control

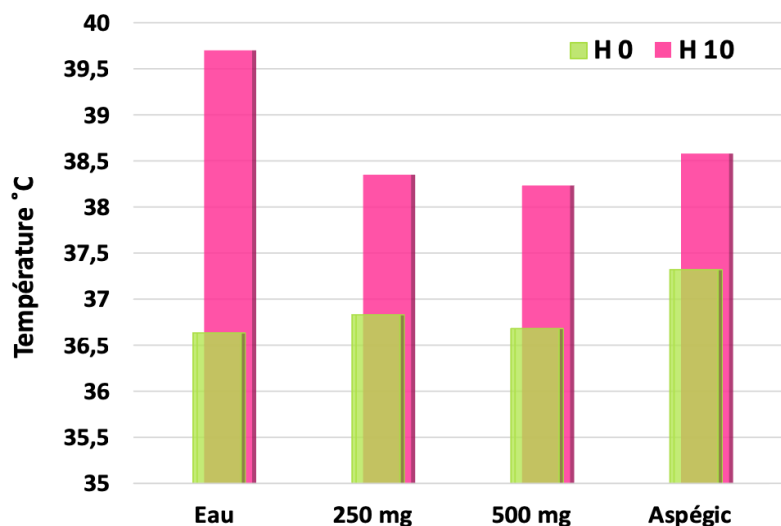


Figure.3.38. Variation de la température rectale chez les rats.

La levure de bière est considérée comme un pyrogène exogène. Lors de la liaison de ses lipopolysaccharides à leurs récepteurs spécifiques, elle provoque la libération des cytokines proinflammatoires qui activent la voie de l'acide arachidonique, aboutissant au final à la synthèse et libération des PGE₂, médiateurs ultimes de la réponse fébrile [544] ; [545]. La réponse fébrile est caractérisée par l'élévation du point de consigne du centre thermorégulateur de l'hypothalamus [446] ; [447], qui restera élevé jusqu'à ce que les PGE₂ disparaissent [544] ; [545].

Un antipyrétique est un médicament capable d'arrêter ou inverser l'augmentation de la température [548] en inhibant la COX par compétition avec l'acide arachidonique et par conséquent la production des PGE₂ dans l'hypothalamus [185] ; [191].

L'effet antipyrétique d'*A.iva* n'a pas été investigué auparavant, cependant, plusieurs auteurs ont rapporté cette propriété concernant d'autres espèces de la famille des Lamiaceae.

AMABEOKU et *al.*, [249] ont rapporté une excellente activité antipyrétique de l'espèce *Salvia africana-lutea* lors du test de la fièvre induite par des lipopolysaccharides.

Des résultats similaires ont été obtenus avec l'extrait aqueux, éthanolique, chloroformique, hexanique, éthylique et butanolique du *Thymus broussonetii* du Maroc, par ELHABAZI et *al.*, [549].

L'extrait éthanolique de *Leucas lavandulaefolia* a montré aussi une activité antipyrétique significative comparable à celle du paracétamol [550].

L'évaluation des propriétés antipyrétiques des extraits aqueux et éthanolique de deux espèces du genre *Ocimum* (*Ocimum suave* et *Ocimum lamiifolium*) avait montré que leurs extraits possédaient une bonne activité antipyrétique avec une durée d'action raisonnable [551].

Par contre, l'extrait éthanolique de l'espèce *Origanum syriacum* d'Arabie Saoudite, n'a montré aucune activité antipyrétique et ce, malgré sa réduction significative de l'inflammation et de la douleur [552].

Compte tenu de tous ces résultats, nous pouvons suggérer que le mécanisme d'action de l'extrait aqueux d'*A.iva* sur la fièvre est comparable à celui des AINS.

Bien que rien ne prouve l'action directe de l'extrait aqueux d'*A.iva* sur la synthèse des prostaglandines, mais il est bien connu que la plupart des antiinflammatoires antalgiques agissent aussi comme antipyrétiques, ce qui supposerait une inhibition de leur synthèse dans l'hypothalamus.

En outre, il a été rapporté que les flavonoïdes telle que l'apigénine et la lutéoline possédaient une activité antiinflammatoire [553] ; [554] ; [555] ; [556] ; [557] ; [558] ; [559] ; [560]. Ceci permet de suggérer que l'action antipyrétique d'*A.iva* est probablement liée à sa composition en flavonoïdes [323] ; [322].

3.5.5. Activité antiulcéreuse

3.5.5.1. Étude macroscopique

L'activité antiulcéreuse de l'extrait aqueux d'*A.iva* est évaluée par la méthode de l'ulcère induit par de l'éthanol absolu.

Les résultats de l'observation macroscopique sont représentés dans la **Figure.3.39**. L'indice d'ulcération ainsi que le pourcentage d'inhibition des ulcères, sont représentés dans la **Figure.3.40**. et le **Tableau.11. Appendice.K**.

Chez le lot control, la muqueuse gastrique des rats ayant reçu que de l'eau distillée ne présentent aucune lésion ulcéreuse (**Figure.3.39.a**), tandis que celle des rats traités avec de l'éthanol absolu, présente des dommages de la paroi gastrique avec une forme hémorragique et un indice d'ulcérations de $41,6 \pm 2,20$ (**Figures.3.39.b**).

Le traitement oral à la dose de 500 et 1000 mg/kg p.c. d'extrait aqueux d'*A.iva*, ainsi que de la Ranitidine à 50 mg/kg pc montre une protection dose dépendante, avec un nombre insignifiant de lésions gastriques, voire inexistantes.

La Ranitidine protège de l'ulcère induit par l'éthanol (**Figures.3.39.e**) en réduisant significativement l'indice d'ulcération à $16,8 \pm 2,47$, soit un pourcentage d'inhibition de 59,61% par rapport au lot témoin (+).

La dose 500 mg/kg p.c. d'extrait aqueux d'*A.iva* réduit significativement les lésions tissulaires de la muqueuse gastrique des rats (**Figures.3.39.c**). L'indice d'ulcération est réduit à $17,8 \pm 7,44$ ($p < 0,05$), soit une inhibition de 57,21% par rapport au lot témoin (+). Son action est comparable à celle de la Ranitidine

Chez les rats du lot traité avec la dose de 1000 mg/kg p.c. d'extrait aqueux d'*A.iva*, la réduction du nombre de lésions gastriques est hautement significative par rapport au lot témoin (+) (**Figures.3.39.d**), son pourcentage de réduction atteint les 75,96%.

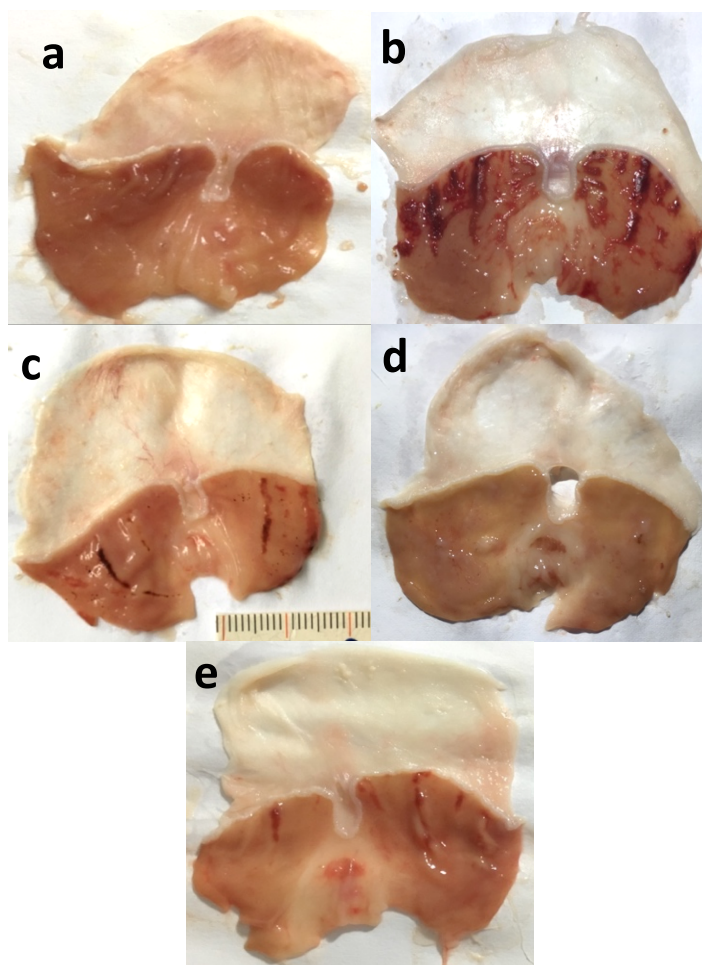


Figure.3.39. Observation macroscopique des estomacs représentatifs des différents lots. **a)** lot control (-). **b)** lot témoin (+) (éthanol). **c)** lot 500 mg/kg. **d)** lot 1000 mg/kg. **e)** lot Ranitidine, 50 mg/kg (**Originale, 2017**).

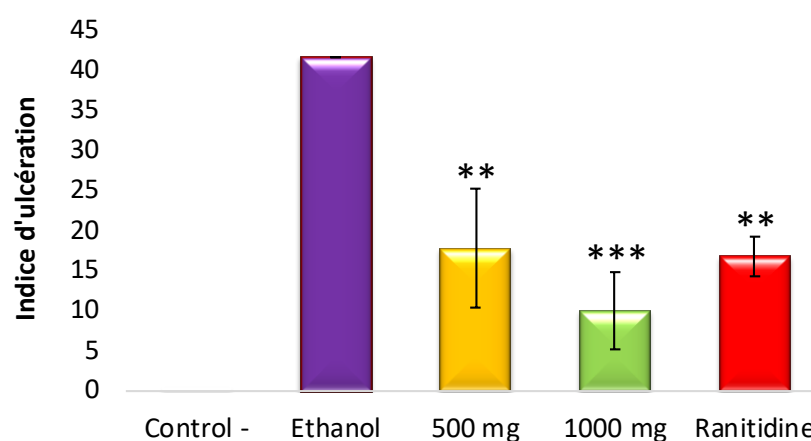


Figure.3.40. Effet de l'extrait aqueux d'*A.iva* et la Ranitidine sur l'indice d'ulcération et le pourcentage de protection * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ significativement différent du lot témoin (+) ($n=5$).

3.5.5.2. Étude microscopique

En fonction du traitement et par rapport au control, nos résultats montrent des changements histologiques au niveau de la muqueuse, la sous-muqueuse et la musculuse de l'estomac glandulaire. L'importance de ce changement varie selon le traitement et la dose utilisée. Les résultats de l'observation microscopique sont représentés dans les **Figures.3.41 – 3.45**.

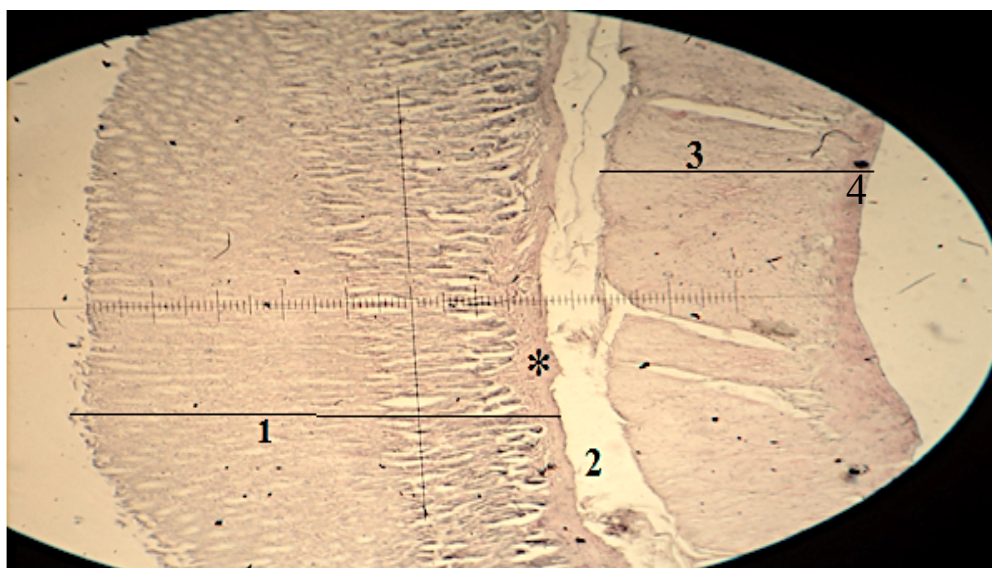


Figure.3.41. Observation histopathologique de la zone glandulaire fundique de l'estomac d'un rat du lot control (Gx10/Zeiss). 1 : Muqueuse. * : Musculeuse. 2 : Sous muqueuse. 3 : Musculeuse. 4 : Séreuse
(Originale, 2017).

Observations :

Aucun changement histologique n'est observé dans l'estomac glandulaire : la muqueuse, la sous-muqueuse et la musculuse sont intactes.

La hauteur de la muqueuse glandulaire est de l'ordre 600 à 650 μm .

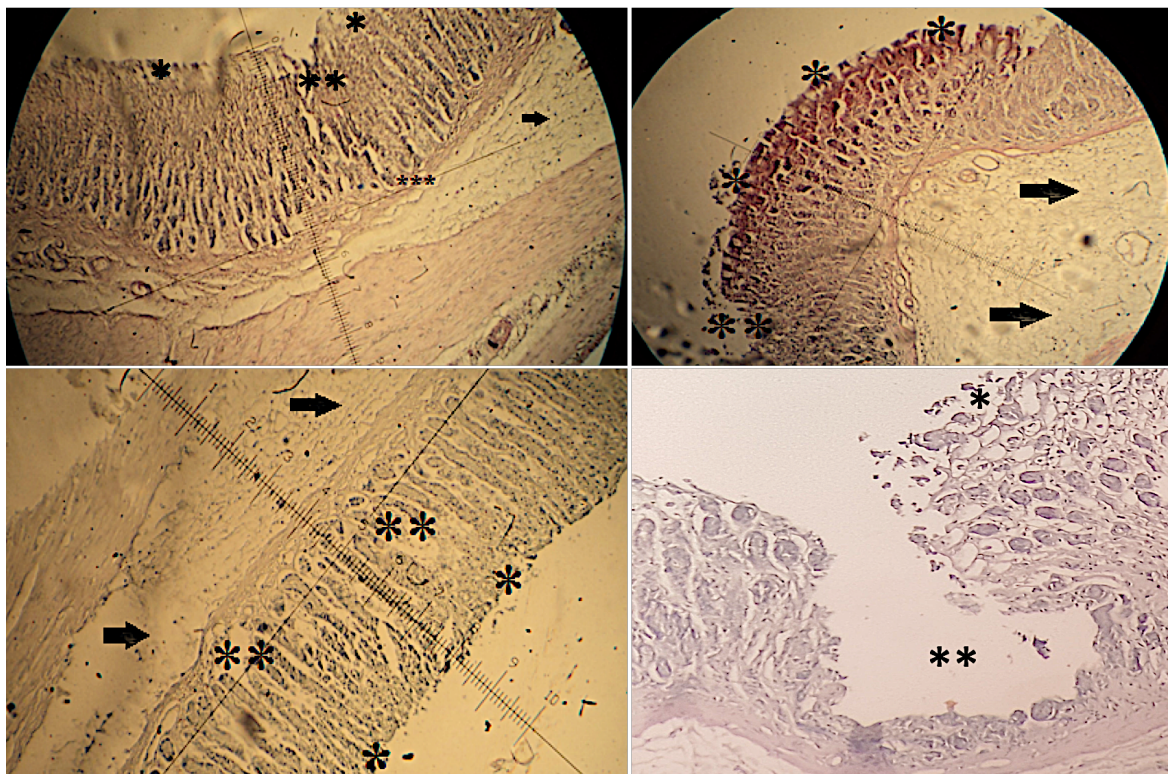


Figure.3.42. Observation histopathologique de la zone glandulaire fundique de l'estomac d'un rat du lot Témoin (+) (G x10/ Zeiss) (**Originale, 2017**).

Observations :

1. Importante nécrose hémorragique de toute la muqueuse fundique stomacale caractérisée par :
 - Destruction massive de l'épithélium superficiel cryptique des glandes fundiques (Importante perte de cellules épithéliales apicales) (*).
 - Ulcère étendu de la muqueuse glandulaire après destruction des cellules pariétales et épithéliales de la zone du collet et de la lumière des glandes (Atteinte profonde de la muqueuse) (**).
 - Diminution de la hauteur de la muqueuse glandulaire fundique (environ 350 μm).
 - Importantes infiltrations de la muqueuse et de la sous-muqueuse par les cellules inflammatoires (Cellules mononuclées).
 - Destruction de certaines zones de la musculature muqueuse (***) .
2. La sous muqueuse est fortement oedématiée ; notons l'augmentation de son épaisseur (environ 200 à 300 μm) et ce, après l'importante infiltration inflammatoire (**Flèche**).

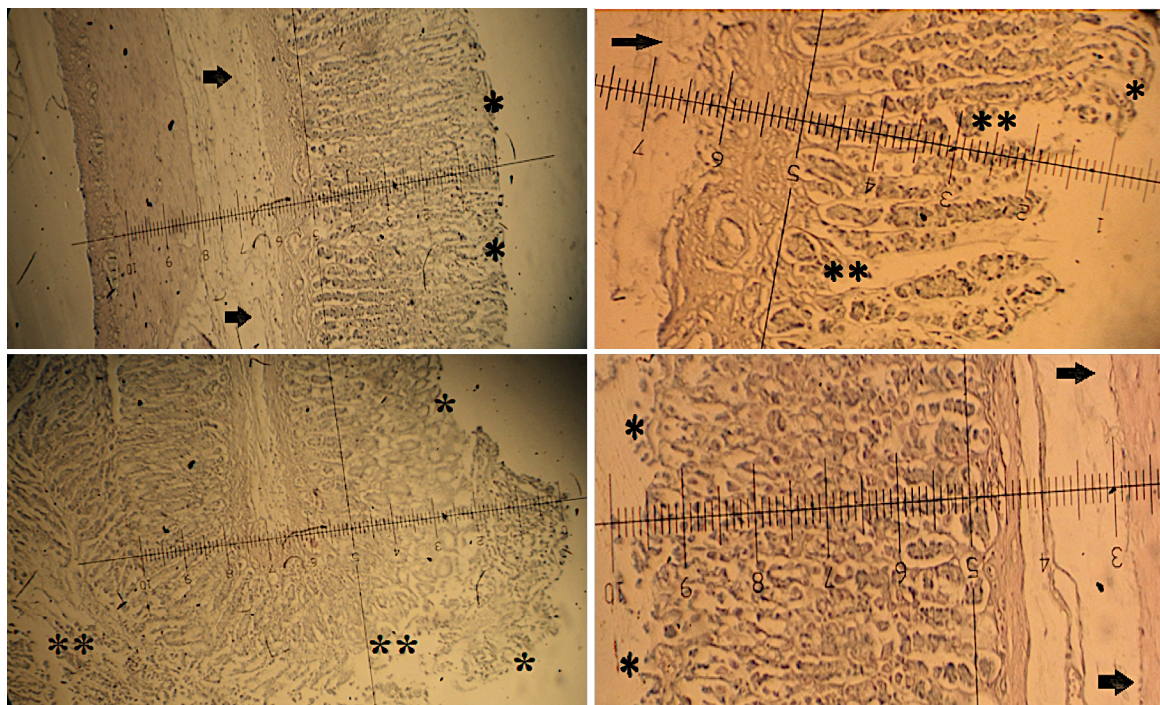


Figure.3.43. Observation histopathologique de la zone glandulaire fundique de l'estomac d'un rat du lot 500 mg/kg p.c (Gx10/ Zeiss) (**Originale, 2017**).

Observations :

1. Importantes érosions hémorragiques (lésions superficielles) de la muqueuse fundique stomacale, par suite d'une destruction de l'épithélium superficiel cryptique des glandes fundiques (Perte de cellules épithéliales apicales) (*).
2. Quelques ulcères de la muqueuse glandulaire et ce, après destruction des cellules pariétales et épithéliales de la zone du collet et de la lumière des glandes (Atteinte profonde de la muqueuse). (**)
3. Abrasion de la muqueuse glandulaire traduite par une légère réduction de la hauteur des glandes fundiques (enviro 300 à 500 μm).
4. Infiltration de la muqueuse et de la sous-muqueuse par les cellules inflammatoires, se manifestant par des œdèmes (Sous-muqueuse légèrement œdématiée (**Flèche**) dans certaines régions, pouvant atteindre 200 μm).

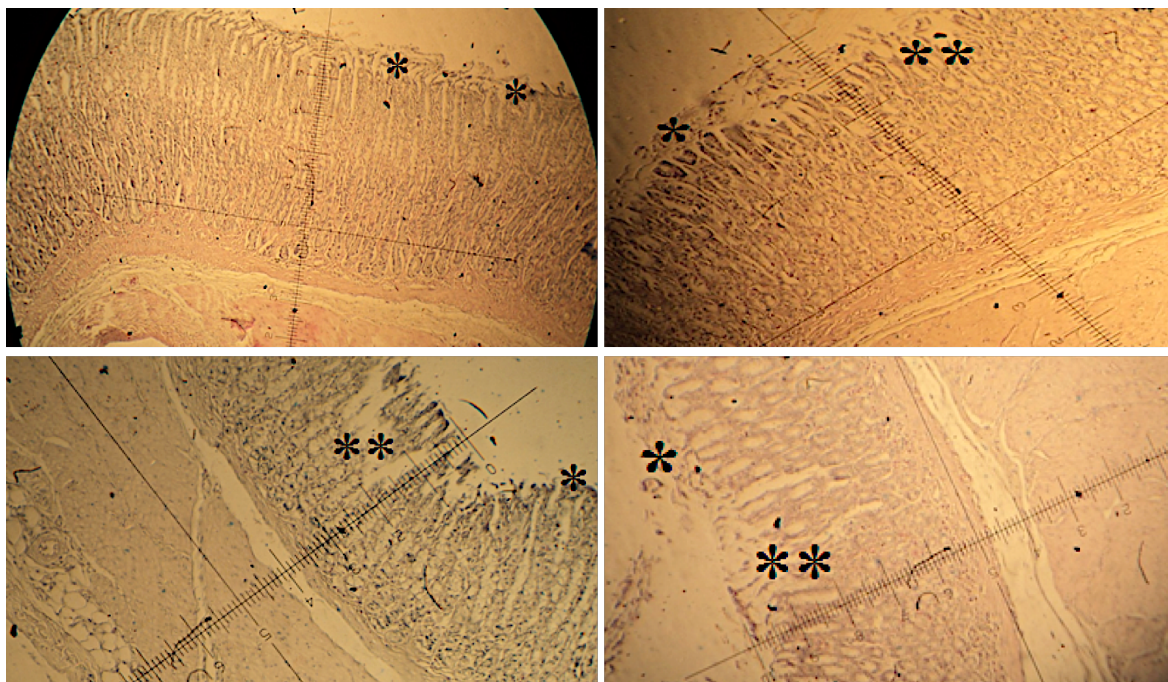


Figure.3.44. Observation histopathologique de la zone glandulaire fundique de l'estomac d'un rat du lot 1000 mg/kg p.c (Gx10/ Zeiss) (**Originale, 2017**).

Observations :

1. Légères érosions hémorragiques (lésions superficielles) de certaines zones de la muqueuse fundique stomacale, suite à une destruction modérée de l'épithélium superficiel cryptique des glandes fundiques (Perte modérée de cellules épithéliales apicales) (*).
2. Quelques ulcères de la muqueuse gladulaire et ce, après destruction des cellules pariétales et épithéliales de la zone du collet et de la lumière des glandes (Atteinte profonde de la muqueuse) (**).
3. Légère abrasion de la muqueuse glandulaire traduite par une légère réduction de la hauteur des glandes fundiques (environ 400 à 500 μm).
4. Légère infiltration de la muqueuse et la sous-muqueuse par les cellules inflammatoires, se manifestant par des œdèmes (Sous-muqueuse légèrement œdématisée (**Flèche**) dans certaines régions).

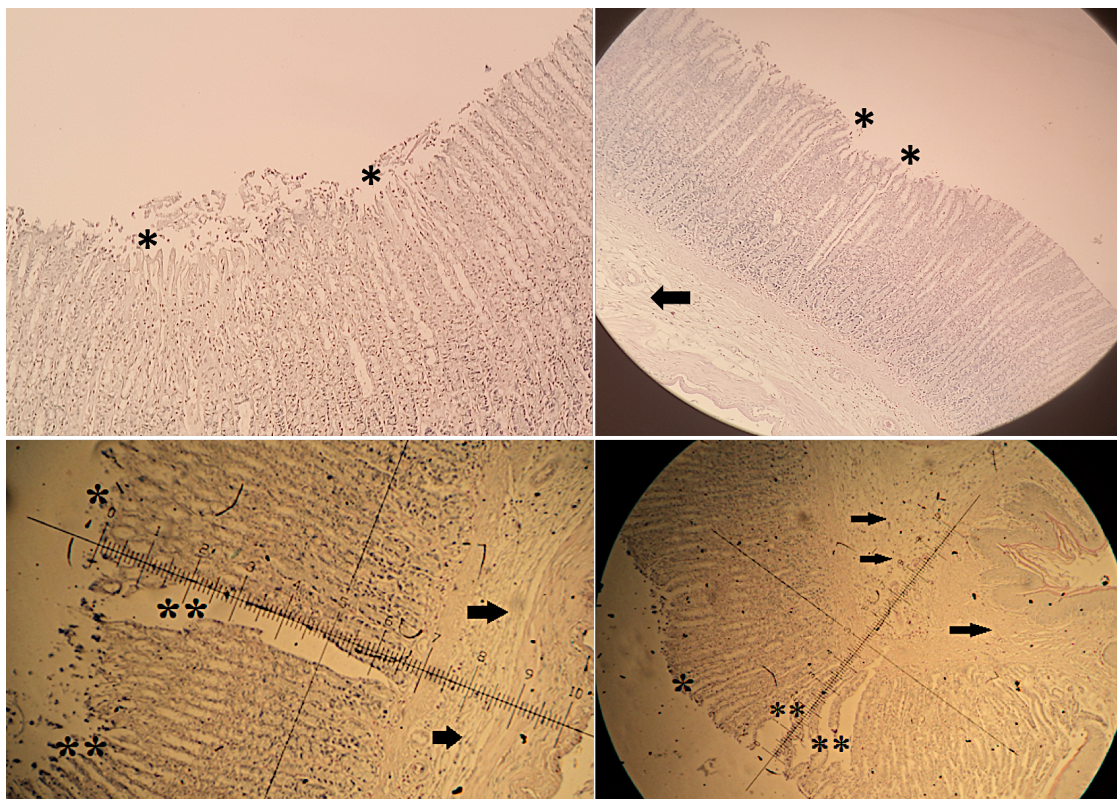


Figure.3.45. Observation histopathologique de la zone glandulaire fundique de l'estomac d'un rat du lot Ranitidine (Gx10/ Zeiss) (**Originale, 2017**).

Observations :

1. Importantes érosions hémorragiques (Lésions superficielles) de certaines zones la muqueuse fundique stomacale, suite à une destruction de l'épithélium superficiel cryptique des glandes fundiques (Perte modérée de cellules épithéliales apicales) (*).
2. Quelques ulcères de la muqueuse gladulaire et ce, après destruction des cellules pariétales et épithéliales de la zone du collet et de la lumière des glandes (Atteinte profonde de la muqueuse) (**).
3. Abrasion massive de la muqueuse glandulaire traduite par une réduction de la hauteur des glandes fundiques (environ : 300 à 500 µm).
4. Importantes infiltrations de la muqueuse et la sous-muqueuse par les cellules inflammatoires se manifestant par des œdèmes (Sous-muqueuse fortement œdématiée (**Flèche**) dans certaines régions, pouvant atteindre 200 µm).

Les ulcères gastriques possèdent plusieurs étiopathogénèses, parmi elles, l'abus de l'alcool (stress à l'éthanol) est l'un des sévères facteurs à l'origine de désordres gastro-intestinaux. Il est connu pour agir directement sur la mucine gastrique, affectant ainsi les défenses de la muqueuse [561] ; [562] ; [395].

Nos résultats montrent clairement que le stress à l'éthanol induit des effets gastro-intestinaux sévères, tels que l'érosion, les ulcérations gastriques ainsi que des hémorragies gastro-intestinales.

Il existe différents médicaments utilisés pour traiter les ulcères gastro-intestinaux notamment des antagonistes des récepteurs de l'histamine (H₂), des inhibiteurs de la pompe à protons, des antiacides et des anticholinergiques [259]. Cependant, la plupart de ces médicaments ont divers effets secondaires indésirables et interactions médicamenteuses [563].

Récemment, les plantes médicinales sont devenues des sources attrayantes des antiulcéreux nouveaux et naturels. Cependant, le mode d'action de leurs principes actifs et leurs effets à long terme a rarement été établis.

Les principes actifs végétaux identifiés les plus connus pour leur activité antiulcéreuse sont, les flavonoïdes [564] ; [565] ; [465] ; [566] ; [567], les tanins [568] et occasionnellement les polysaccharides [569] ; [570] ; [395].

Parmi les flavonoïdes à effet gastroprotecteur, il y'a la quercetine [571] ; [572] ; [573] ; [574], la lutéoline [575] ; [576], la naringénine, [577] ; [578] et la naringine [579] ; [580].

D'autres études ont démontré que les antioxydants phénoliques étaient efficaces pour inhiber la pompe à protons régulée à la hausse, et récupérer les niveaux épuisés d'antioxydants et d'enzymes antioxydantes [581] ; [582].

Nous avons signalé précédemment dans cette étude, la présence des flavonoïdes et des polyphénols, ainsi qu'une bonne activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*A.iva* et aussi que plusieurs flavonoïdes ont été isolés de cette plante telle que, la quercétine, la lutéoléine, la naringénine et la naringine [323] ; [322]. Ceci permet de suggérer que le rôle antiulcéreux de l'espèce *A.iva* est probablement dû à ses flavonoïdes et tanins ainsi qu'à ses composés phénoliques antioxydants.

Nos résultats concordent parfaitement avec ceux obtenus par HABIB et *al.*, [347], où *A.iva* récoltée en Tunisie exerçait une activité antiulcéreuse très significative à partir de la dose de 200 mg/kg p.c.

CONCLUSION

A l'heure actuelle, l'usage des plantes médicinales en phytothérapie gagne de plus en plus d'intérêt dans la recherche biomédicale. La recherche de nouvelles substances naturelles est fortement encouragée tout d'abord, par la source inépuisable de principes actifs, qui sont les plantes, mais aussi par la recherche d'une autre forme de médication beaucoup plus douce.

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal considérable en plantes spontanées aromatiques et médicinales, largement utilisées au quotidien et surtout, dont on a le devoir de valoriser et de conserver.

Le principal objectif de notre travail portait sur la valorisation d'une plante médicinale issue de ce patrimoine. Le choix de cette plante était basé sur fait qu'elle soit classée parmi les plantes médicinales négligées et sous utilisée.

Ainsi, le présent travail a été initié par une enquête ethnobotanique dans la région de récolte, afin de réunir des informations concernant les plantes médicinales et leurs usages thérapeutiques pratiqués par la population dans cette ville.

Les résultats obtenus lors de cette enquête, montrent que parmi les 32 familles botaniques recensées, la famille des *Lamiaceae* est la plus représentée avec un total de 12 espèces citées. Du point de vue ethnobotanique et pharmacologique, même si *A.iva* est une espèce peu connue de la population, la plante entière reste tout de même utilisée, à 88% sous forme de tisane pour traiter principalement les affections digestives.

Cette enquête a permis de constater l'importance accordée à la phytothérapie traditionnelle dans les soins de santé primaires de la population de cette région et aussi de confirmer l'utilisation persistante des plantes médicinales malgré les avancées technologiques dans la médecine moderne.

Notre travail est axé principalement sur la mise en évidence des propriétés biologiques et pharmacologiques de la plante médicinale *A.iva*, en s'orientant avec les données obtenues lors de notre enquête ethnobotanique.

Grace au screening phytochimique préliminaire effectué sur les extraits non volatils d'*A.iva*, un certain nombre de groupes chimiques susceptibles d'activités biologiques et pharmacologiques a été mis en évidence. Il s'agit principalement de tanins, flavonoïdes, terpénoïdes, coumarines, iridoïdes, mucilages, huiles volatiles, saponosides, et composés réducteurs.

L'extraction des composés polyphénoliques de la plante est une étape capitale pour la valorisation des principes actifs. Quantitativement et selon la nature du solvant utilisé, l'extrait éthanolique s'est révélé le plus riche en polyphénols et flavonoïdes, tandis que l'extrait aqueux renfermait plus de tanins condensés.

L'analyse chromatographique des cendres a révélé la présence de différents minéraux ioniques dans la plante à savoir, le sodium, le potassium, le magnésium, le calcium, le chlorure et le sulfate.

L'analyse CG-MS révèle une abondance de terpènes tels que le phytol et d'acides gras tel l'acide linoléique dans l'extrait étheré, et des sesquiterpènes (oxygénés ou non) tels que l'hexahydrofarnesyl acétone (composant majeur), le β -tumerone, le (-)-Caryophyllène oxide, et de monoterpènes oxygénés tels que le thymol, (E)-Anethole, le carvone, le lavendulol et le linalool dans l'huile essentielle.

L'évaluation *in vitro* du potentiel antioxydant des extraits polaires et l'extrait apolaire ainsi que l'huile essentielle révèle une activité antioxydante intéressante et dépendante de leur composition en polyphénols, flavonoïdes et terpènes. Dans le test du DPPH, l'huile essentielle s'est révélée la plus active avec une IC₅₀ de 0,131 mg/ml, suivie par les extraits polaires et l'extrait apolaire. Dans le test du FRAP, le pouvoir réducteur le plus élevé a été observé avec les extraits polaires de la plante.

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne a montré que les extraits polaires avaient une très faible activité voire inexistante vis à vis des souches utilisées, contrairement à l'huile essentielle qui était beaucoup plus efficace, particulièrement sur la souche *Pseudomonas aeruginosa*. L'évaluation quantitative du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle a révélé une très faible CMI et CMB pour la même souche avec un pourcentage (v/v) de 0,03 et 0,06 % respectivement.

Lors du test de toxicité aiguë par voie orale de l'extrait aqueux d'*A.iva*, aucun signe ou symptôme de toxicité, ni de mortalité n'ont été enregistrés, même à la dose la plus élevée (14 g/ml). Le poids des souris traitées n'avait également pas été affecté comparant aux souris du lot control. Ceci a permis de le classer dans la catégorie SGH-5 des produits non toxiques par voie orale, avec une DL₅₀ supérieure à 14 g/kg. Ces résultats semblent être en faveur de son innocuité par voie orale dans le traitement traditionnel de certaines maladies.

Les résultats sur l'ensemble des activités pharmacologiques ont montré que l'extrait aqueux était efficace à dose-dépendant.

En effet l'extrait aqueux montrent une excellente activité antiinflammatoire, avec un pourcentage d'inhibition qui avait atteint les 92,73%. Il a montré également une bonne activité antalgique, en réduisant de manière significative ($p < 0,05$) le nombre de torsions abdominales de 62,75% et une excellente activité antipyrétique en réduisant de façon très significative ($p < 0,01$) l'hyperthermie, avec un pourcentage de réduction atteignant les 43,14% par rapport au lot control.

L'évaluation de l'activité antiulcéreuse a révélé un excellent effet protecteur de l'extrait aqueux contre l'activité ulcérogène de l'éthanol absolu, avec un pourcentage de protection de 75,96% par rapport au lot témoin (+).

Tous les résultats obtenus justifient scientifiquement l'usage d'*Ajuga iva* en pharmacopée traditionnelle dans le traitement des troubles digestifs, l'inflammation et divers maux en général et prouvent que la phytothérapie traditionnelle est toujours sollicitée par la population ayant confiance en l'utilisation des plantes pour se traiter, surtout par celle qui ne peut, ou ne veut plus subir les conséquences de la médecine moderne.

L'ensemble des résultats obtenus *in vitro* et *in vivo* ne constitue qu'une première étape dans la recherche d'éventuelles substances biologiquement actives chez *Ajuga iva*. Des investigations supplémentaires seront requises pour rendre ce travail exploitable dans le cadre de la mise au point d'un phytomédicament.

La conclusion de cette étude nous permet de dégager quelques perspectives pouvant faire suite à ce travail. Ainsi, il serait intéressant de :

- Approfondir les travaux d'enquête pour mieux recenser les différentes espèces spontanées de la région d'étude et dans différents domaines ;
- Isoler et identifier les composés phénoliques et flavonoïdes dans différents extraits polaires ; ainsi que les autres groupes de composés chimiques responsables des activités biologiques et pharmacologiques d'*Ajuga iva* ;
- Évaluer la toxicité chronique des extraits polaires bruts, ainsi que leurs fractions *in vitro* sur différentes lignées cellulaires et *in vivo* sur des modèles animaux ;
- Évaluer la toxicité aiguë et chronique de l'huile essentielle ;
- Rechercher l'activité antiulcéreuse curative et l'activité cicatrisante *in vivo* ;
- Rechercher l'activité antivirale, antiparasitaire et anticancéreuse *in vitro*.

Enfin, nous recommandons vivement de mettre en place un programme de culture des plantes médicinales, surtout pour les espèces rares et endémiques qui risquent de disparaître, à cause de l'inexistence de procédures de récolte règlementées.

LISTE DES ABREVIATIONS

A.iva : *Ajuga iva*

ADN : Adénosine triphosphate

AINS : Antiinflammatoires Non Stéroïdiens

AIS : Antiinflammatoires Stéroïdiens

ARP : Antiradical Power

ARS : Azote Reactive Species

ATCC : American Type Culture Collection

ATP : Adenosine Triphosphate

CEI : Chromatographie Ionique

CLSI : Clinical & Laboratory Standards Institute

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

COX : Cyclooxygénases

DAMP : Damage Associated Molecular Pattern

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

FRP : Ferric reducing power

GC : Glucocorticoïde

GC-MS : Gas Chromatography – Mass spectrophotometry

H.E : Huile Essentielle

HP : Hewlett Packard

IL : Interleukine

INF : Interféron

LOX : Lipoxygénases

MEC : Matrice Extracellulaire

MH : Muller Hinton

NMRI : Naval Medical Research Institute

OECD : Organization for Economic Co-operation and Development

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

p.c. : poids corporel.

PAMP : Pathogen Associated Molecular Pattern

PG ou PGE : Prostaglandines

ROS : Reactive Oxygen Species

SEM : Standard Error of mean

SNC : Système Nerveux Central

TIC : Total Ion Chromatogram

TNF : Tumor Necrosis Factor

TOF : Time of fly

BIBLIOGRAPHIE**1. GLOSSAIRE**

ad libitum : Au choix (à volonté)

Adaptogène : facilite l'adaptation aux modifications du milieu et au stress.

Antibiotique : utilisé contre les infections causées par les bactéries.

Antiseptique : utilisé pour lutter contre les germes de la peau et des muqueuses.

Antispasmodique, Spasmolytique : diminue les spasmes musculaires.

Astringent : resserre et assèche les tissus, et peut faciliter leur cicatrisation.

Cardiotonique : renforçant les contractions du cœur.

Carminatif : stimule les sécrétions salivaires et gastriques et la motilité de l'intestin.

Cholagogue : provoquer la vidange de la vésicule biliaire dans l'intestin.

Cholérétique : augmenter la sécrétion de la bile.

Dépuratif : débarrasser l'organisme de ses toxines et de ses déchets.

Diurétique : augmente la diurèse.

Émoullient ou **Laxatif** : facilitant l'évacuation des selles.

Expectorant : Fluidifiant bronchique facilitant l'expectoration.

Hépatique : agit sur le foie

Immunostimulant : stimule les défenses immunitaires.

Lyophilisé : déshydraté.

Nervins : agit sur le système nerveux central.

Relaxant : favorise la relaxation.

Sédatif : agit contre la douleur, l'anxiété, l'insomnie.

Stimulant : qui a un effet favorable sur le fonctionnement de certains organes.

Stomachique : favorise le fonctionnement normal de l'estomac.

Tensioactif : capacité de mousser en présence de l'eau.

Tonique : reconstitue les forces vitales de l'organisme ou d'une fonction.

Références

- **Hostettmann K., et Marston A. (2005)**. Saponins. Cambridge University Press. pp1-2.
- **Larousse dictionnaire en ligne.** Disponible sur https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/ad_libitum/1120?q=ad+libitum+#1110 (consulté le 24.11.2018).
- **Scimeca D. (2006)**. Les plantes du bonheur : Le coup de pouce des plantes contre tous les coups de blues. Alpen Ed. Disponible sur <https://books.google.dz/books?id=MnSP1srHpHoC&pg=PP94&dq=Adaptog%C3%A8ne&hl=fr&sa=X&ved=0ahUKEwi5rJqBnpTfAhVPvxokHTXhAoc4ChDoAQhGMAU#v=onepage&q=Adaptog%C3%A8ne&f=false> (consulté le 24.11.2018).

2. Classification APG IV

FILOGENIA DE LAS ANGIOSPERMAS
Sistemática de las plantas con flores

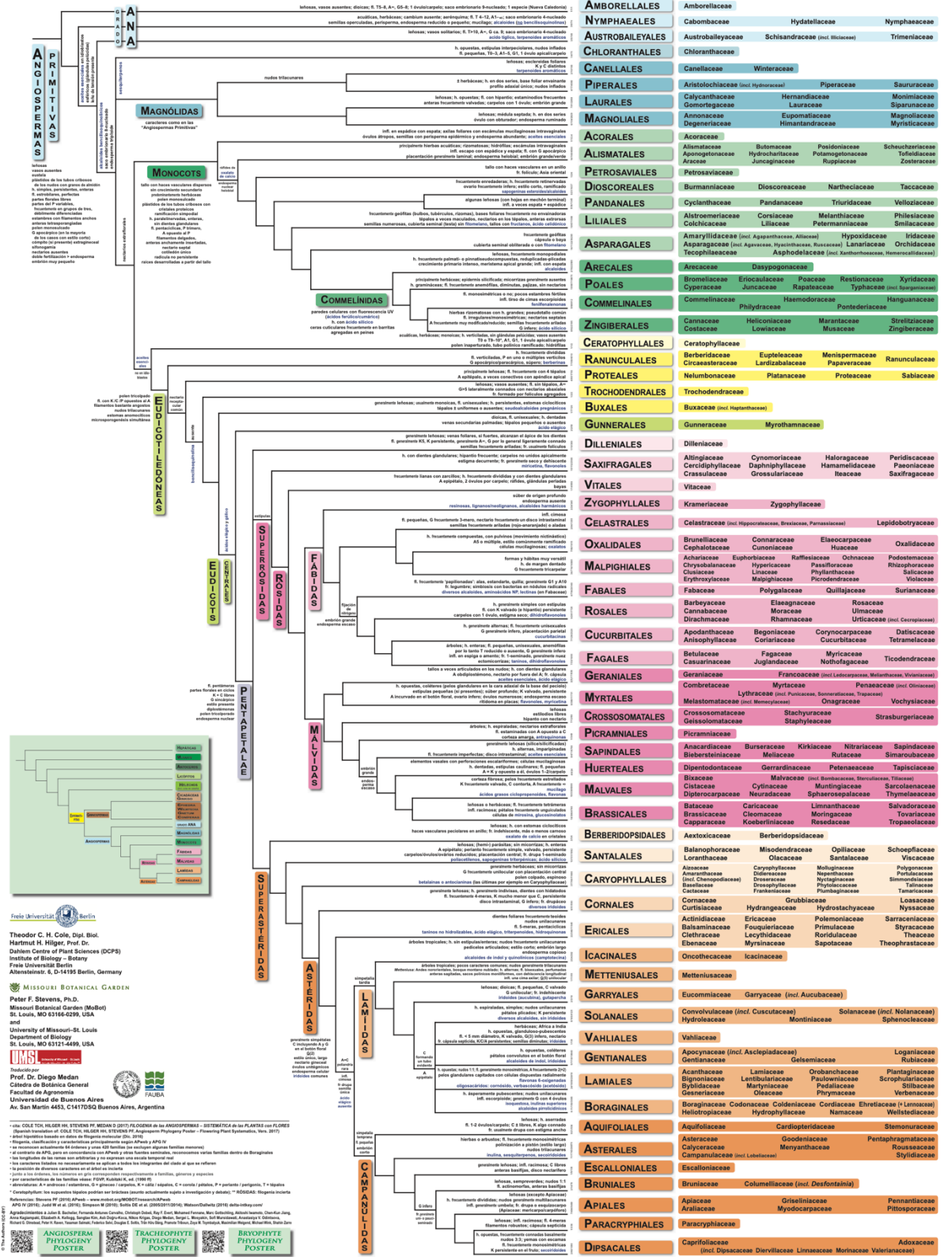


Figure.1. Phylogénie des angiospermes

MATERIEL BIOLOGIQUE

1. Matériel animal

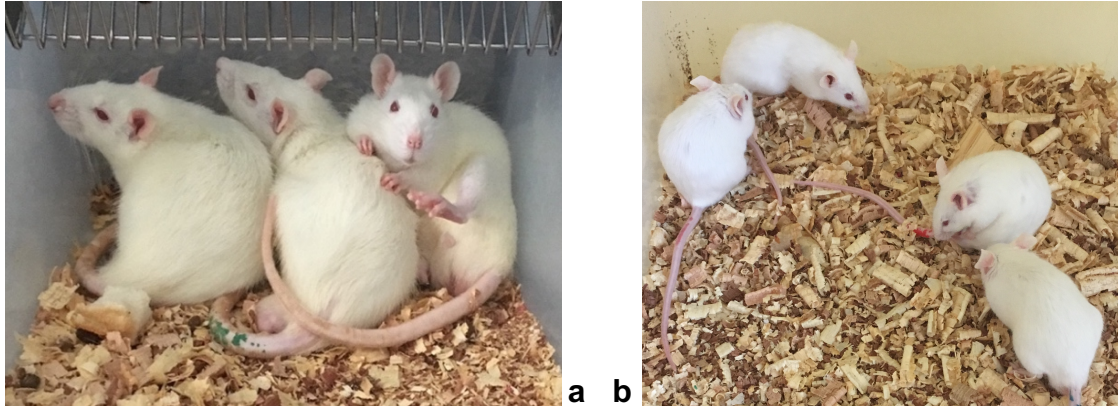


Figure.1. Animaux utilisés. a) Rats WISTAR. b) Souris NMRI (Originale, 2015).

Tableau.1. Composition des granulés des animaux (ONAB Bejaia).

Composants	%
Maïs	52.80
Son	10.80
Soja	32.10
Calcaire	01.50
Phosphate	00.80
Complément vitaminique	02.00

2. Matériel microbiologique

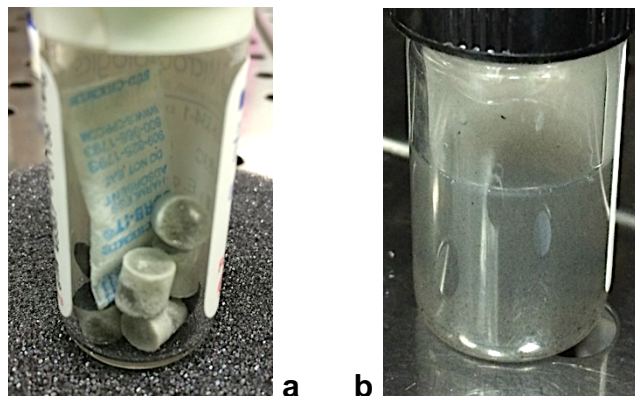


Figure.2. Présentation des souches microbiennes. a) lyophilisées sous forme de Pastilles b) en suspension après reconstitution (Originale, 2016).

FICHES ET SUPPORTS

Fiche – Enquête Ethnobotanique : Usage des plantes médicinales

Répondez de manière précise et honnête.
Cochez les cases qui vous semblent convenables.

Renseignements généraux

1. Age: < 20 (20-30) (30 – 40) (40 – 50) (50 –60) >60
2. Sexe : Masculin Féminin
3. Niveau d'étude : Analphabète Primaire Secondaire Universitaire
4. Profession : Etudiant Employé Retraité
 Profession libérale sans profession
5. A quel genre de médecine avez vous recours quand vous vous sentez malade ?
- Médecine traditionnelle → Pourquoi ? Efficace Moins cher
 Par acquisition Médicament inefficace
- Médecine moderne → Pourquoi ? Plus efficace Plus précise
 Je n'utilise pas de plantes
- Si vous avez coché les deux, par laquelle vous commencez ? Traditionnelle Moderne
6. Résultat des soins : Guérison Amélioration Aucun effet

Pour les utilisateurs des plantes médicinales

7. Utilisez vous les plantes à des doses précises (mesure ou pesée) ? Oui Non
8. Qui est ce qui vous propose les plantes que vous utilisez ?
 Autres utilisateurs Herboriste Pharmacien Médecin Livres
9. D'où vous procurez vous vos plantes ?
 Directement de la nature Herboriste Pharmacien
10. A quelle fréquence utilisez-vous les plantes médicinales :
 Très fréquemment Fréquemment Rarement Très rarement
11. Renoncerez vous aux médicaments en faveur des plantes médicinales ? Oui Non

12. Quelles sont les plantes médicinales que vous connaissez ?

Citez la plante, la partie utilisée (feuilles, fleurs, fruits, toute la plante, racines, huile), mode de préparation (tisane, cataplasmes, macération, fumigation (vapeurs) et les maladies pour les quelles elle est utilisée.



Plante	Partie utilisée	Mode de préparation	Maladies
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

13. Connaissez vous la plante médicinale «Chendgoura» *Ajuga iva* ou ivette musquée ? Oui Non

14. Elle est utilisée pour traiter quelle maladie ?

-
-
-
-



15. Quelle partie de la plante est utilisée : Feuilles Toute la plante Racines

16. Sous quelle forme est-elle utilisée ? Tisane Poudre

17. D'où vous procurez vous cette plante ? Directement de la nature Herboriste

Merci pour votre collaboration

Figure.1. Fiche ethnobotanique

دراسة إحصائية عن استخدام النباتات الطبية

يجب ان تكون الاجابة دقيقة وصادقة
ضع علامة على المربعات التي تعتقد انها مناسبة

معلومات عامة

العمر > 20 (20-30) (30-40) (40-50) (50-60) >60

الجنس انثى ذكر

مستوى الدراسة ابي ابتدائي ثانوي جامعي

المهنة طالب موظف مهنة حرّة متقاعد بدون وظيفة

الى اي نوع من الطب تلجأ عندما تشعر بالمرض؟

الطب التقليدي ، لماذا؟ فعال غير مكلف إكتسابا* ادوية غير فعالة

الطب الحديث ، لماذا؟ اكثر فعالية اكثر دقة لا أستعمل النباتات

إذا إخترت الإثنين، لأيّ منهم تلجأ الأول؟ الحديث التقليدي

ما هي نتائج العلاج ؟ شفاء تحسن بدون مفعول

لمستعملي النباتات الطبيّة

هل تستعمل النباتات بجرعات دقيقة (بالميزان)؟ نعم لا

من ينصحك بالنباتات التي تستخدمها؟ مستخدمين آخرين بائع الاعشاب صيدلي

طبيب كتب

من اين تتحصل على النباتات التي تستخدمها؟ من الطبيعة بائع الاعشاب صيدلي

كم من مرّة تستعمل النباتات؟ دائما غالبا نادرا نادرا جدًا

هل انت مستعد للتخلي عن الادوية لصالح النباتات الطبيّة؟

ما هي النباتات الطيِّبة التي تعرفها؟ اذكر اسمها، الجزء المستعمل فيها (اوراق، ازهار، فاكهة، جذور، بذور، النبتة كاملة)، كيفية التحضير (شاي، كمادات، نقع، بخور)، الامراض التي تستعمل فيها.

الامراض	كيفية التحضير	الجزء المستعمل	النبتة
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....



هل تعرف النبتة " شندفورة " ؟ نعم لا

ما هي الامراض التي تعالج بها؟

.....

.....

.....

.....

ما هو الجزء المستعمل فيها؟ النبتة كاملة جذور اوراق

كيف تستعمل؟ شاي مسحوق

من اين تحصل عليها؟ من الطبيعة بائع الاعشاب

شكرا على مشاركتكم

Figure.2. Fiche ethnobotanique version arabe

Fiche de surveillance des souris

Date :

Substance : **Provenance** :
Véhicule : **Sexes** :
Volume : **Age** :
Administration : **Nombre** :
Espèce / Souche : **Régime** :
Dose initiale du test : **Conditions d'hébergement** :

Évolution pondérale

Couleur	Avant jeune	J 0	J 1	J 7	J 13	J 14
Orange						
Vert						
Bleu						
Rose						
Rouge						

Signes de toxicité

	30m	4h	24h	48h	J7	J14
Fourrure et peau						
Yeux						
Salivation						
Somnolence						
Léthargie						
Coma						
Convulsion						
Tremblements						
Asthénie						
Anorexie						
Diarrhée						
Hypoactivité						
Mortalité						

Observation :

Autopsie :

Figure.3. Fiche de surveillance pour le test de toxicité

PRODUITS CHIMIQUES

- Acétate de sodium (Sigma-Aldrich)
- Acide acétique (Sigma-Aldrich)
- Acide ascorbique (Alfa Aesar)
- Acide chlorhydrique (Biochem)
- Acide gallique (Biochem)
- Acide méthanosulfonique
- Acide sulfurique (Fluka)
- Acide tannique (Biochem)
- Acide trichloracétique (Sigma-Aldrich)
- Alcool isoamylique (Sigma-Aldrich)
- Alpha-tocopherol (Alfa Aesar)
- Ammoniaque (Sigma-Aldrich)
- Aspégic (Sanofi)
- Bouillon Sabouraud (IdelaLabo)
- Carbonate de sodium (Sigma-Aldrich)
- Carraghénine (Sigma-Aldrich)
- Chloroforme (Biochem)
- Chlorure de fer (Biochem)
- Copeaux de magnésium
- Désinfectant pour paille
- Diméthyle sulfoxyde (Riedel-deHaën)
- DPPH (Alfa Aesar)
- Eau distillée (IdelaLabo)
- Eau physiologique 0,9%
- Éosine
- Éthanol (Sigma-Aldrich)
- Éther de pétrole (Sigma-Aldrich)
- Éther diéthylique (Sigma-Aldrich)
- Ferricyanure de potassium (Sigma-Aldrich)
- Formol (Sigma-Aldrich)
- Hématoxyline de groat
- Hydroxyde de sodium (Biochem)
- Hypochlorite de sodium
- Indométacine (Saidal)
- Lamidaz (Saidal)
- Levure de bière (Saf instant)
- Méthanol (Sigma-Aldrich)
- Paraffine
- Primazol (Saidal)
- Quercétine (Alfa Aesar)
- Ranitidine (Merinal)
- Réactif de Fehling (Sigma-Aldrich)
- Réactif de Stiasny
- Réactif Dragendorff (Sigma-Aldrich)
- Réactif Folin Denis (Fluka)
- Réactif Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich)
- Résine
- Rouge Congo
- Solution de potasse
- Solution hydroalcoolique
- Solution tampon phosphate
- Sulfate de sodium (Sigma-Aldrich)
- Trichlorure d'aluminium (Biochem)
- Vert de Méthyle
- Xylène

APPAREILLAGE

- Agitateur magnétique (VV3, VWR)
- Autoclave
- Automate de déshydratation et d'éclaircissement de type carrousel (Myr)
- Bain marie réglable (nb20, Nüve)
- Bain marie réglable (Firlabo)
- Balance analytique (Nüve)
- Balance de précision (ALS 220-4N, KERN)
- Balance de précision (ABS 220-4N, KERN)
- Bec bunsen
- Centrifugeuse (Nüve NF 200)
- Chauffe ballon réglable
- Chromatographe (Perkin Elmer (USA), modèle CLARUS 500 GC) couplé à un détecteur spectrométrie de masse (turbomasstm).
- Chromatographe (DIONEX modèle ICS 3000)
- Étuve (Skura)
- Étuve (Nüve)
- Évaporateur rotatif avec pompe à vide (Digital water bath RE300DBStuart)
- Four à moufle
- Hôte à flux laminaire horizontal désinfectée
- Lampe UV
- Chromatographe MASTER GC DANI (DANI Instruments, Inc, Italie) couplé à un détecteur spectrométrie de masse TOFMS de la même marque
- Loupe binoculaire (Zeiss 475002)
- Lyophilisateur (CHRIST ALPHA 2-4 LSC plus).
- Microscope optique (Zeiss)
- Microscope optique (Olympus CX21FS1)
- Microtome (Leica, Leica Biosystems)
- PH mètre (HANNA instruments)
- Plaque chauffante réglable
- Plaque froide à -5°C (Leica EG1150C, Leica Biosystems)
- Pulvérisateur (KENWOOD)
- Refractomètre (J357, Rudolph Research Analytical)
- Réfrigérateur et congélateur (Samsung).
- Spectrophotomètre à double faisceau (Shimadzu UV-1601)

VERRERIE ET AUTRE MATERIEL

3. Verrerie

- Ampoule à décanter
- Ballons
- Béchers
- Clevenger
- Creusets
- Creusets en porcelaine
- Cuve a coloration avec couvercle
- Entonnoirs
- Éprouvettes gradués
- Erlenmeyers
- Fiole jaugée
- Pipette graduée
- Pipettes pasteur
- Soxhlet
- Tubes à essais
- Verre à pied

4. Autre matériel

- Bistouri
- Boites de Pétri 90 mm et 60 mm à usage unique
- Cage a rongeurs
- Cartouches en cellulose
- Cassettes d'histologie
- Ciseaux
- Cotton
- Compresses à gaz
- Cuve de spectrophotomètre en plastique à usage unique
- Cuve de spectrophotomètre en quartz
- Disques en cellulose 6 mm (dominique Dutscher SAS, Brumath, France)
- Écouvillons stériles à usage unique
- Galeries API (API® 20E, API® Staph et API® 20C, Biomerieux™, France)
- Gants chirurgicaux à usage unique
- Lamelles en verre
- Lames de bistouri
- Lames porte objet
- Loupe a main

-
- Lunettes de protection
 - Masque à gaz avec filtres jetables
 - Micropipettes réglables 100-1000 µl, 50-100 µl
 - Milieux de culture (gélose nutritive, Mueller Hinton, Sabouraud)
 - Moules d'histologie en inox
 - Papier absorbant
 - Papier aluminium
 - Papier filtre (Sophyc Socolab)
 - Pied à coulisse (BERENT)
 - Pince fine pour dissection
 - Pinces
 - Pipettes pasteur stériles
 - Pissette
 - Porte lames en inox
 - Portoirs en inox
 - Seringues (insuline, 3.5, 5 ml)
 - Sonde cannelée
 - Sondes de gavage en inox
 - Spatule
 - Thermomètre digital (Eco temp Basic, Omron)
 - Tissu mousseline
 - Aiguilles de fixation (dissection)
 - Tubes à prélèvements 5cc en verre.
 - Tubes Eppendorf

ENQUETE ETHNOBOTANIQUE

Tableau.1. Les différentes espèces recensées lors de l'enquête ethnobotanique

Famille	Nom commun français	Nom commun arabe	Nom berbère	Nom scientifique	Citations
Asteraceae	Armoise	Chih	Chih	<i>Artemisia herba-alba</i>	18
	Camomille	Baboune	Wamlal	<i>Chamaemelum nobile</i>	14
	Inule visque	Magraman	Amagraman	<i>Inula viscosa</i>	2
	Artichaud	Karnoun	Thifarwa	<i>Cynara scolymus</i>	1
	Pulicaire odorante	-	Silmekhsa	<i>Pulicaria odora</i>	1
Apiaceae	Fenouil	Besbas	Abesbas	<i>Foeniculum vulgare</i>	17
	Anis verte	Habet el hlaw	Lheb lahlawa	<i>Pimpinella anisum</i>	8
	Persil	Maâdnous	Imzi	<i>Petroselinum crispum</i>	6
	Cumin	Kemmoun	Akemmoun	<i>Cuminum cyminum</i>	4
	Céleri	Krafes	Lekrafes	<i>Apium graveolens</i>	1
	Coriandre	Kosbor	Lkusver	<i>Coriandrum sativum</i>	1
Fabaceae	Séné	Sna mekki	Agargar	<i>Senna alexandrina</i>	5
	Fenugrec	Halba	Tifides	<i>Trigonella foenum-graecum</i>	4
	Reglisse	Ârq essous	Asyar azidan	<i>Glycyrrhiza glabra</i>	2
	Caroubier	Kharroub	Akharrouv	<i>Ceratonia siliqua</i>	1
Lamiaceae	Menthe	Naânaâ	Naânaâ	<i>Mentha spicata</i>	45
	Origan	Zaâtar	Zaâtar	<i>Origanum vulgare</i>	27
	Thym	Ziitra	Tazaâtart	<i>Thymus vulgaris</i>	18
	Romarin	Klil	Aklil	<i>Rosmarinus officinalis</i>	14
	Ivette	Chendgoura	Thouf etoulba	<i>Ajuga iva</i>	6
	Sauge	Siwak ennabi	Agurim	<i>Salvia officinalis</i>	5
	Lavande	Helhal	Amezzir	<i>Lavandula angustifolia</i>	4
	Marjolaine	Merdekkouche	Timejja	<i>Origanum majorana</i>	4
	Marrube	Merriwa	Marnuyet	<i>Marrubium vulgare</i>	3
	Melisse	Trandjane	ifer tzizwa	<i>Melissa officinalis</i>	3
	Menthe Pouliot	Fliou	Felgou	<i>Mentha pulegium</i>	3
	Basilic	Hbeq	Lahveq	<i>Ocimum basilicum</i>	2
Lauraceae	Cannelle	Quorfa	Lquerfa	<i>Cinnamomum verum</i>	9
	Camphrier	Kafour	-	<i>Cinnamomum camphora</i>	1
	Laurier noble	Rand	Rand	<i>Laurus nobilis</i>	1
	Laurier rose	Defla	ilili	<i>Nerium oleander</i>	1
Myrtaceae	Eucalyptus	Kalitous	Kalitous	<i>Eucalyptus globulus</i>	18
	Clou de girofle	Kronfel	Leqronfel	<i>Syzygium aromaticum</i>	5
	Myrte	Rihane	Chilmun	<i>Myrtus communis</i>	1

(Suite)

Rhamnaceae	Jujubier	Sedra	Azeggar	<i>Ziziphus jujuba</i>	2
	Nerprun	Mélices	Imliles	<i>Rhamnus cathartica</i>	1
Rosaceae	Amandier	Louz	Luz	<i>Prunus dulcis</i>	1
	Aubepine	Bou mequeri	Idmim	<i>Crataegus laevigata</i>	1
	Neflier	Zaâror	Zaâror	<i>Mespilus germanica</i>	1
Rutaceae	Citronnier	El quqres	qares, lim	<i>Citrus limon</i>	2
	Rue	Fidjel	Fijel	<i>Ruta graveolens</i>	2
Zingiberaceae	Gingembre	Skenjbir	Skanjbir	<i>Zingiber officinal</i>	17
	Curcuma	Korkom	-	<i>Curcuma longa</i>	2
Amaryllidaceae	Ail	Thoum	Thicheurth	<i>Allium sativum</i>	1
Anacardiaceae	Lentisque	Dharw	Thidekt	<i>Pistacia lentiscus</i>	3
Brassicaceae	Cresson	Rchad	Guerninouche	<i>Nasturtium officinale</i>	6
Boraginaceae	Bourrache	Harcha	Chikh levqul	<i>Borago officinalis</i>	1
Caryophyllaceae	Spergulaire ou sabline	Fettat lahdjer	-	<i>Arenaria rubra</i>	1
Cupressaceae	Genévrier	Âarâar	Âarâar	<i>Juniperus phoenicea</i>	1
Gentianaceae	Petite centaurée	Merraret el hnech	Quelilou	<i>Centaurium erythraea</i>	1
Liliaceae	Oignon	Bsal	Tibselt ou Azalim	<i>Allium cepa</i>	1
Linaceae	Lin	Kettan	Thifert	<i>Linum usitatissimum</i>	3
Lythraceae	Grenade	Ramman	Tharemmant	<i>Punica granatum</i>	4
Malvaceae	Mauve	El medjir, Khobeiz	Mejjir	<i>Malva sylvestris</i>	1
Moraceae	Figuier	Karmous	Thaneqlets	<i>Ficus carica</i>	1
Moraceae	Murier	Toute el âalik	Tut amelal	<i>Morus alba</i>	1
Oleaceae	Olivier	Zitouna	Thazemmourth	<i>Olea europaea</i>	6
Pinaceae	Pin	Snouber	Azumbëi	<i>Pinus halepensis</i>	1
Poaceae	Orge	Chair	Timzïn	<i>Hordeum vulgare</i>	1
Ranunculaceae	Nigelle	Sanoudj	Zraraâ	<i>Nigelle sativa</i>	5
Selaginellaceae	Fleur de Jéricho	El lalla ou Chadjarat meriem	-	<i>Selaginella lepidophylla</i>	2
Theaceae	Thé vert	Atay	Atay	<i>Camellia sinensis</i>	5
Tiliaceae	Tilleul	Zeizafoune	-	<i>Tilia europaea</i>	1
Urticaceae	Ortie	Horraïg	Azegdhouf	<i>Urtica dioica</i>	4
Verbenaceae	Verveine	Louisa	Lwiza	<i>Aloysia citrodora</i>	58

ETUDE PHYTOCHIMIQUE

1. Extractions



Figure.1. Extraction au Clevenger (Originale, 2015).



Figure.2. Extraction au Soxhlet (Originale, 2015).

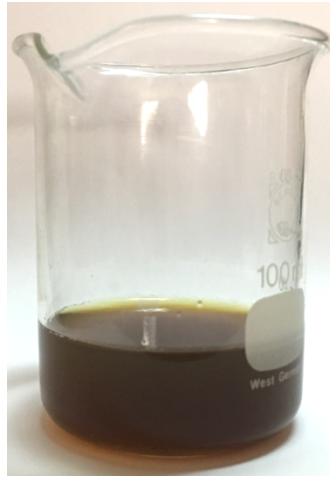


Figure.3. Décoction aqueuse (Originale, 2015).



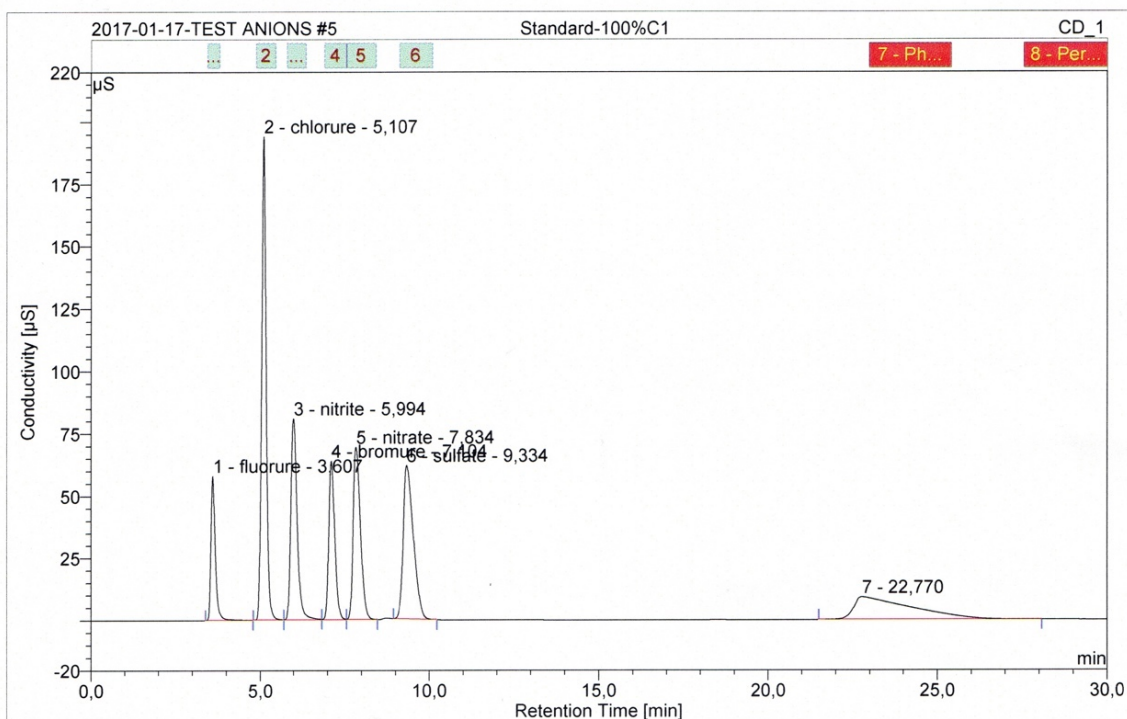
Figure.4. Évaporation du solvant dans l'évaporateur rotatif (Originale, 2015).



Figure.5. Extraits secs. a) éthanolique. b) étheré. c) aqueux. (Originale, 2015).

2. Chromatographie ionique

5 Standard-100%C1			
Sample Name:	Standard-100%C1	Injection Volume:	25,0
Vial Number:	2	Channel:	CD_1
Sample Type:	standard	Wavelength:	n.a.
Control Program:	test anions 40 min	Bandwidth:	n.a.
Quantif. Method:	anion	Dilution Factor:	1,0000
Recording Time:	17/1/2012 13:44	Sample Weight:	1,0000
Run Time (min):	30,00	Sample Amount:	1,0000

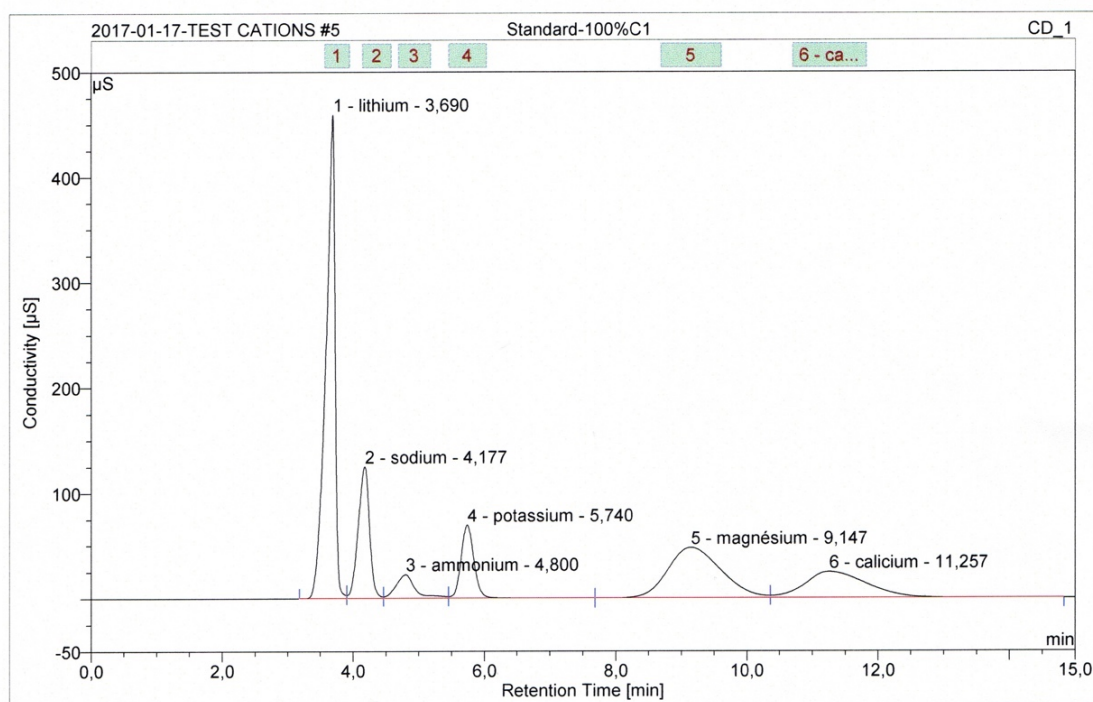


No.	Ret.Time min	Peak Name	Height µS	Area µS*min	Rel.Area %	Amount mg/kg	Amount ppm
1	3,61	fluorure	58,014	8,721	6,90	19576039,2113	19,576
2	5,11	chlorure	194,088	29,870	23,62	99876349,9778	99,876
3	5,99	nitrite	80,867	17,580	13,90	97167247,8946	97,167
4	7,10	bromure	63,846	13,222	10,46	#####	100,375
5	7,83	nitrate	69,390	17,385	13,75	#####	100,432
6	9,33	sulfate	61,746	21,544	17,04	99896416,6642	99,896
7	22,77	n.a.	9,107	18,120	14,33	n.a.	n.a.
Total:			537,059	126,441	100,00	517,323	

Figure.6. Chromatogramme des anions standards

5 Standard-100%C1

Sample Name:	Standard-100%C1	Injection Volume:	25,0
Vial Number:	3	Channel:	CD_1
Sample Type:	standard	Wavelength:	n.a.
Control Program:	cations	Bandwidth:	n.a.
Quantif. Method:	cation	Dilution Factor:	1,0000
Recording Time:	17/1/2012 12:50	Sample Weight:	1,0000
Run Time (min):	15,00	Sample Amount:	1,0000



No.	Ret.Time min	Peak Name	Height µS	Area µS*min	Rel.Area %	Amount mg/kg	Amount ppm
1	3,69	lithium	459,171	74,689	38,01	98803824,6945	98,804
2	4,18	sodium	125,151	25,133	12,79	98229849,5539	98,230
3	4,80	ammonium	22,748	8,061	4,10	88917017,5570	88,917
4	5,74	potassium	69,735	15,991	8,14	99444436,8105	99,444
5	9,15	magnésium	47,872	45,126	22,96	97910320,6058	97,910
6	11,26	calcium	24,876	27,516	14,00	97554302,2436	97,554
Total:			749,553	196,516	100,00	580,860	

Figure.7. Chromatogramme des cations standards

3. Screening phytochimique et dosage des métabolites

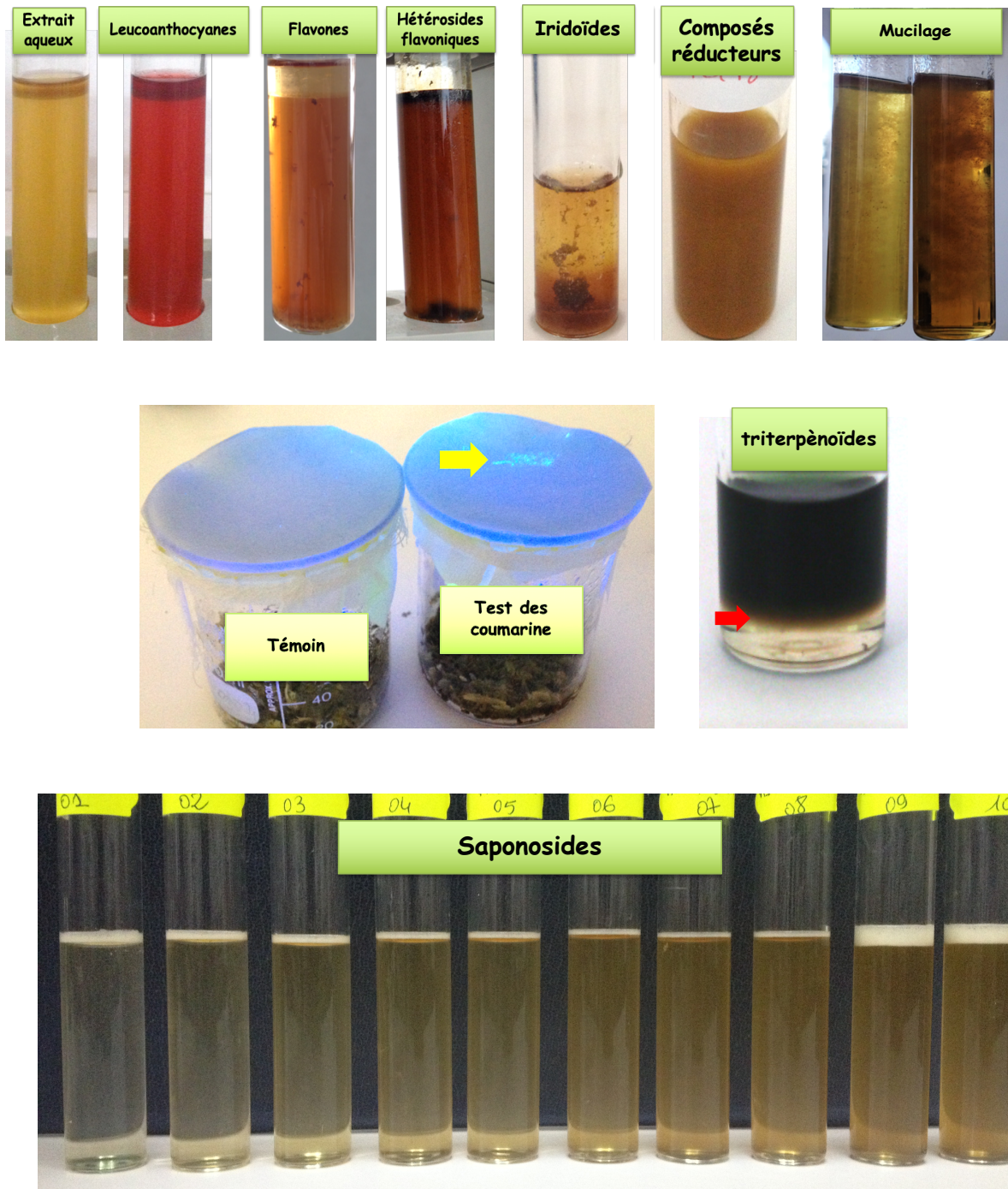
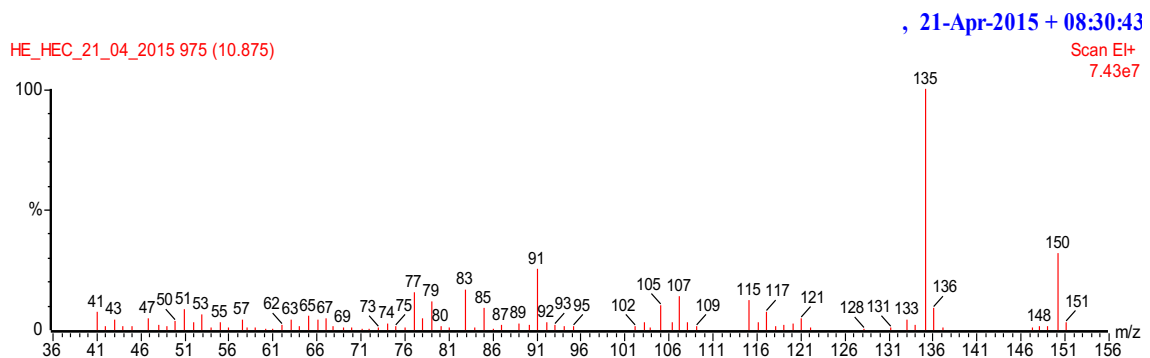
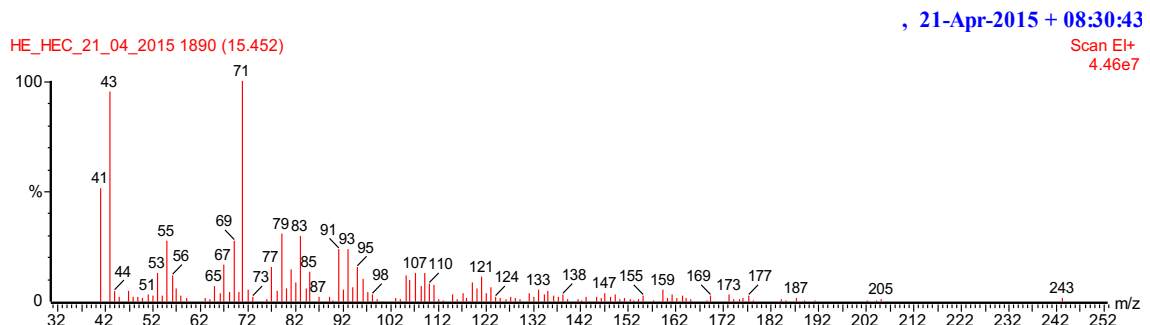
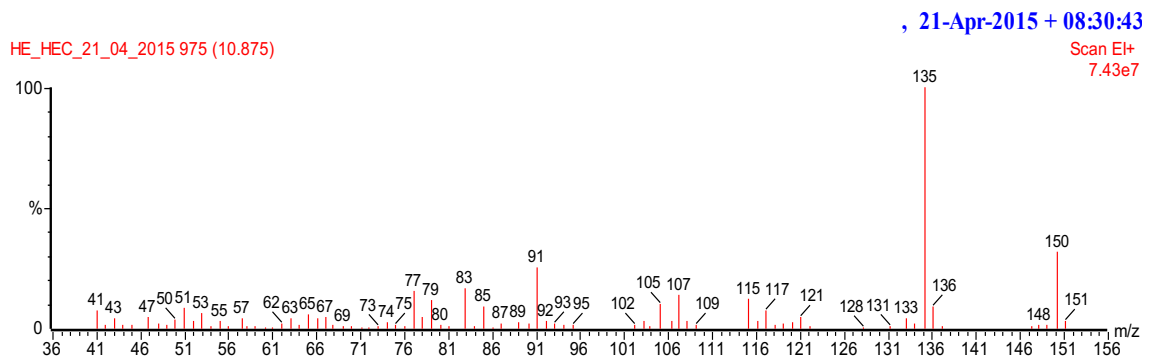
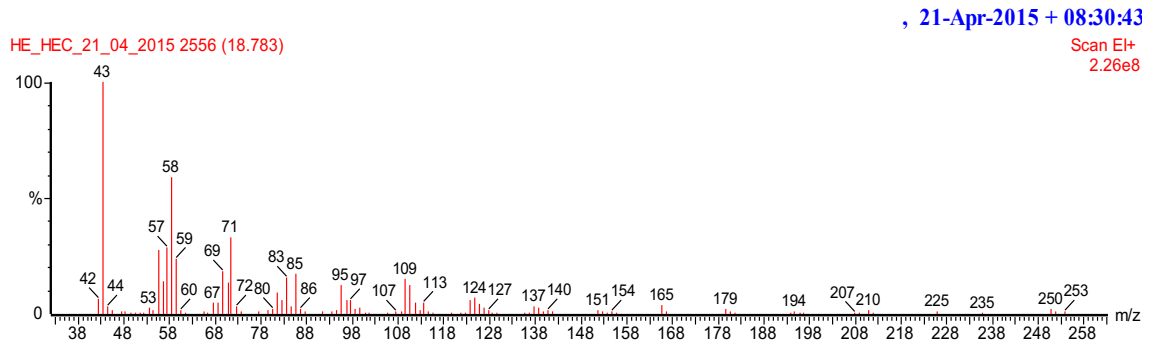


Figure.8. Screening phytochimique préliminaire (Original, 2015).

4. Spectre de masse des composants majoritaires de l'huile essentielle



HE_HEC_21_04_2015 2106 (16.533)

, 21-Apr-2015 + 08:30:43

Scan EI+
3.33e7

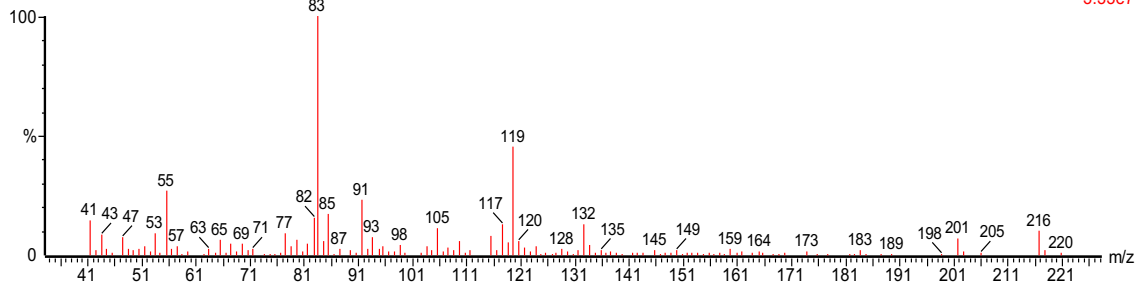


Figure.13. Spectre de masse du Beta-Turmerone

HE_HEC_21_04_2015 763 (9.815)

, 21-Apr-2015 + 08:30:43

Scan EI+
2.29e7

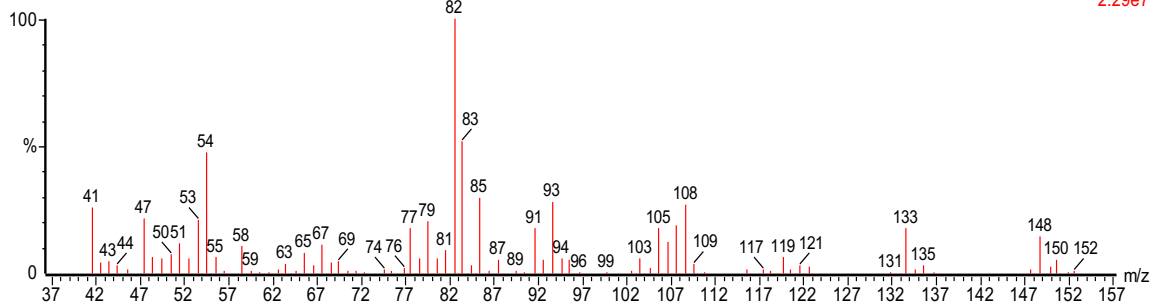


Figure.14. Spectre de masse du Carvone

5. Dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins

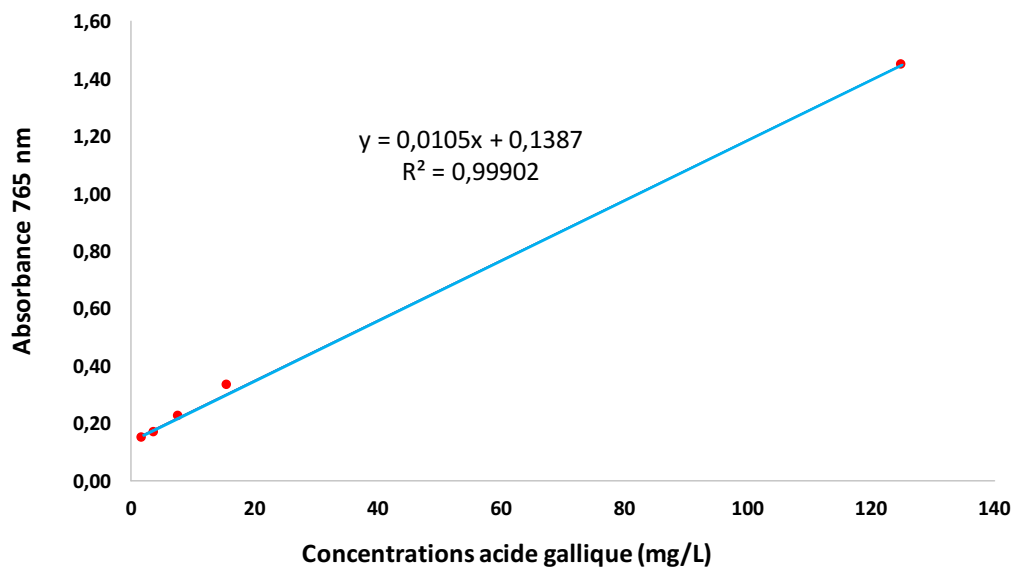


Figure.15. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

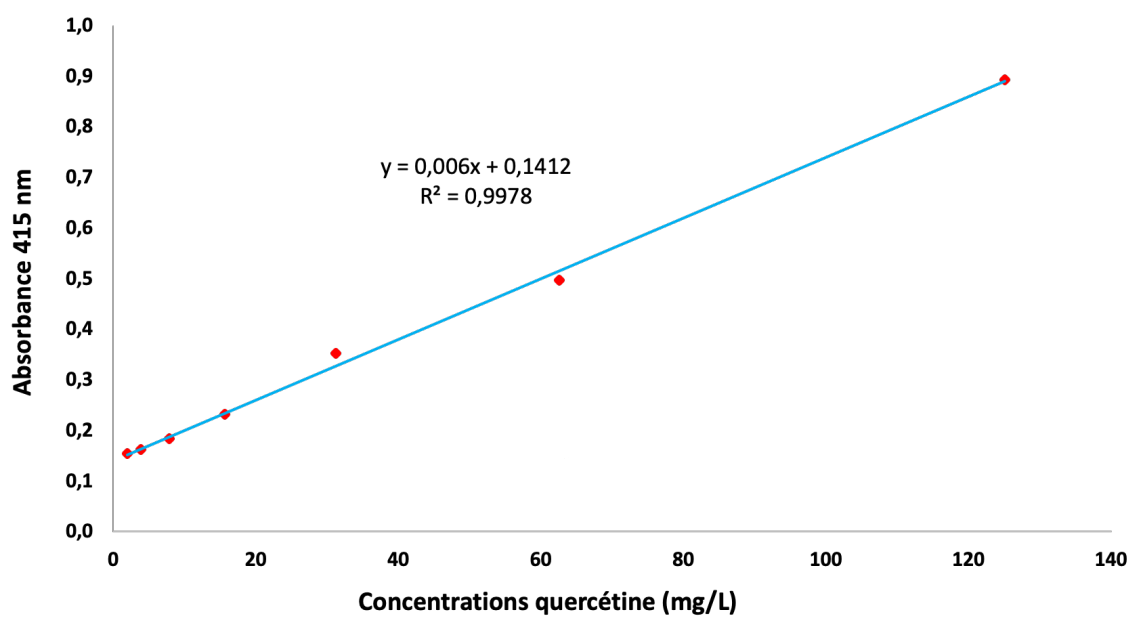


Figure.16. Courbe d'étalonnage de la quercétine

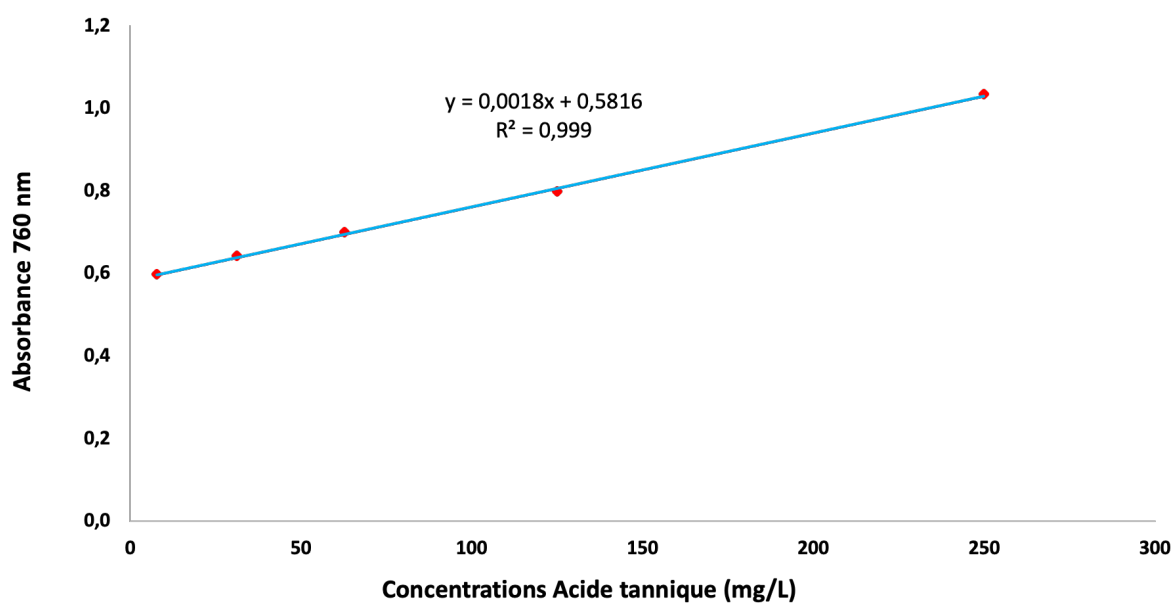


Figure.17. Courbe d'étalonnage de l'acide tannique

ACTIVITES BIOLOGIQUES

1. Identification des bacteries

1.1. La galerie API pour identification des bacteries et des levures

Une galerie API (**Figure.1**) comporte 20 microtubes contenant chacun un substrat déshydraté, correspond à un test spécifique marqué en dessous.

- Chaque microtube est ensemencé avec la suspension microbienne de la souche à identifier.
- Après une période d'incubation, les réactions produites se traduisent par un virage de la couleur du substrat de manière spontanée ou bien après ajout de réactifs.
- Les réactions positives de la galerie sont rapportées sur la fiche d'identification, et les chiffres correspondant à chaque cupule sont comptabilisés pour générer un code (**Figure.2**).
- Le code obtenu spécifique à chaque souche microbienne déterminera son identité en se référant au catalogue d'identification.



Figure.1. Galerie API avant inoculation (**Original, 2016**).

API 20 E

CE 0723 C REF : ATEC 06 33

Origine / Source / Herkunft /
Origen / Origen / Προέλευση /
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX

+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	LVP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX
	1	6	0		7	1		3	2		5		2							

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
Andre tests / Inne testy :
catalase +
caseine +
xylose +

Ident. / Ταυτοποίηση :
Bacillus subtilis

Imprimé en France / Printed in France

Figure.2. Fiche d'identification (**Original, 2016**).

2. Identification d'*Aspergillus niger*

Aspergillus niger est identifié par une observation macroscopique de la culture sur boîte et un examen sous microscope des organes fongiques (**Figure.3**).

a. Examen macroscopique

- Délai de culture
- Aspect de la colonie : plate ou surélevée, plane, plissée ou cratériforme, glabre, pâteuse, poudreuse, granuleuse, duveteuse ou floconneuse ...
- Couleur du revers, existence de crêtes ou arborisation en profondeur de la gélose

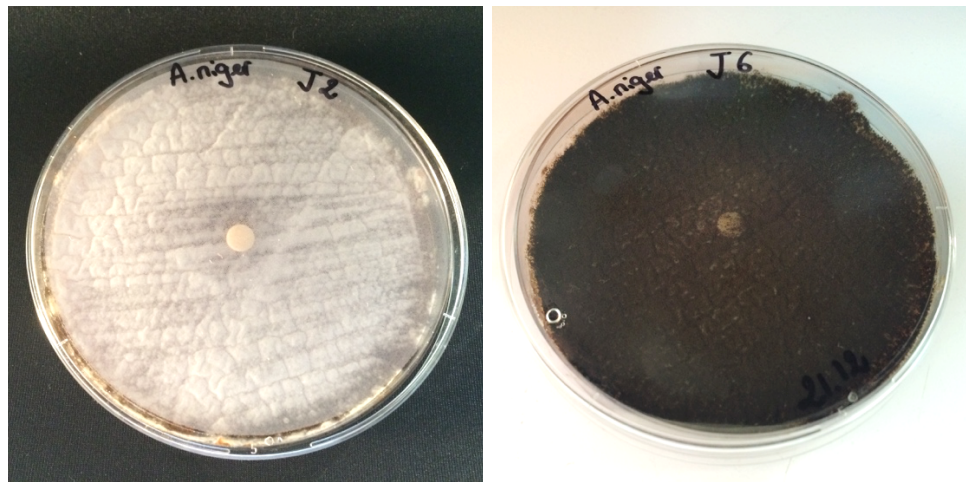


Figure.3. Observation macroscopique d'*Aspergillus niger* (Original, 2016).

b. Examen microscopique (Figure.4)

Présence, abondance, et forme des filaments mycéliens, microspores, macrospores, formations ornementales (vrilles, organes pectinés, organes nodulaires, chandeliers)

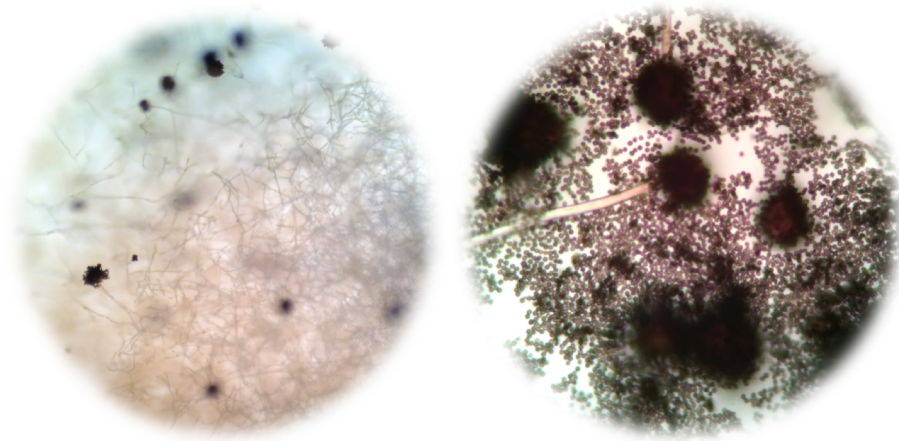


Figure.4. Observation microscopique d'*Aspergillus niger* (Gx10 et Gx40)
(Original, 2016).

3. Mesure du diamètre de la zone d'inhibition



Figure.5. Zone d'inhibition mesurée au pied a coulisse (Original, 2016).

4. Activité antioxydante

4.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

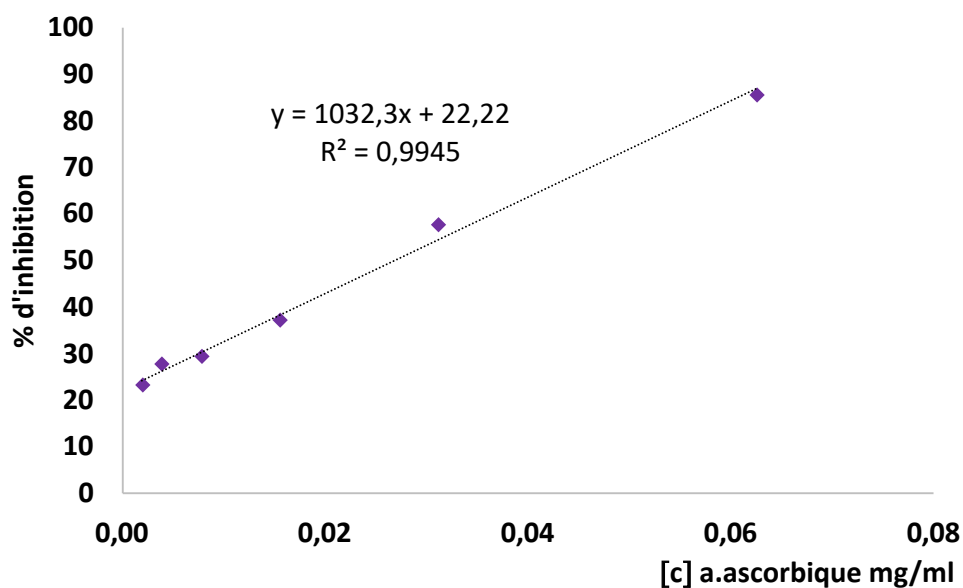


Figure.6. Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH par acide ascorbique.

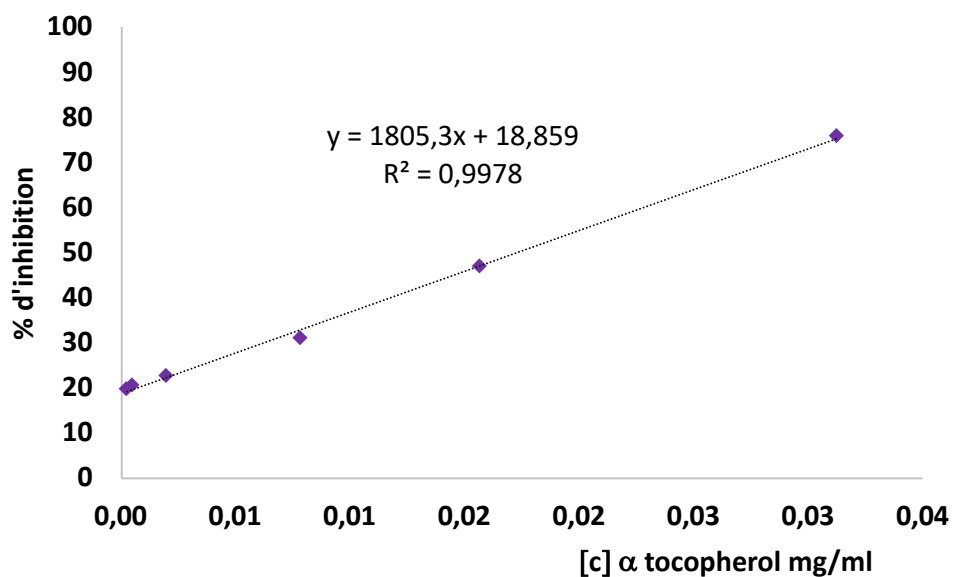


Figure.7. Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH par l' α -tocophérol et

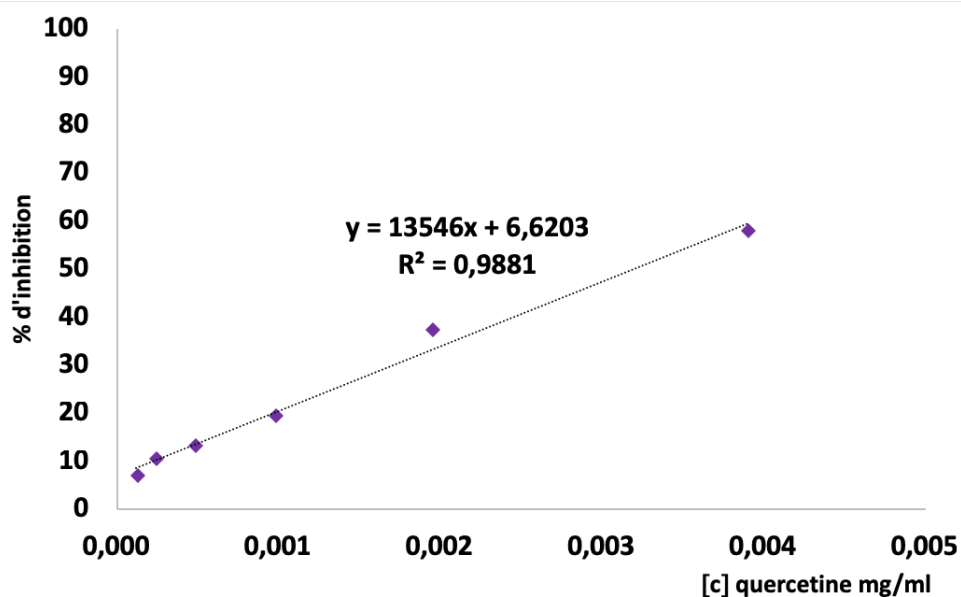


Figure.8. Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH par la quercetine

Tableau.1. Pourcentage d'inhibition du DPPH par les extraits et l'huile d'*A. iva*

	Concentration mg/ml	% INH
Ex. Éthanolique	5,000	79,532
	2,500	62,800
	1,250	57,334
	0,625	52,426
	0,313	48,745
Ex. étheré	5,000	63,915
	2,500	38,148
	1,250	20,970
	0,620	10,095
	0,310	5,020
Ex. aqueux	0,625	71,946
	0,313	39,654
	0,156	21,417
	0,078	13,107
	0,039	2,566
	0,020	1,339
	0,008	7,381
Huile essentielle	0,016	14,286
	0,031	22,222
	0,063	30,000
	0,125	50,397
	0,25	84,524

4.2. Test de réduction du fer

Tableau.2. Pouvoir réducteur des extraits et l'huile d'*A.iva*

Concentration (mg/ml)	Absorbance 700 nm			
	Éthanol	Aqueux	Éthéré	Huile essentielle
0,16	0,003	0,093	0,008	0,001
0,31	0,077	0,192	0,019	0,026
0,63	0,164	0,337	0,034	0,056
1,25	0,381	0,580	0,054	0,168
2,50	0,668	1,073	0,110	0,492
5,00	1,266	1,838	0,239	0,862

ACTIVITES PHARMACOLOGIQUES

1. Étude de la toxicité

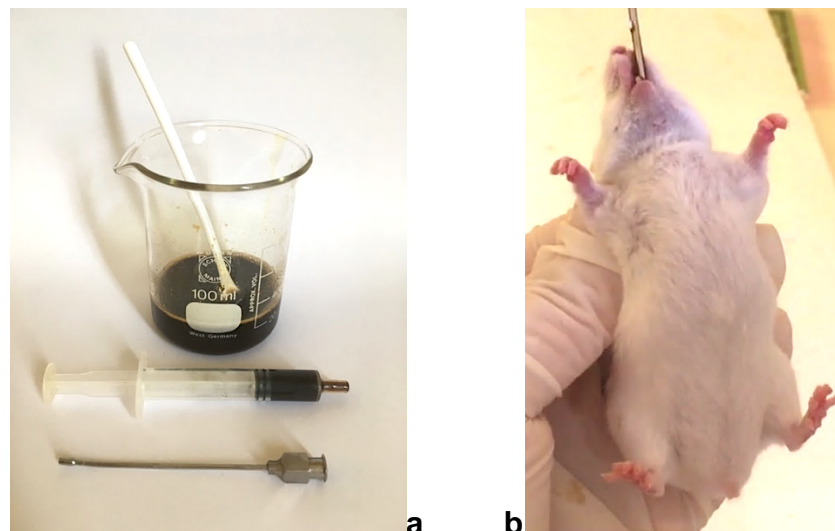


Figure.1. Test de toxicité orale aiguë de l'extrait d'*A.iva*. **a)** matériel utilisé : extrait aqueux, seringue et sonde de gavage, **b)** gavage de la souris (Originale, 2016).

Tableau.1. Aspect général et observations comportementales pour le groupe traité avec 14000 mg d'extrait aqueux d'*A.iva* et traités.

	Dose 14 000 mg/Kg p.c.											
	30mn		4h		24h		48h		J7		J14	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Fourrure et peau	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Yeux	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Salivation	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Somnolence	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Léthargie	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Coma	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Convulsion	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Tremblements	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Asthénie	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Anorexie	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Diarrhée	N	N	N	N	N	1/5	N	N	N	N	N	N
Hypoactivité	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Mortalité	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

N. normal

Tableau.2. Gain pondéral après traitement orale avec l'extrait aqueux d'*A.iva*

	Gain pondéral		
	J 0 - 7	J 7 -14	J 0 - 14
Mâles			
Control	6,73±0,54	2,65±0,76	9,38±0,30
300 mg/Kg	7,42±0,38	1,99±0,34	9,41±0,44
2 000 mg/Kg	6,61±0,35	3,06±0,17	9,68±0,35
5 000 mg/Kg	6,55±0,28	2,01±0,40	8,56±0,53
8 000 mg/Kg	5,82±0,33	2,21±0,45	8,03±0,60
14 000 mg/Kg	6,51±0,71	3,18±0,46	9,70±0,41
Femelles			
Control	4,59±0,10	1,83±0,19	6,42±0,27
300 mg/Kg	4,23±0,24	2,07±0,24	6,30±0,27
2 000 mg/Kg	4,26±0,31	1,42±0,37	5,68±0,57
5 000 mg/Kg	4,47±0,42	1,36±0,33	5,83±0,32
8 000 mg/Kg	5,43±0,63	1,04±0,21	6,46±0,76
14 000 mg/Kg	5,18±0,30	1,41±0,18	6,59±0,28

Les valeurs sont présentées en moyenne±SEM (n=5)

2. Activité antiinflammatoire

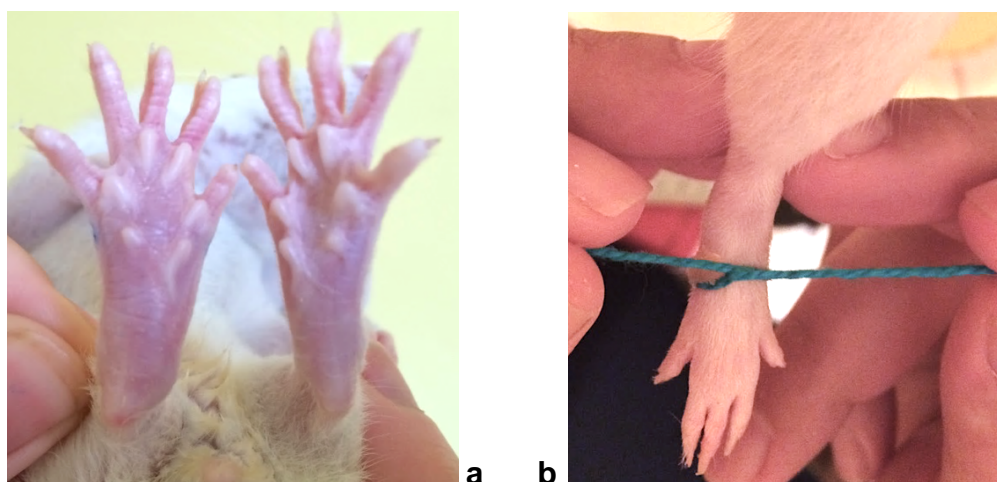


Figure.2. Évaluation de l'activité antiinflammatoire de l'extrait d'*A.iva*. **a)** Patte œdématisée vs patte à l'état normal. **b)** Mesure de la circonférence de la patte du rat (**Originale, 2016**)

Tableau.3. Évolution de la circonférence (mm) de la patte des rats.

Traitement	Temps (Heure)						
	H 0	H 1	H 2	H 3	H 4	H 5	H 6
Control	26,92±0,33	31,35±0,38	32,31±0,25	30,20±0,29	31,50±0,15	30,62±0,15	29,94±0,12
250 mg	28,27±0,62	30,48±0,55	31,55±0,37	30,86±0,28 * (b)	30,03±0,42 **	29,17±0,40 **	28,61±0,48 *
500 mg	28,39±0,33	30,46±0,35	30,81±0,30 **	29,8±0,30 ** (a)	29,38±0,21 **	28,98±0,29 **	28,62±0,29 *
Indo	28,24±0,36	31,24±0,34	32,04±0,15	31,98±0,2 (a), (b)	29,80±0,19 **	29,41±0,15 *	28,84±0,27

Les valeurs sont présentées en moyenne±SEM (n=6)

* p<0,05, ** p<0,01 , *** p<0,001 significativement différent du lot control

(a), (b) communs aux traitements avec une différence significative

Tableau.4. Pourcentage d'augmentation (%) de l'œdème de la patte des rats.

Traitement	Temps (Heure)					
	H 1	H 2	H 3	H 4	H 5	H 6
Control	16,53±1,87	20,09±1,93	19,70±2,18	17,11±1,89	13,81±1,39	11,30±1,55
250 mg	7,91±1,59 **	11,83±2,39 *	9,30±1,58 **	6,34±1,74 ***	3,28±1,17 ***	1,25±0,83 ***
500 mg	7,31±0,90 **	8,60±1,81 **	5,04±1,45 ***	3,54±1,03 ***	2,12±0,91 ***	0,82±0,43 ***
Indo	10,65±1,12	13,52±0,98	13,38±2,03	5,58±1,21 ***	4,20±0,91 ***	2,18±0,74 ***

Les valeurs sont présentées en moyenne±SEM (n=6)

* p<0,05, ** p<0,01 , *** p<0,001 significativement différent du lot control

Tableau.5. Pourcentage d'inhibition de l'œdème induit par la carraghénine

Traitement	Temps (Heure)					
	H 1	H 2	H 3	H 4	H 5	H 6
250 mg	52,15	41,14	52,78	62,95	76,26	88,97
500 mg	55,77	57,18	74,44	79,31	84,67	92,73
Indométacine	35,56	32,71	32,10	67,40	69,61	80,67

3. Activité antalgique

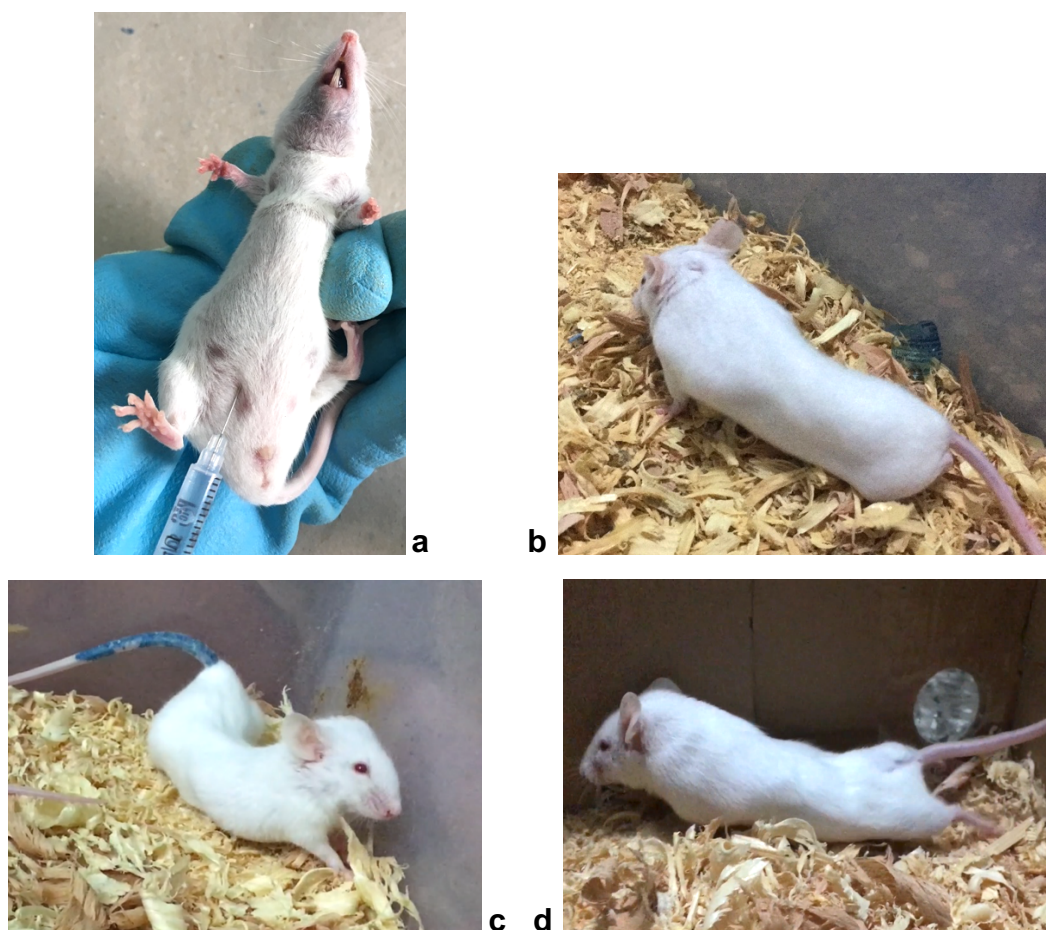


Figure.3. Évaluation de l'activité antalgique de l'extrait d'*Ajuga iva*. **a)** injection intrapéritonéale de l'acide acétique. **b)** et **c)** torsions abdominales chez la souris. **d)** étirements des pattes chez la souris (**Originale, 2016**).

Tableau.6. Effet des différents traitements sur le nombre de torsions et le pourcentage d'inhibition de l'œdème induit par la carraghénine

Traitement	Dose (mg/kg.p.c)	Nombre de contorsion	% inhibition
Control		51 ± 7,46	-
Extrait <i>A.iva</i>	500	47,83 ± 9,52	6,21
	1000	19 ± 7,16*	62,75
Indométacine	10	39 ± 5,07	23,53

Les valeurs sont présentées en moyenne ± SEM (n=6)

* p<0,05, significativement différent du lot control

4. Activité antipyrétique



Figure.4. Prise de la température rectale (Originale, 2016).

Tableau.7. Évolution de la température rectale (°C) chez les rats.

Traitement	Temps (Heure)						
	H 0	H 1	H 2	H 4	H 6	H 8	H 10
Eau	36,63±0,13	38,17±0,20	38,53±0,22	39,18±0,20	39,50±0,17	39,65±0,13	39,70±0,05
250 mg	36,83±0,20	37,98±0,24	38,25±0,16	38,92±0,14	38,63±0,15	38,92±0,19*	38,35±0,10**
500 mg	36,68±0,14	37,33±0,28	37,83±0,28	38,38±0,27	38,47±0,34*	38,32±0,21**	38,23±0,25**
Aspégic	36,90±0,15	38,05±0,15	38,27±0,13	38,93±0,12	38,82±0,20	38,55±0,09**	38,58±0,11**

Les valeurs sont présentées en moyenne±SEM (n=6)

* p<0,05, ** p<0,01, significativement différent du lot control

Tableau.8. Variation de la température rectale (°C) chez les rats.

Traitement	Temps (Heure)					
	H0-H1	H0-H2	H0-H4	H0-H6	H0-H8	H0-H10
Eau	1,53±0,26	1,90±0,24	2,55±0,22	2,87±0,18	3,02±0,16	3,07±0,12
250 mg	1,15±0,20	1,42±0,19	2,08±0,26	1,80±0,18	2,08±0,25*	1,75±0,18**
500 mg	0,87±0,24	1,37±0,24	1,92±0,31	2,00±0,38	1,85±0,24**	1,77±0,33**
Aspégic	0,73±0,12	0,95±0,15	1,62±0,12	1,50±0,16	1,23±0,08**	1,27±0,12**

Les valeurs sont présentées en moyenne±SEM (n=6)

* p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001 significativement différent du lot control

Tableau.9. Pourcentage d'augmentation de la température rectale (°C) chez les rats.

Traitement	Temps (Heure)					
	H0-H1	H0-H2	H0-H4	H0-H6	H0-H8	H0-H10
Eau	4,19±0,73	5,19±0,65	6,97±0,60	7,83±0,49	8,24±0,45	8,38±0,36
250 mg	3,13±0,56	3,86±0,52	5,67±0,72	4,90±0,52	5,67±0,70 *	4,76±0,50 **
500 mg	2,38±0,65	3,75±0,65	5,26±0,87	5,49±1,05	5,08±0,67 **	4,86±0,90 **
Aspégic	1,96±0,31	2,55±0,40	4,33±0,32	4,02±0,43	3,31±0,21 **	3,40±0,32 **

Les valeurs sont présentées en moyenne±SEM (n=6)

* p<0,05, ** p<0,01 significativement différent du lot control

Tableau.10. Pourcentage d'inhibition de la température rectale (°C) chez les rats.

Traitement	Temps (Heure)					
	H 1	H 2	H 4	H 6	H 8	H 10
250 mg	25,45	25,74	18,56	37,45	31,20	43,14
500 mg	43,34	27,81	24,42	29,82	38,35	42,02
Aspégic	25,44	28,44	20,72	33,43	45,61	45,46

5. Activité antiulcéreuse

Tableau.11. Pourcentage d'inhibition de l'ulcère induit à la carraghénine

Traitement	Dose (mg/kg.p.c)	Indice d'Ulcération	% Inhibition
Control (-) (eau)	-	-	-
Témoin (+) (éthanol absolu)	5 ml/kg p.c	41,6±2.20	
Extrait A.iva	500	17,8±7,44*	57,21
	1000	10±4,81***	75,96
Ranitidine	50	16,8±2,47**	59,61

Les valeurs sont présentées en moyenne±SEM (n=5)

* p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001 significativement différent du lot témoin (+)

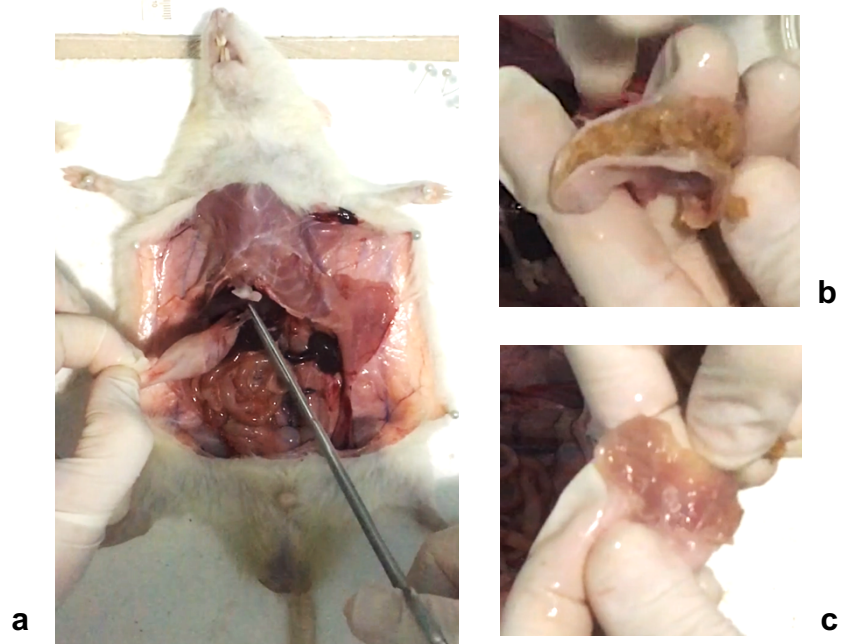


Figure.5. Préparation des estomacs. a) prélèvement. b) Incision. c) nettoyage et rinçage (Originale, 2017).

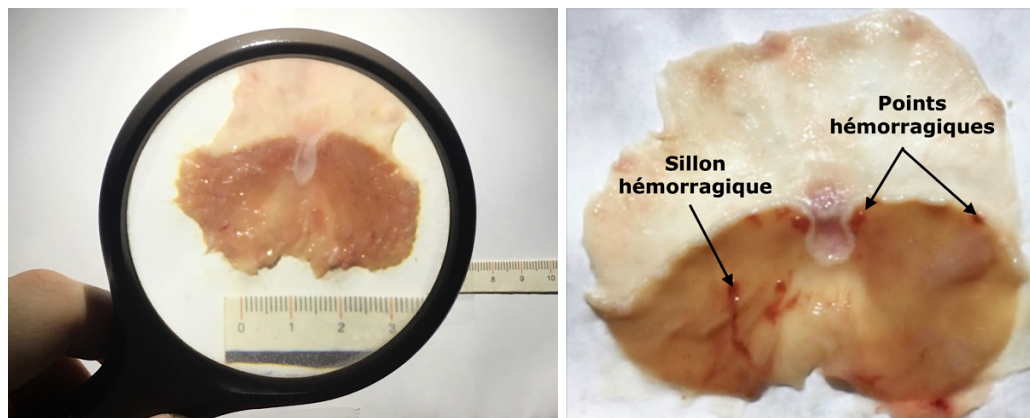


Figure.6. Examen macroscopique d'un estomac à la loupe (Originale, 2017).

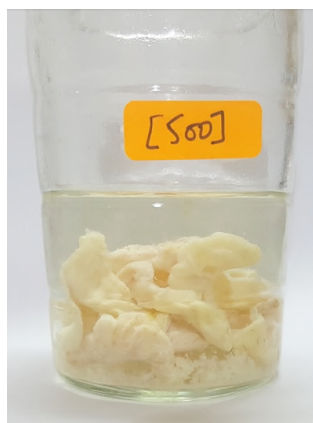


Figure.7. Fixation des estomacs au formol (Originale, 2017).

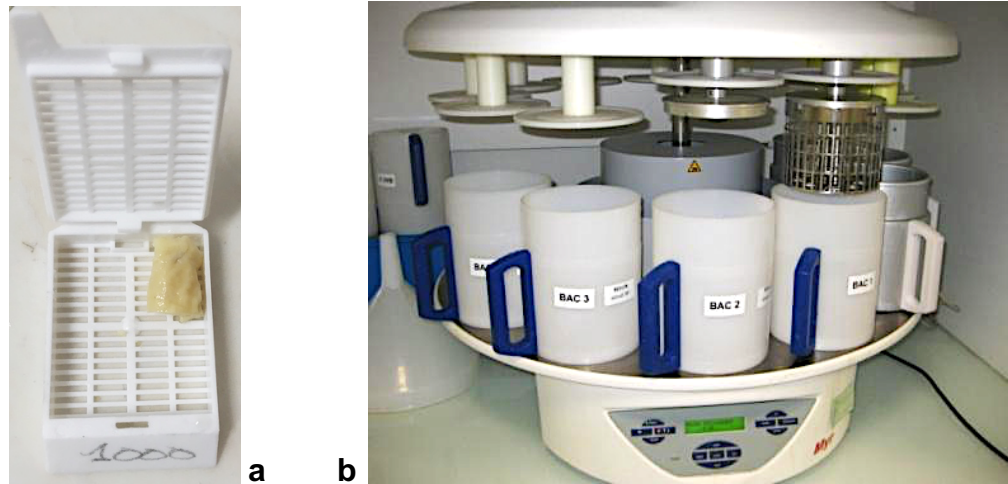


Figure.8. Préparation des portions d'estomacs pour les coupes histologiques. **a)** Mise en place de la partie d'estomac sélectionnée dans une cassette d'histologie (Originale, 2017). **b)** Automate de déshydratation et d'éclaircissement des échantillons [397].

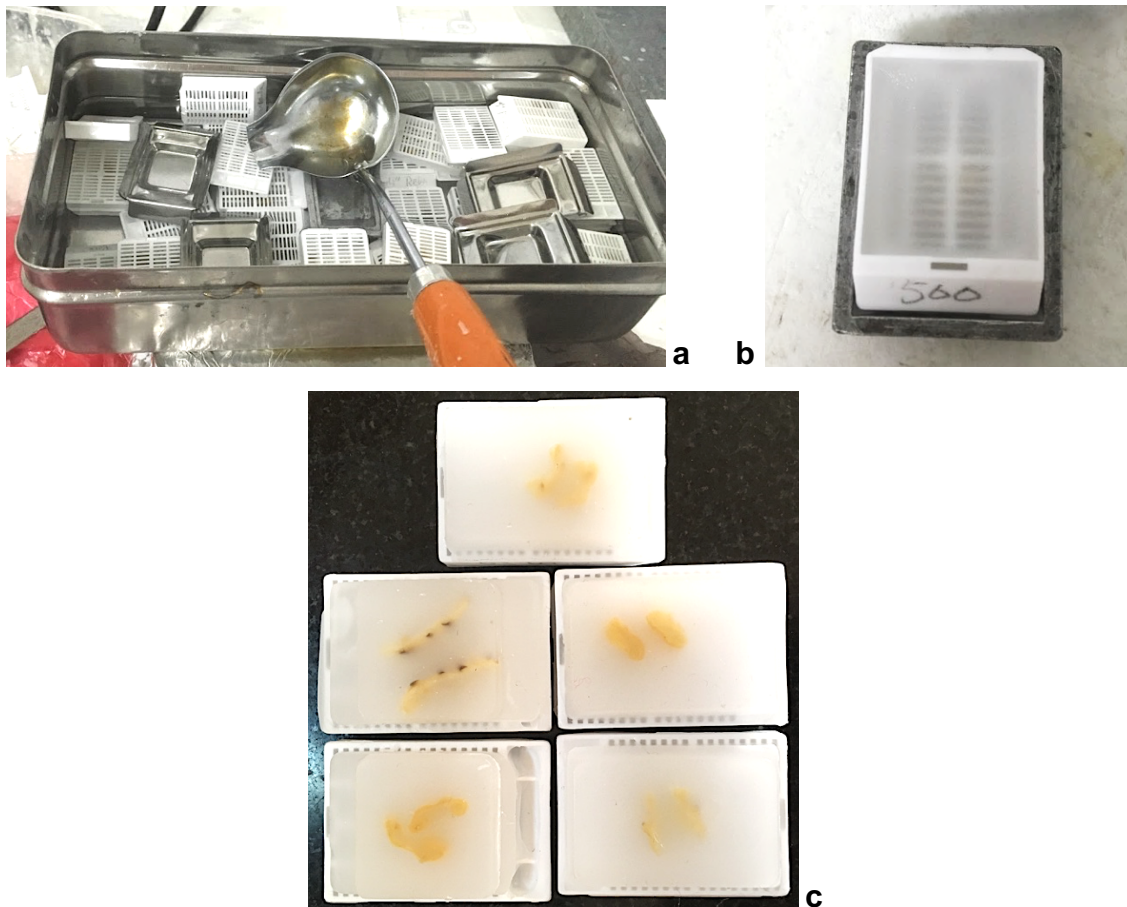


Figure.9. Préparation des blocs d'échantillons. **a)** Imprégnation dans de la paraffine en fusion. **b)** Inclusion et de refroidissement. **c)** Démoulage des blocs (Originale, 2017).

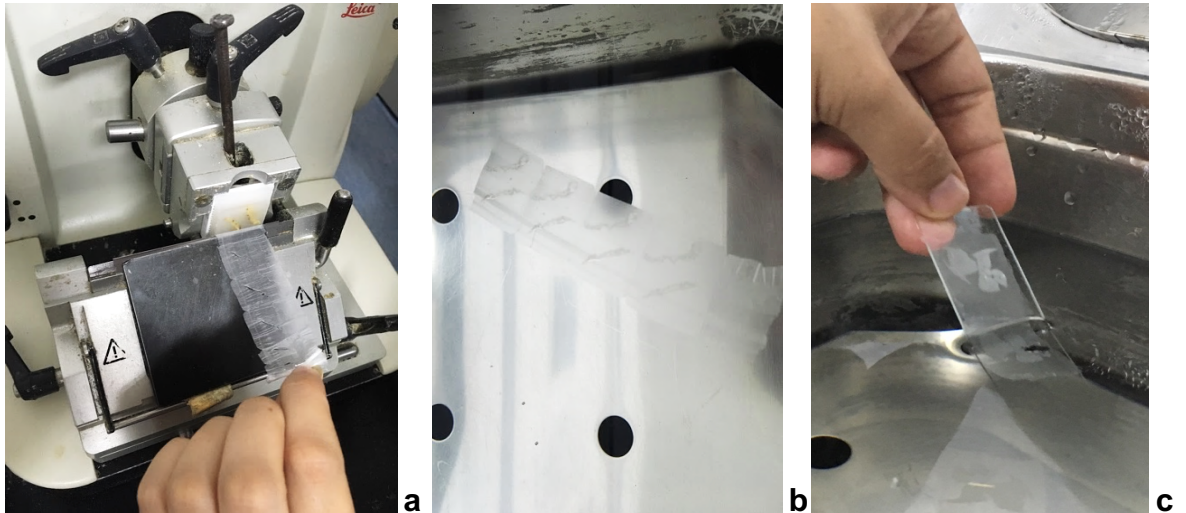


Figure.10. Préparation des coupes histologiques. **a)** Confection des coupes au microtome. **b)** étalement des coupes au bain marie. **c)** montage des coupes sur lame (Originale,2017).

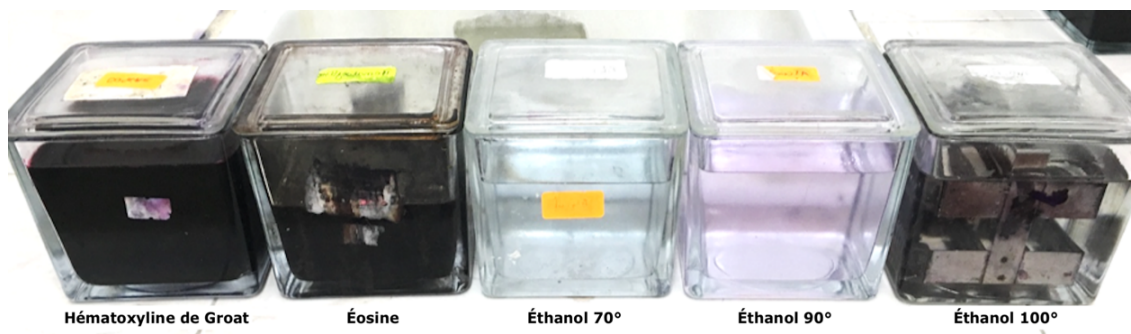


Figure.11. Les différents bains de coloration hématoxyline et l'éosine (Originale,2017).



Figure.12. Lames préparées des coupes histologiques des estomacs des rats (Originale,2017).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Gurib-Fakim A. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27 : 1–93
2. **Haggag M.Y. (1997).** Herbal medicine in Egypt. *In*: Heywood V.H. (ed.), Skoula M. (ed.). Identification of wild food and non-food plants of the Mediterranean region. Chania : CIHEAM. p. 45-55 (Cahiers Options Méditerranéennes ; n. 23)
3. **Capasso F., Gaginella T.S., Grandolini G., Izzo A.A. (2003).** Active Principles. *In*: Phytotherapy. Springer, Berlin, Heidelberg; 424p
4. **Kumar A. (2010).** Medicinal Plants. Mittal Publications. 404p
5. **OMS. (2002).** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. 78p.
6. **Packer L. and Cadenas E. (2007).** Oxidants and antioxidants revisited. New concepts of oxidative stress. *Free Radical Research*. 41: 951-2.
7. **Essawi, T., Srour, M. (2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 70, 343-349.
8. **Quézel, R., Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales. Centre national de la recherche scientifique. Tome II. 1170p.
9. **El-Hilaly J, Israili ZH and Lyoussi B (2004.a).** Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. *J. Ethnopharmacol.*, **91**: 43-50.
10. **Sofowora A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique : Économie et développement. KARTHALA. 378p
11. **Farnsworth N.R. et Bingel A.S. (1977).** Probes and Prospects of Discovering New Drugs from Higher Plants by Pharmacological screening. *In* Wagner H.K. et Wolff P.M. Springer. pp1-22.
12. **Benkhniq O., Zidane L., Fadli M., Elyacoubi H., Rochdi A. ET Douira A., (2011.b).** Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraa Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta Bot. Barc.* 53, 191-216.
13. **Wichtl M., et Anton R. (2003).** Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinales, science et thérapeutique. 3e édition, Technique et documentation Lavoisier, Paris 2003, 700.

14. **Vigan M. (2012).** Progrès en dermato-allergologie : Besançon. John Libbey Eurotext. 368p.
15. **Petrovska, B. (2012).** Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*, 6(11), 1-5.
16. **Iserin, P. (2001),** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales, Ed. Larousse, 335p.
17. **Reguieg L. (2011).** Using medicinal plants in Algeria. *Am. J. Food. Nutr*, 1(3) : 126-127
18. **Yarnell E. (2007).** Plant Chemistry in Veterinary Medicine: Medicinal Constituents and Their Mechanisms of Action *In* Wynn S.G. et Fougère B. *Veterinary Herbal Medicine*, Elsevier Health Sciences. pp159-182.
19. **Raven P.H. Evert R.F. Eichhorn S.E. (2014).** Biologie végétale. 3^e ed. De Boeck Supérieur. 944 p
20. **Ncube, B., & Van Staden, J. (2015).** Tilting Plant Metabolism for Improved Metabolite Biosynthesis and Enhanced Human Benefit. *Molecules*, 20(7), 12698–12731.
21. **Bruneton, J., (2009).** “Pharmacognosie : phytochimie et plantes médicinales”. 4^e Ed. Lavoisier. 1292p.
22. **Collin S. Crouzet J. (2011).** Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Lavoisier. 337 p.
23. **Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010).** Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, 15(12), 8813–8826.
24. **Crawley M. (2009).** *Plante Ecology*. 2(Ed). John Wiley & Sons. 736 p
25. **Lattanzio V. Kroon P.A. Quideau S. Treutter D. (2008).** Plant Phenolics – secondary Metabolites with Diverse Functions. *In* Daayf F., Lattanzio V. *Recent Advances in Polyphenol Research*. John Wiley & Sons. pp 1-22.
26. **Macheix, J.J., Fleuriet, A. and Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne. p 3.
27. **Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481–504.

28. **Erlund, I. (2004).** Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research* **24**, 851-874.
29. **Ng T.B, Ling, J.M.L, Wang Z-T, Cai J.N. Xu G.J.** Examination of coumarins, flavonoids and polysachharopeptides for antibacterial activity, *Gen Pharmac*, **27** (1996) 1237-1240.
30. **Lin, Y.-M., Zhou, Y., Flavin, M. T., Zhou, L.-M., Nie, W., & Chen, F.-C. (2002).** Chalcones and flavonoids as anti-Tuberculosis agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 10(8) : 2795–2802.
31. **Erasto, P., Bojase-Moleta, Gomotsang, Majinda, RT. (2004).** Antimicrobial and antioxidant flavonoids from the root wood of *Bolusanthus speciosa*, *Phytochemistry*, **65**, 875-880.
32. **Chen, G., Lu, H., Wang, C., Yamashita, K., Manabe, M., Meng, Z., ... Kodama, H. (2002).** Effect of five flavonoid compounds isolated from leaves of *Diospyros kaki* on stimulus-induced superoxide generation and tyrosyl phosphorylation of proteins in human neutrophils. *Clinica Chimica Acta*, 326(1-2), 169–175.
33. **Zhang, X., Hung, T. M., Phuong, P. T., Ngoc, T. M., Min, B.-S., Song, K.-S., Seong Y.H., Bae, K. (2006).** Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Populus davidiana*. *Archives of Pharmacal Research*, 29(12), 1102–1108.
34. **Abdallah, H. M., Almowallad, F. M., Esmat, A., Shehata, I. A., & Abdel-Sattar, E. A. (2015).** Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Chrozophora tinctoria*. *Phytochemistry Letters*, 13, 74–80.
35. **De Lira Mota, K. S., Dias, G. E. N., Pinto, M. E. F., Luiz-Ferreira, Â., Monteiro Souza-Brito, A. R., Hiruma-Lima, C. A., ... Batista, L. M. (2009).** Flavonoids with Gastroprotective Activity. *Molecules*, 14(3), 979–1012.
36. **Hopkins W.G. (2003).** “Physiologie végétale : Molécules et métabolisme”. Ed. De boeck Supérieur, Paris. 532p.
37. **Doss, A., Mubarack, M.H., Dhanabalan, R. (2009).** Antibacterial activity of tannins from the leaves of *Solanum trilobatum* Linn. *Indian J Sci Technol*. 2: 41-43.
38. **Rodrigues, C.G., Ferreira, P.R.B., Mendes, C.S.O., Reis-Jr, R., Valerio, H.M., et al. (2014).** Antibacterial activity of tannins from *Psidium guineense* Sw. (Myrtaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(35), 1095–1100.

39. **Benzidia, B., Barbouchi, M., Hammouch, H., Belahbib, N., Zouarhi, M., Erramli, H., Daoud N.A., Badrane N., Hajjaji, N. (2018).** Chemical composition and antioxidant activity of tannins extract from green rind of Aloe vera (L.) Burm. F. *Journal of King Saud University - Science*.
40. **Hemingway R.W. (1989).** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. *In*: Hemingway R.W. Karshesy J.J. Branham S.J. (Eds). *Chemistry and Significance of Condensed Tannins*. Plenum Press, New York. pp 83-107
41. **Ranade, S., & David, S. B. (1985).** Quinones as plant growth regulators. *Plant Growth Regulation*, 3(1), 3–13.
42. **Breton, J., & Nbedryk, E. (1996).** Protein-quinone interactions in the bacterial photosynthetic reaction center: light-induced FTIR difference spectroscopy of the quinone vibrations. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1275(1-2), 84–90.
43. **Cleren C, Yang L, Lorenzo B et al (2008)** Therapeutic effects of coenzyme Q10 (CoQ10) and reduced CoQ10 in the MPTP model of Parkinsonism. *J Neurochem* 104:1613– 1621
44. **Asche, C. (2005).** Antitumour quinones. *Mini Rev Med Chem* 5:449–467.
45. **Britton G. (1983).** *The Biochemistry of Natural Pigments*. Cambridge University Press. p75.
46. **Lacy, A. et O’Kennedy R. (2004).** Studies on Coumarins and Coumarin-Related Compounds to Determine their Therapeutic Role in the Treatment of Cancer. *Current Pharmaceutical Design*, 10(30), 3797–3811.
47. **Jain P.K. et Joshi H. (2012).** **Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile.** *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 02 (06):: 236-240
48. **Zobel A.M. et Brown S.A. (1995).** Coumarins in the Interaction Between the Plant and its Environment. *Allelopathy Journal* 2 (1) : 9-20.
49. **Cooke D. (1999).** Studies on the Mode of Action of Coumarins (Coumarin, 6-hydroxycoumarin, 7-hydroxycoumarin and Esculetin) at a Cellular Level. PhD Thesis, Dublin City University, Dublin, Ireland.
50. **Weber US, Steffen B, Siegers CP.(1998).** Antitumour-Activities of Coumarin, 7-Hydroxycoumarin and its Glucuronide in Several Human Tumour Cell Lines. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*; 99: 193-206.

51. **Menghini L., Epifano F., Genovese S., Marcotullio M.C., Sosa S., et al. (2010).** Anti-inflammatory activity of coumarins from *Ligusticum lucidum* Mill. subsp. *cuneifolium* (Guss.) Tamaro (Apiaceae). *Phytotherapy Research*, Wiley, , 24 (11), pp.1697.
52. **Leray C. (2010).** Les lipides dans le monde vivant. Lavoisier. 308p.
53. **Rivière, C., Papastamoulis, Y., Fortin, P.-Y., Delchier, N., Andriamanarivo, S., Waffo-Teguo, P., ... Monti, J.-P. (2010).** New stilbene dimers against amyloid fibril formation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(11), 3441–3443.
54. **Richard, T., Tamsamani, H., Delaunay, J.-C., Krisa, S., & Mérillon, J.-M. (2014).** Stilbènes : de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 173–180.
55. **Bryant J.P., Gregory D.W. Reichardt P.B. Lewis V.E. McCarthy M.C. (1983)** Pinosylvin methyl ether deters snowshoe hare feeding on green alder, *Science* 222 1023–1025.
56. **Lieutier, F., Yart, A., Garcia, J., Ham, M. C., Morelet, M., & Levieux, J. (1989).** Champignons phytopathogènes associés à deux coléoptères scolytidae du pin sylvestre (*Pinus sylvestris* L.) et étude préliminaire de leur agressivité envers l'hôte. *Annales Des Sciences Forestières*, 46(3), 201–216.
57. **Torres, P., Guillermo Avila, J., Romo de Vivar, A., García, A. M., Marín, J. C., Aranda, E., & Céspedes, C. L. (2003).** Antioxidant and insect growth regulatory activities of stilbenes and extracts from *Yucca periculosa*. *Phytochemistry*, 64(2), 463–473.
58. **Baur J.A. Sinclair D.A., (2006).** Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence, *Nat. Rev. Drug Discov.* 5, 493–506.
59. **Su, D., Cheng, Y., Liu, M., Liu, D., Cui, H., Zhang, B., et al. (2013).** Comparison of Piceid and Resveratrol in Antioxidation and Antiproliferation Activities In Vitro. *PLOS ONE*, 8 (1), e54505.
60. **Hill, M. (2003),** Lignanes et santé. In Descheemaeker K. *Nutri-et Phytotherapie: Developpements Recents*. Maklu. 86p
61. **Cunha R., W., e Silva, M. L. A., Sola Veneziani, R. C., Ambrósio R.S., & Bastos K.J. (2012).** Lignans: Chemical and Biological Properties. *Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*.

62. **Yousefzadi, M., Sharifi, M., Behmanesh, M., Moyano, E., Bonfill, M., Cusido, R. M., & Palazon, J. (2010).** Podophyllotoxin: Current approaches to its biotechnological production and future challenges. *Engineering in Life Sciences*, 10(4), 281–292.
63. **Negi, A. S., Kumar, J. K., Luqman, S., Shanker, K., Gupta, M. M., & Khanuja, S. P. S. (2008).** Recent advances in plant hepatoprotectives: A chemical and biological profile of some important leads. *Medicinal Research Reviews*, 28(5), 746–772.
64. **Calatayud P.A., Garrec J.P., Nicole M. (2013).** Caracteristiques Chimiques des Plantes. In Sauvion N., Calatayud P.A., Thiéry D., Marion-Paul F. Editions Quae. pp217-228.
65. **Nassar Z, Aisha A, Abdul Majid A. (2010).** The Pharmacological Properties Of Terpenoids From Sandoricum Koetjape. *WebmedCentral COMPLEMENTARY MEDICINE*.1(12) : WMC001311
66. **Kaneda, N., Pezzuto, J. M., Kinghorn, A. D., Farnsworth, N. R., Santisuk, T., Tuchinda, P., ... Reutrakul, V. (1992).** Plant Anticancer Agents, L. Cytotoxic Triterpenes from *Sandoricum koetjape* Stems. *Journal of Natural Products*, 55(5), 654–659.
67. **Fourie, T. G., Matthee, E., & Snyckers, F. O. (1989).** A pentacyclic triterpene acid, with anti-ulcer properties, from *Cussonia natalensis*. *Phytochemistry*, 28(10), 2851–2852.
68. **Patil, P.H., Patil, J.Y., Mahale, J., Patel, J.B. and Surana, S.J. (2010).** Evaluation of Anti-ulcer Activity of the terpenoid fraction from the leaves of *Thespesia populnea* (L) (Malvaceae) in albino rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*,; 4: 495-513.
69. **Singh, B., Ram, S. M., Pandey, V. B., Joshi, V. K. and Gambhir, S. S.(1991),** *Phytoether Research*,5, 103.
70. **Li H.Y., Sun, N.J., Kashiwada Y. Sun L.(1993).** Anti-AIDS Agents, 9. Suberosol, a New C₃₁ Lanostane-Type Triterpene and Anti-HIV Principle from *Polyalthia suberosa*. *Journal of Natural Products*, , 56(7) : 1130-1133.
71. **Pharmacopée Française (1965).** 8^e éd. *In* ; **Bruneton, J., (2009).** “Pharmacognosie: phytochimie et plantes medicinales”. 4eme edition Ed.Lavoisier, 1292p.

72. **Pharmacopée Européenne**”, (2005) 5^e édition, Strasbourg, Conseil d'Europe, p 2600. *In* ; **Bruneton, J., (2009)**. “Pharmacognosie: phytochimie et plantes médicinales”. 4eme edition Ed.Lavoisier, 1292p.
73. **Franz, C. and Novak, J. (2010)**. Sources of Essential Oils. *In*: Baser, K.H.C. and Buchbauer, G., Eds., Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications, CRC Press/ Taylor & Francis Group, Boca Raton, 39-82.
74. **São Pedro, A., Espirito Santo, I., Silva, C.V., Detoni, C., Albuquerque, E. (2013)**. The use of nanotechnology as an approach for essential oil-based formulations with antimicrobial activity. *In* : A. Méndez-Vilas Ed. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and educationII. Formatex Research Center, Zurbaran, 06002 Badajoz, Spain. PP 1364-1374.
75. **Roohinejad S. Koubaa M. Barba F.J. Leong S.Y. Khelfa A. Greiner R. Chemat F. (2018)**. Extraction methods of essential oils from herbs and spices. *In* : **Hashemi S.M.B. Khaneghah A.M. Sant’Ana s. (Edts)**. Essential Oils in Food Processing: Chemistry, Safety and Applications. IFT Press Series. John Wiley and Sons. p21
76. **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008)**. Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, 46(2), 446–475.
77. **Van Tieghem P. (1884)**. Traité de botanique. Vol 1. Savy F. (ed). pp655 – 657
78. **Saxena N.P. (2010)**. Objective botany for all medical entrance examination. Krishna parakashan media (P) Ltd, India, p690.
79. **Evert R.F. (2006)**. Esau's Plant Anatomy: Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function, and Development. John Wiley & Sons. p448.
80. **Singh V., Pande P.C., Jain D.K. (2008)**. Text Book of Botany: Angiosperms. Rastogi Publications. p88.
81. **Noma et Asakawa, (2010)**. Biotransformation of Monoterpenoids by Microorganisms, Insects, and Mammals. *In* : : Başer K.H.C. Buchbauer G. (Eds). Handbook of essential oils : science, technology, and applications. CRC Press Taylor & Francis Group. pp585-736.

82. **Bohlmann F. Grenz M. Gupta R.K. Dhar A.K. Ahmed M. King R.M. Robinson H. (1980).** Eudesmane derivatives from *Verbesina* species. *Phytochemistry*, **19**(11) : 2391-2397.
83. **Eslahi H. Fahimi N. Sardarian A.R. (2018).** Chemical composition of essential oils. *In* : Hashemi S.M.B. Khaneghah A.M. Sant'Ana S. (Edts). *Essential Oils in Food Processing: Chemistry, Safety and Applications*. IFT Press Series. John Wiley and Sons. p21.
84. **Buchbauer G. (2010).** Biological activities of essential oils. *In* : : **Başer K.H.C. Buchbauer G. (Eds).** *Handbook of essential oils : science, technology, and applications*. CRC Press Taylor & Francis Group. 235-273 pp
85. **Harris B. (2010).** Phytotherapeutic Uses of Essential Oils. *In* : Başer K.H.C. Buchbauer G. (Eds). *Handbook of essential oils : science, technology, and applications*. CRC Press Taylor & Francis Group. 316-343 pp
86. **Brud, (2010).** Industrial uses of essential oils. *In* : : Başer K.H.C. Buchbauer G. (Eds). *Handbook of essential oils : science, technology, and applications*. CRC Press Taylor & Francis Group. 843-853 p
87. **Roberts M.F. et Wink M. (2013).** *Alkaloids: Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications*. Springer. 482p.
88. **Doughari, J.H. (2012).** *Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents*, *Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*, Dr Venketeshwer Rao (Ed.), ISBN: 978-953-51-0296-0, InTech, Available from: [http://cdn.intechopen.com/pdfs/32936/InTech-Phytochemicals extraction methods basic structures and mode of action as potential chemotherapeutic agents.pdf](http://cdn.intechopen.com/pdfs/32936/InTech-Phytochemicals%20extraction%20methods%20basic%20structures%20and%20mode%20of%20action%20as%20potential%20chemotherapeutic%20agents.pdf)
89. **Paris, R. (1954).** Les hétérosides. *Bulletin de La Société Botanique de France*, 101(7-9), 457–475.
90. **Cereda, M. P. et Mattos, M.C.Y. (1996).** Linamarin : The Toxic Compound Of Cassava. *J. Venom. Anim. Toxins*. 2(1) : 06-12.
91. **Verma, S. K., Das, A. K., Cingoz, G. S., & Gurel, E. (2016).** In vitro culture of *Digitalis L.* (Foxglove) and the production of cardenolides: An up-to-date review. *Industrial Crops and Products*, 94, 20–51.
92. **Hostettmann K., et Marston A. (2005).** *Saponins*. Cambridge University Press. pp1-2

93. **Papadopoulou K. Melton R. E. Legge tt M. Daniels M. J. Osbourn A. E. (1999).** Compromised disease resistance in saponin-deficient plants. *PNAS*. 96 (22) : 12923–12928
94. **Rao A.V., Gurfinkel D.M. (2000).** The bioactivity of saponins: triterpenoid and steroidal glycosides. *Drug Metabol Drug Interact*. 17(1-4):211-35.
95. **Calabria L.M. (2008).** The Isolation and Characterization of Triterpene Saponins from Silphium and the Chemosystematic and Biological Significance of Saponins in the Asteraceae. ProQuest. 320p
96. **Müller, C. (2009).** Role of glucosinolates in plant invasiveness. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 227–242.
97. **Mazumder, A., Dwivedi, A., & du Plessis, J. (2016).** Sinigrin and Its Therapeutic Benefits. *Molecules*, 21(4), 416.
98. **Radojčić Redovniković I. Glivetic T. Delonga K. Vorkapić-Furač J.** Glucosinolates and their potential role in plant. *Period. Biol.* **2008**, 110 (4) : 297–309.
99. **Sarker S.D., Latif Z., Gray A.I. (2006).** Natural Product Isolation. In **Sarker S.D., Latif Z., Gray A.I.** (eds). *Natural Product Isolation*. 2nd ed. Humana Press. pp1-26.
100. **Seidel V. (2006).** Initial and bulk extraction. *In Sarker S.D., Latif Z., Gray A.I. (eds).* *Natural products isolation*. 2nd Ed. Humana Press. p27-46.
101. **Houghton, P.J., Raman, A. (1998).** “Laboratory hand book for fractionation of natural extracts”, Chapman and hall, Londre, 29-31.
102. **Calvet R. (2005).** Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. France Agricole Editions. 637 p.
103. **Al-Achi A. (2008).** An Introduction to Botanical Medicines: History, Science, Uses, and Dangers: History, Science, Uses, and Dangers. ABC-CLIO, 2008. 208p
104. **Raaman N. (2006).** *Phytochemical Techniques*. New India Publishing. p10.
105. **Saravanamuthu R., (2010).** *Industrial Exploitation of Microorganisms*. I. K. International Pvt Ltd. p411.
106. **Doonan S. (1996)** ; *Protein Purification Protocols*. Springer. 405p
107. **Picard C. (1996).** *Thermochimie*. De Boeck Supérieur. 416p.
108. **Philippe G., Baldet P., Héois B., Ginisty C. (2006).** *Reproduction sexuée des conifères et production de semences en vergers à graines*. Editions Quae. 496p.

109. **Galiana D., Monchâtre I., Le-Roux C., Botreau T.M. (2015).** Fait alimentaire (Le): Bac technologique STAV ; Educagri Editions. p192.
110. **Monk. P.M.S. (2008).** Physical Chemistry : Understanding our Chemical World. John Wiley and Sons. p188.
111. **Sharp J.T. (2012).** Practical Organic Chemistry: A student handbook of techniques. Springer.p56.
112. **Cheymol N. et Hoff M. (1999).** La microchimie: Techniques et expériences. De Boeck Supérieur. P7.
113. **Kalantar-Zadeh K. et Fry B.(2007).** Nanotechnology-Enabled Sensors. Springer. p215.
114. **Onuska F. (2012).** Open Tubular Column Gas Chromatography in Environmental Science. Springer. p4.
115. **Lundanes, E., REUBSAET, L., GREIBROKK, T. (2013).** Chromatography: Basic Principles, Sample Preparations and Related Methods. John Wiley & Sons. 224p.
116. **Snyder L.R. Kirkland J.J. (1979).** Introduction to modern liquid chromatography. 2^e Edit. John Wiley and sons, Inc. New York, 863p.
117. **Fritz J.S., Gjerde D.T. (2009).** Ion Chromatography. John Wiley & Sons. P13.
118. **Littlewood A.B. (2013).** Gas Chromatography: Principles, Techniques, and Applications. 2nd ed. Elsevier. p1.
119. **Bouchonnet S. (2009).** La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse. Lavoisier. 212 p.
120. **Burgot G. Burgot J. L. (2011).** Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications: Méthodes chromatographiques, électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques. Lavoisier. 368 p.
121. **Parriott D. (1993).** A Practical Guide to HPLC Detection. Academic Press. 293p.
122. **Carey F.A. (2000).** Organic Chemistry. 4th Ed. McGraw Hill Higher Education. p527.
123. **Gallo G.G., Lancini G., Parenti F. (1995).** Antibiotics: A Multidisciplinary Approach. Springer. pp1-31.
124. **Martin C., Potie F., Valet R., Viviani X. (1998).** Antibio prophylaxie en Chirurgie. In Higis N. Hygiène hospitalière. Presses Universitaires, Lyon. 666p
125. **Percival S.L., Williams D., Cooper T., (2014).** Randle J. Biofilms in Infection Prevention and Control: A Healthcare Handbook. 394p

126. **Michel-Briand Y. (2012).** Aspects de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Editions L'Harmattan. 320p.
127. **O'Connell, K. M. G., Hodgkinson, J. T., Sore, H. F., Welch, M., Salmond, G. P. C., & Spring, D. R. (2013).** Combating Multidrug-Resistant Bacteria: Current Strategies for the Discovery of Novel Antibacterials. *Angewandte Chemie International Edition*, 52(41), 10706–10733.
128. **Frieri, M., Kumar, K., & Boutin, A. (2016).** Antibiotic resistance. *Journal of Infection and Public Health*, 10(4), 369–378.
129. **Karam, G., Chastre, J., Wilcox, M. H., & Vincent, J.-L. (2016).** Antibiotic strategies in the era of multidrug resistance. *Critical Care*, 20(136).
130. **Dixon, R. A. (2001).** Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411(6839), 843–847.
131. **Lewis, K., et Ausubel, F. M. (2006).** Prospects for plant-derived antibacterials. *Nature Biotechnology*, 24(12), 1504–1507.
132. **Clark, A. M., & Hufford, C. D. (1993).** Discovery and Development of Novel Prototype Antibiotics for Opportunistic Infections Related to Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Human Medicinal Agents from Plants*, 228–241.
133. **Cowan, M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents, *Clin. Microbiol. Rev.*, 12 : 564- 582.
134. **Taylor, P. W. (2013).** Alternative natural sources for a new generation of antibacterial agents. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 42(3), 195–201.
135. **Wu, Y., Bai, J., Zhong, K., Huang, Y., Qi, H., Jiang, Y., & Gao, H. (2016).** Antibacterial Activity and Membrane-Disruptive Mechanism of 3-p-trans-Coumaroyl-2-hydroxyquinic Acid, a Novel Phenolic Compound from Pine Needles of *Cedrus deodara*, against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 21(8), 1084.
136. **Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343–356.
137. **CLSI. 2018.** M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. 296p.
138. **Eyquem A. Alouf J. Montagnier L., (2000).** *Traité de microbiologie clinique : deuxièmes mises à jour et compléments.* PICCIN. 238 p

139. **Jorgensen, J.H., Turnidge, J.D. (2007).** Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods. *In Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Landry M.L., Pfaller M.A. (Eds).* Manual of clinical microbiology. 9th ed. Vol.1. pp1152-1172.
140. **Turnidge J.D. (2015).** Susceptibility test methods : General considerations. *In : Jorgensen J.H. Pfaller M.A. Carroll K.C. Funke G. Landry M.L. Richter S.S. Warnock D.W. (Eds).* Manual of clinical microbiology. 11th ed. Volume 1. ASM Press, Washington, USA. 1246-1252
141. **Becker K. Skov R.L. Von Eiff C. (2015).** Gram-Positive Cocci. *Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci. In : Jorgensen J.H. Pfaller M.A. Carroll K.C. Funke G. Landry M.L. Richter S.S. Warnock D.W. (Eds).* Manual of clinical microbiology. 11th ed. Volume 1. ASM Press, Washington, USA. 354-382.
142. **Chen S.C.A. Sorrell T.C. Mayer W. (2015).** Fungi : *Aspergillus and Penicillium.* *In: Jorgensen J.H. Pfaller M.A. Carroll K.C. Funke G. Landry M.L. Richter S.S. Warnock D.W. (Eds).* Manual of clinical microbiology. 11th ed. Volume 2. ASM Press, Washington, USA. 2013 – 2056.
143. **Hoiby N., Ciofu O., Bjarnsholt T. (2015).** Gram-Negative Bacteria : *Pseudomonas.* *In : Jorgensen J.H. Pfaller M.A. Carroll K.C. Funke G. Landry M.L. Richter S.S. Warnock D.W. (Eds).* Manual of clinical microbiology. 11th ed. Volume 1. ASM Press, Washington, USA. 773 – 790.
144. **Howell S.A. Hazen K.C. Brandt M.E. (2015).** Fungi : *Candida, Cryptococcus, and Other Yeasts of Medical Importance.* *In : Jorgensen J.H. Pfaller M.A. Carroll K.C. Funke G. Landry M.L. Richter S.S. Warnock D.W. (Eds).* Manual of clinical microbiology. 11th ed. Volume 2. ASM Press, Washington, USA. 1984–2014.
145. **Strockbine N.A. Bopp C.A. Fields P.I. Kaper J.B. Nataro J.P. (2015).** Gram-Negative Bacteria: *Escherichia, Shigella, and Salmonella.* *In: Jorgensen J.H. Pfaller M.A. Carroll K.C. Funke G. Landry M.L. Richter S.S. Warnock D.W. (Eds).* Manual of clinical microbiology. 11th ed. Volume 1. ASM Press, Washington, USA. 685 – 713.

146. **Turenne C.Y. Snyder J.W. Alexander D.C. (2015).** Gram positive rods: *Bacillus* and Other Aerobic Endospore-Forming Bacteria. *In: Jorgensen J.H. Pfaller M.A. Carroll K.C. Funke G. Landry M.L. Richter S.S. Warnock D.W. (Eds).* Manual of clinical microbiology. 11th ed. Volume 1. ASM Press, Washington, USA. 441 – 461.
147. **Schulz-Aellen M.F. (1997).** Aging and Human Longevity. Springer. pp158-163.
148. **Plowman S., Smith D. (2008).** Exercise Physiology for Health, Fitness, and Performance. Lippincott Williams & Wilkins. p166.
149. **Uttara, B., Singh, A., Zamboni, P., & Mahajan, R. (2009).** Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. *Current Neuropharmacology*, 7(1), 65–74.
150. **Quintanilha, L. F., Takami, T., Hirose, Y., Fujisawa, K., Murata, Y., Yamamoto, N., ... Sakaida, I. (2013).** Canine mesenchymal stem cells show antioxidant properties against thioacetamide-induced liver injury in vitro and in vivo. *Hepatology Research*, 44(10), E206–E217.
151. **Gadoth, N., Göbel, H.H. (2010).** Oxidative Stress and Free Radical Damage in Neurology. Springer. pp2-3.
152. **Poli. (1993).** Free Radicals: from Basic Science to Medicine. Birkhäuser. 530p.
153. **Olinescu R. and Smith T.L. (2002).** Free Radicals in Medicine. Nova Publishers. pp: 1-10.
154. **Moussard, C. (2006).** Biochimie structurale et métabolique. De Boeck Supérieur. 368p.
155. **Bodamyali T., Stevens C.R., Blake D.R., Winyard P.G. (2000).** Reactive Oxygen/Nitrogen Species and Acute Inflammation, A Physiological Process. In Winyard P.G., Blake D.R., Evans C.H. (Eds). *Free Radicals and Inflammation*. Springer Science & Business Media. pp13-14.
156. **Montezano, A.C., Touyz, R.M. (2012).** Active Oxygen Species and the Cardiovascular System. Morgan & Claypool Publishers. 100p.
157. **Causse C. (2004).** Les secrets de santé des antioxydants: plus jeune, plus longtemps avec les antioxydants. Alpen Editions. 16-42.
158. **Bhatt I.D., Rawat S., Rawal R.S. (2012).** Antioxydants in medicinal plants. *In* Chandra S., Lata H., Varma A. *Biotechnology for Medicinal Plants: Micropropagation and Improvement*. Springer Science & Business Media. pp 295-298.

159. **Cotelle, N., Bernier, J.L., Catteau, J.P., Pommery, J., Wallet, J.C., Gaydou, E.M. (1996).** Antioxidant properties of hydroxyflavones. *Free Rad. Bio. Med.*, **20** (1), 35-43.
160. **Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D. (1998)** Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.*, **46** (10), 4113-4117.
161. **Zheng, W., & Wang, S. Y. (2001).** Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**(11), 5165–5170.
162. **Gilgun-Sherki, Y., Melamed, E., & Offen, D. (2001).** Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology*, **40**(8), 959–975.
163. **Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. (2001).** Antioxidants in food. Woodhead Publishing Limited, 288p.
164. **Sies H. (1991).** Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* **91**:31-38.
165. **Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **64**(6), 390–396.
166. **Kumar V., Cotran, R. S., Robbins, S. L. (2018).** Chapitre 3 : inflammation and repair. *Robbins Basic Pathology*. 10th ed. Elsevier. pp 57-93.
167. **Weill B. et Batteux F. (2003).** Reaction inflammatoire. *Immunopathologie et réactions inflammatoires*. De Boeck Supérieur. pp12-34.
168. **Stevens A., Lowe J., Young B. (2004).** Anatomie pathologique. De Boeck Supérieur. 304p.
169. **Headland, S. E., & Norling, L. V. (2015).** The resolution of inflammation: Principles and challenges. *Seminars in Immunology*, **27**(3), 149–160.
170. **Medzhitov, R. (2008).** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. Vol.454, N°.7203, pp. 428-435.
171. **Medzhitov, R. & Janeway, C. A. Jr. (1997).** Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* ; **91**, 295–298.
172. **Kumar, V., Abbas, A.A., Aster, J.C. (2013).** *Robbins Basic Pathology*. 9th ed. Elsevier. p45.
173. **Pober, J. S. & Sessa, W. C. (2007).** Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nature Rev. Immunol.* **7**, 803–815

174. **Nathan, C. (2006).** Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nature Reviews Immunology*, 6(3), 173–182.
175. **Barton, G. M. (2008).** A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *Journal of Clinical Investigation*, 118(2), 413–420.
176. **Serhan, C. N., & Savill, J. (2005).** Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nature Immunology*, 6(12), 1191–1197.
177. **Serhan, C. N. (2007).** Resolution Phase of Inflammation: Novel Endogenous Anti-Inflammatory and Proresolving Lipid Mediators and Pathways. *Annual Review of Immunology*, 25(1), 101–137.
178. **Kohli, P., & Levy, B. D. (2009).** Resolvins and protectins: mediating solutions to inflammation. *British Journal of Pharmacology*, 158(4), 960–971.
179. **Drayton, D. L., Liao, S., Mounzer, R. H., & Ruddle, N. H. (2006).** Lymphoid organ development: from ontogeny to neogenesis. *Nature Immunology*, 7(4), 344–353.
180. **Rainsford, K. D. (2007).** Anti-inflammatory drugs in the 21st century. *Subcell. Biochem.* 42, 3–27.
181. **Becker, D. E. (2013).** Basic and Clinical Pharmacology of Glucocorticosteroids. *Anesthesia Progress*, 60(1), 25–32.
182. **Perretti, M., Ahluwalia, A., (2000).** The microcirculation and inflammation: site of action for glucocorticoids. *Microcirculation* 7, 147–161.
183. **Fokunang C.N., Fokunang E.T., Frederick K., Ngameni B., Ngadjui B. (2018).** Overview of non-steroidal anti-inflammatory drugs (nsaids) in resource limited countries. *MOJ Toxicol.*4(1):5–13.
184. **Frölich, J. C. (1997).** A classification of NSAIDs according to the relative inhibition of cyclooxygenase isoenzymes. *Trends in Pharmacological Sciences*, 18(1), 30–34.
185. **Grosser T., Smyth E., FitzGerald G.A. (2011).** Antiinflammatory, Analgesic, Antipyretics agents; Pharmacotherapy of gout. *In Brunton L., Chabner B., Knollman B. (Eds).* Goodman & Gilman's : The Pharmacological basis of therapeutics. 12th ed. pp1211-1218.
186. **O Day R. et Graham G.G. (2013).** Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *BMJ* ;346 : f3195.

187. **Wei, L., MacDonald, T.M., Walker, B.R., (2004).** Taking glucocorticoids by prescription is associated with subsequent cardiovascular disease. *Ann. Intern. Med.* 141, 764–770.
188. **Souverein, P.C., Berard, A., Van Staa, T.P., Cooper, C., Egberts, A.C.G., Leufkens, H.G.M., Walker, B.R., (2004).** Use of oral glucocorticoids and risk of cardiovascular and cerebrovascular disease in a population based case-control study. *Heart* 90, 859–865.
189. **de Vries, F., Pouwels, S., Lammers, J.W., Leufkens, H.G., Bracke, M., Cooper F C., van Staa, T.P., (2007).** Use of inhaled and oral glucocorticoids, severity of inflammatory disease and risk of hip/femur fracture: a population-based case-control study. *J. Intern. Med.* 261, 170–177.
190. **Vegiopoulos, A., Herzig, S., (2007).** Glucocorticoids, metabolism and metabolic diseases. *Mol. Cell Endocrinol.* 275, 43–61.
191. **Rang H.P., Ritter J.M., Flower R.J., Henderson G. (2016).** Rang and Dale's Pharmacology. Elsevier. 776p
192. **CPTUI SP. (2001).** Glossary of terms for thermal physiology. 3rd ed. *The Japanese Journal of Physiology.* 51(2) : 245-280.
193. **Anochie P.I. (2003).** Mechanism of Fever in Human. *Int. J. Microbiol. Immunol. Res.* 2(5), pp. 037-043,
194. **Longo D.L., Fauci A.S., Kasper D.L., Hauser S.L., Jameson J.L., Loscalzo J. (2013).** Common Patient Presentation. Harrison's manual of medicine. 18th ed. McGraw-Hill Editions. p209.
195. **Evans, S. S., Repasky, E. A., & Fisher, D. T. (2015).** Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat. *Nature Reviews Immunology*, 15(6), 335–349.
196. **Dinarello, C. A. (2004).** Review: Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: some concepts have changed. *Journal of Endotoxin Research*, 10(4), 201–222.
197. **Sanchez-Alavez, M., Tabarean, I. V., Behrens, M. M., & Bartfai, T. (2006).** Ceramide mediates the rapid phase of febrile response to IL-1beta. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(8), 2904–2908.
198. **Kluger, M. J., Kozak, W., Leon, L. R., Soszynski, D., & Conn, C. A. (1998).** Chapter 22 : Fever and antipyresis. *Brain Function in Hot Environment, Prog Brain Res* 465–475.

199. **Kaplanski G., Marin V. (2002).** Mécanismes de la fièvre. *Rev Prat.* **52** (2) : 135-8.
200. **Mackowiak, P. A. (1998).** Concepts of Fever. *Archives of Internal Medicine*, 158(17), 1870.
201. **Tatro, J. B. (2000).** Endogenous Antipyretics. *Clinical Infectious Diseases*, 31(Supplement_5), S190–S201.
202. **Conti, B. (2004).** Cytokines and fever. *Frontiers in Bioscience*, 9(1-3), 1433.
203. **Kozak, W., Kluger, M. J., Tesfaigzi, J., Kozak, A., Mayfield, K. P., Wachulec, M., & Dokladny, K. (2006).** Molecular Mechanisms of Fever and Endogenous Antipyresis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 917(1), 121–134.
204. **Kluger, M.J. (1986).** Is fever beneficial?. *Yale J Biol Med*, 59, 89–96
205. **Knudsen, FU. (2000).** Febrile seizures: treatment and prognosis. *Epilepsia*. Jan ; 41 (1) : 2-9.
206. **El-Radhi, A. S. M. (2012).** Fever management: Evidencevscurrent practice. *World Journal of Clinical Pediatrics*, 1(4), 29.
207. **Aronoff, D. M., & Neilson, E. G. (2001).** Antipyretics: mechanisms of action and clinical use in fever suppression. *The American Journal of Medicine*, 111(4), 304–315.
208. **IASP (International Association for Study of Pain). (1979).** IASP Terminology.
<http://www.iasp-pain.org/Education/Content.aspx?ItemNumber=1698#Pain>
(consulté le 12.11.2018)
209. **Pierrot M. (2000).** La douleur. L'aide-soignante n°21/22. Elsevier. pp13-16
210. **McCormick, T., & Law, S. (2016).** Assessment of acute and chronic pain. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 17(9), 421–424.
211. **Rougé Bugat M.E. Oustric S. Queneau P. Druais P.L. (2013).** Chapitre 3- Problemes generaux : Douleurs aiguës, douleurs chroniques, neuropathiques et cancéreuses. *In* Gay B. Beis J.N. Thrinh-Duc A. Bouget J. Thérapeutique en Médecine Générale. Global Média Santé. 844p.
212. **Schmidt R.F. (1999).** Nociception et douleur. *Physiologie*. 2^e Ed. De Boeck Supérieur, pp 87- 92
213. **Marchand, S. (2005).** Neurophysiologie : Aspects fondamentaux. *In* Beaulieu P. Pharmacologie de la douleur. PMU. pp 3-7.

- 214. Baurle E. et Wagner J. (2008).** PNS : Nociceptive Afferents Neurons : Anatomy and Pain. *In Modak R.K.* Anesthesiology Keywords Review. Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins (Philadelphia, USA). p367.
- 215. Steeds, C. E. (2009).** The anatomy and physiology of pain. *Surgery (Oxford)*, 27(12), 507–511.
- 216. Chapman C.R. (2005).** Psychological aspects of pain : a consciousness studies perspective. *In Pappagallo M, (Ed).* The Neurological Basis of Pain. McGraw-Hill, Medical Pub. Division, New York. pp. 157–167.
- 217. Valverde A. et Doherty T.J. (2009).** Chapitre 105. Pain management in Cattle and Small Ruminants. *In Anderson D.E. et Rings M.* Current veterinary therapy : Food Animal Practice. 5th Ed. Saunders, Elsevier. p 534.
- 218. Queneau P. et Ostermann G. (1998).** Soulager la douleur : écouter, croire, prendre soin. Odile Jacob. pp 68-87.
- 219. De Lalouvière, L. L. H., Ioannou, Y., & Fitzgerald, M. (2014).** Neural mechanisms underlying the pain of juvenile idiopathic arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 10(4), 205–211.
- 220. Kieffer, BL. et Gavériaux-Ruff, C. (2002).** Exploring the opioid system by gene knock-out. *Prog Neurobiol.* 66 : 285—306.
- 221. Le Bars, D. et Willer, J.C. (2004).** Physiology of pain. *EMC-Anesthésie Réanimation*, 1, 227-266.
- 222. Fürst, R., & Zündorf, I. (2014).** Plant-Derived Anti-Inflammatory Compounds: Hopes and Disappointments regarding the Translation of Preclinical Knowledge into Clinical Progress. *Mediators of Inflammation*, 2014, 1–9.
- 223. Ghasemian, M., Owlia, S., & Owlia, M. B. (2016).** Review of Anti-Inflammatory Herbal Medicines. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2016, 1–11.
- 224. Lal, B., Kapoor, A. K., Asthana, O. P., Agrawal, P. K., Prasad, R., Kumar, P., & Srimal, R. C. (1999).** Efficacy of Curcumin in the Management of Chronic Anterior Uveitis. *Phytotherapy Research*, 13(4), 318–322.
- 225. Prucksunand C., Indrasukhsri B., Leethochawalit M., Hungspreugs K. (2001).** “Phase II clinical trial on effect of the long turmeric (*Curcuma longa* Linn) on healing of peptic ulcer,” *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, vol. 32, no. 1, pp. 208–215,

- 226. Hanai, H., Iida, T., Takeuchi, K., Watanabe, F., Maruyama, Y., Andoh, A., et al., (2006).** Curcumin Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis: Randomized, Multicenter, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 4(12), 1502–1506.
- 227. Khalvat A. (2005).** “Comparing the effects of ginger (*Zingiber officinale*) extract and ibuprofen on patients with osteoarthritis,” *Archives of Iranian Medicine*, vol. 8, no. 4, pp. 267–271.
- 228. Haghghi, A., Tavalaei, N., & Owlia, M. B. (2006).** Effects of ginger on primary knee osteoarthritis. *Indian Journal of Rheumatology*, 1(1), 3–7. doi:10.1016/s0973-3698(10)60514-6
- 229. Drozdov, V. N., Kim, V. A., Tkachenko, E. V., & Varvanina, G. G. (2012).** Influence of a Specific Ginger Combination on Gastropathy Conditions in Patients with Osteoarthritis of the Knee or Hip. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 18(6), 583–588.
- 230. Abu-Al-Basal, M. A. (2010).** Healing potential of *Rosmarinus officinalis* L. on full-thickness excision cutaneous wounds in alloxan-induced-diabetic BALB/c mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(2), 443–450.
- 231. Amaral G.P. de Carvalho N.R., Barcelos et al R.P. (2013).** “Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats,” *Food and Chemical Toxicology*, vol. 55, pp. 48–55, M.
- 232. Randall, C., Randall, H., Dobbs, F., Hutton, C., & Sanders, H. (2000).** Randomized controlled trial of nettle sting for treatment of base-of-thumb pain. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 93(6), 305–309.
- 233. Roschek, B., Fink, R. C., McMichael, M., & Alberte, R. S. (2009).** Nettle extract (*Urtica dioica*) affects key receptors and enzymes associated with allergic rhinitis. *Phytotherapy Research*, 23(7), 920–926.
- 234. Poeckel, D., Greiner, C., Verhoff, M., Rau, O., Tausch, L., Hörnig, C., ... Werz, O. (2008).** Carnosic acid and carnosol potently inhibit human 5-lipoxygenase and suppress pro-inflammatory responses of stimulated human polymorphonuclear leukocytes. *Biochemical Pharmacology*, 76(1), 91–97.
- 235. Bauer J. Kuehnl, S. Rollinger J. M. et al., (2012).** Carnosol and carnosic acids from *Salvia officinalis* inhibit microsomal prostaglandin E2 synthase-1,” *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 342, no. 1, pp. 169–176.

236. Farahbakhsh S., Arbabian S., Emami F., Moghadam B.R., Ghoshooni H, Noroozadeh A., Sahraei H., Golmanesh L., Jalili C., Zrdooz H. (2011). Inhibition of cyclooxygenase type 1 and 2 enzyme by aqueous extract of *Elaeagnus angustifolia* in mice," *Basic and Clinical Neuroscience*, vol. 2, no. 2, pp. 31–37,
237. Nikniaz, Z., Ostadrahimi, A., Mahdavi, R., Ebrahimi, A. asghar, & Nikniaz, L. (2014). Effects of *Elaeagnus angustifolia* L. supplementation on serum levels of inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases in females with knee osteoarthritis. *Complementary Therapies in Medicine*, 22(5), 864–869.
238. Sánchez-Fidalgo, S., Villegas, I., Cárdeno, A., Talero, E., Sánchez-Hidalgo, M., Motilva, V., & Alarcón de la Lastra, C. (2010). Extra-virgin olive oil-enriched diet modulates DSS-colitis-associated colon carcinogenesis in mice. *Clinical Nutrition*, 29(5), 663–673.
239. Najmi, M., Vahdat Shariatpanahi, Z., Tolouei, M., & Amiri, Z. (2015). Effect of oral olive oil on healing of 10–20% total body surface area burn wounds in hospitalized patients. *Burns*, 41(3), 493–496.
240. Reanmongkol W., Itharat A. (2007). Antipyretic activity of the extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces L. in experimental animals. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 29:29-38.
241. Neha S, Ranvir GD, Jangade CR. (2009). Analgesic and antipyretic activities of *Curcuma longa* rhizome extracts in Wister Rats. *Veterinary World*; 2(8): 304-306.
242. Akkol, E. K., Güvenç, A., & Yesilada, E. (2009). A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa. *Journal of Ethnopharmacology*, 125(2), 330–336.
243. Yesilada, E., & Küpeli, E. (2007). *Clematis vitalba* L. aerial part exhibits potent anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 110(3), 504–515.
244. Devi, B. P., Boominathan, R., & Mandal, S. C. (2003). Evaluation of antipyretic potential of *Cleome viscosa* Linn. (Capparidaceae) extract in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 87(1), 11–13.
245. Trongsakul, S., Panthong, A., Kanjanapothi, D., & Taesotikul, T. (2003). The analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activity of *Diospyros variegata* Kruz. *Journal of Ethnopharmacology*, 85(2-3), 221–225.

- 246. Ho, Y.L., et Chang, Y.S. (2002).** Studies on the antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic effects of *Isatis indigotica* root. *Phytomedicine*, 9(5), 419–424.
- 247. Kassuya, C. A. L., Cremonese, A., Barros, L. F. L., Simas, A. S., da Rocha Lapa, F., Mello-Silva, R., et al. (2009).** Antipyretic and anti-inflammatory properties of the ethanolic extract, dichloromethane fraction and costunolide from *Magnolia ovata* (Magnoliaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 124(3), 369–376.
- 248. Makonnen, E. Debella A. Abebe D. Teka F. (2003.a).** Analgesic properties of some Ethiopian medicinal plants in different models of nociception in mice. *Phytotherapy Research* ; 17, 1108–1112.
- 249. Amabeoku, G., Eagles, P., Scott, G., Mayeng, I., & Springfield, E. (2001).** Analgesic and antipyretic effects of *Dodonaea angustifolia* and *Salvia africana-lutea*. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), 117–124.
- 250. Da Silva, R.Z., Yunes, R.A., Souza, M.M & Delle, F. (2010).** Antinociceptive properties of conocarpan and orientin obtained from *Piper solmsianum* C. DC. var. *solmsianum* (Piperaceae). *J Nat Med* 64, 402- 408.
- 251. Venâncio, A.M., Onofre, A.S., Lira, A.F., Alves, P.B., Blank, A.F., Antonioli, A.R., Marchioro, M., Estevam, S & Araujo, B.S. (2011)** Chemical composition, acute toxicity, and antinociceptive activity of the essential oil of a plant breeding cultivar of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Planta Med* 77, 825-829.
- 252. Martínez, A. L., González-Trujano, M. E., Chávez, M., & Pellicer, F. (2012).** Antinociceptive effectiveness of triterpenes from rosemary in visceral nociception. *Journal of Ethnopharmacology*, 142(1), 28–34.
- 253. Ouachrif, A., Khalki, H., Chaib, S., Mountassir, M., Aboufatima, R., Farouk, L., Benharraf, A., Chait, A. (2012).** Comparative study of the anti-inflammatory and antinociceptive effects of two varieties of *Punica granatum*. *Pharmaceutical Biology*, 50(4), 429–438.
- 254. Vamsidhar, I., Mohammed, A.H., Nataraj, B., Rao C. & Ramesh, M. (2000)** Antinociceptive activity of *Euphorbia heterophylla* roots. *Fitoterapia* 71, 562-563.
- 255. Shier D., Butler J., Lewis R. (2015).** Hole’s Essentials of Human Anatomy & Physiology, 12th ed. McGraw-Hill Education, 2 Penn Plaza, New York. pp 420-422.

- 256. Sembulingam K., Sembulingam P. (2012).** Digestive systeme. **Essentials of Medical Physiology.** Jaypee Brothers Medical Publishers.pp219-292.
- 257. Phillips M.M. (2018).** Peptic Ulcer Disease [En ligne]. A.D.A.M. Editorial team. Disponible sur <https://www.pennmedicine.org/for-patients-and-visitors/patient-information/conditions-treated-a-to-z/peptic-ulcer-disease> (consulté le 25.12.2018).
- 258. Wallace J.L. et Sharkey K.A. (2011).** Drugs Affecting Gastrointestinal Function. *In* Brunton L., Chabner B., Knollman B. Goodman & Gilman's : The Pharmacological basis of therapeutics. 12th ed. pp1307-1362.
- 259. Tripathi K.D. (2013).** Essentials of Medical Pharmacology. 7th ed. Jaypee Brothers Medical Publishers. 647-672.
- 260. Widmaier E.P., Ra H., Strang K.T. (2008):** *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*, 11th ed. New York : McGraw-Hill. p571. *In* **Barrett K.E., Barman S.M., Boitano S., Brooks H.L. (2016).** Ganongs Review of Medical Physiology. 25th ed. McGraw-Hill Education. p457.
- 261. Guyton A.C., Hall J.E.H. (2006).** Textbook Of Medical Physiology. 11th ed. Elsevier.pp820-825.
- 262. Nunes, P. H. M., Martins, M. do C. C., Oliveira, R. de C. M., Chaves, M. H., Sousa, E. A., Leite, J. R. S. A., et al. (2014).** Gastric Antiulcerogenic and Hypokinetic Activities of Terminalia fagifolia Mart. & Zucc. (Combretaceae). *BioMed Research International*, 2014, 1–14.
- 263. El-Meligy, R. M., Awaad, A. S., Soliman, G. A., Kenawy, S. A., & Alqasoumi, S. I. (2016).** Prophylactic and curative anti-ulcerogenic activity and the possible mechanisms of action of some desert plants. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(3), 387–396.
- 264. Srivastava S., Jaiswal J., Gautam H., Sharma S., Rao Ch. V. (2013).** Anti-Ulcer Activity Of Methanolic Extract Of Hibiscus Rosa Sinensis Leaves. *Int J Pharm Pharm Sci*, Vol 5, Suppl 3, 829-830.
- 265. Sumbul, S., Mohd Aftab Ahmad, Asif, M., Saud, I., & Akhtar, M. (2010).** Evaluation of *Myrtus communis* Linn. berries (common myrtle) in experimental ulcer models in rats. *Human & Experimental Toxicology*, 29(11), 935–944.

- 266. Singh, S., & Majumdar, D. (1999).** Evaluation of the gastric antiulcer activity of fixed oil of *Ocimum sanctum* (Holy Basil). *Journal of Ethnopharmacology*, 65(1), 13–19.
- 267. Gürbüz, İ., Üstün, O., Yesilada, E., Sezik, E., & Kutsal, O. (2003).** Anti-ulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1), 93–97.
- 268. Khayyal, M. T., Seif-El-Nasr, M., El-Ghazaly, M. A., Okpanyi, S. N., Kelber, O., & Weiser, D. (2006).** Mechanisms involved in the gastro-protective effect of STW 5 (Iberogast®) and its components against ulcers and rebound acidity. *Phytomedicine*, 13, 56–66.
- 269. Al-Said, M. S., Ageel, A. M., Parmar, N. S., & Tariq, M. (1986).** Evaluation of mastic, a crude drug obtained from *Pistacia lentiscus* for gastric and duodenal anti-ulcer activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 15(3), 271–278.
- 270. Shree G.G.K., Parvathi S., Ramkumar P.S.S., Priya S.S. (2012).** Pharmacological and Phytochemical Evaluation of Anti-Ulcerogenic Potential of *Solanum nigrum*. *Int J Pharm Sci Res*; Vol. 3(8): 2837-2840.
- 271. Okokon J.E., Antia B.S. Umoh E.E. (2009).** Antiulcerogenic Activity of Ethanolic Leaf Extract of *Lasianthera Africana*. *Afr. J. Trad. CAM.* 6 (2): 150 - 154
- 272. Dharmani, P., Mishra, P. K., Maurya, R., Singh Chauhan, V., & Palit, G. (2005).** *Allophylus serratus*: A plant with potential anti-ulcerogenic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(3), 361–366.
- 273. Júnior, F. E. B., de Oliveira, D. R., Bento, E. B., Leite, L. H. I., Souza, D. O., Siebra, A. L. A., et al. (2013).** Antiulcerogenic Activity of the Hydroalcoholic Extract of Leaves of *Croton campestris* A. St.-Hill in Rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, pp1–10.
- 274. INRAA. (2006).** Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques. 68p.
- 275. Hedge, I.C. (1986).** *Labiatae* of South-west Asia: diversity, distribution and endemism, *Proceedings of the Royal Society of Edinburg* 89: 23-35
- 276. Kaufmann, M., & Wink, M. (1994).** Molecular Systematics of the Nepetoideae (Family Labiatae): Phylogenetic Implications from *rbcl* Gene Sequences. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 49(9-10), 635–645.

277. **Kokkini, S., Karousou, R., Hanlidou, E. (2003).** HERBS | Herbs of the Labiatae. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (2nd ed). Academic Press. pp3082–3090
278. **Carović-Stanko, K., Petek, M., Grdiša, M., Pintar, J., Bedeković, D., Herak Ćustić, M., & Satovic, Z. (2016).** Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods – a review . Czech Journal of Food Sciences, 34(No. 5), 377–390.
279. **Gonzalez A. G. ; Andres L. S. ; Herrera J. R. ; Luis J. G. ; Ravelo A. G. (1989).** Abietane diterpenes with antibiotic activity from the flowers of *Salvia canariensis*. Reaction of galdosol with diazomethane. *Canadian journal of chemistry*. vol. 67, n°2, pp. 208-212
280. **Zlatanov M.D. et Antova G.A. (2004).** Composition of biologically active lipids of *Lamiaceae* seed oils. *Grasas y Aceites*. 55(2) : 43-147.
281. **Klimek, B., Modnicki, D. (2005).** Terpenoids and sterols from *Nepeta cataria* L. var. *citriodora* (Lamiaceae). *Acta Pol Pharm*. 62:231-5
282. **Taskova R., Mitova M., Evstatieva L., Ančev M., Peev D. Handjieva N. et al. (1997).** Iridoids, flavonoids and terpenoids as taxonomic markers in *Lamiaceae*, *Scrophulariaceae*, and *Rubiaceae*. *Bocconeia*. 5(2). 631-636.
283. **Patora, J. and Klimek, B. (2002).** Flavonoids from lemon balm (*Melissa officinalis* L., Lamiaceae). *Acta Pol Pharm*.59(2):139-143.
284. **Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Latreche, A., & Aouad, L. (2014).** Pouvoir antimicrobien des flavonoïdes extraits des feuilles de *Marrubium vulgare* L. en provenance du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 12(1), 6–14.
285. **Kooiman, P. (1972).** The Occurrence of Iridoid Glycosides in the Labiatae. *Acta Botanica Neerlandica*, 21(4), 417–427.
286. **Kamel, M. S., Mohamed, K. M., Hassanean, H. A., Ohtani, K., Kasai, R., & Yamasaki, K. (2000).** Iridoid and megastigmane glycosides from *Phlomis aurea*. *Phytochemistry*, 55(4), 353–357.
287. **Muñoz, O., Peña, R. C., & Montenegro, G. (2001).** Iridoids from *Stachys grandidentata*. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 56(9-10), 902–903.

288. Pitschmann, A., Zehl, M., Heiss, E., Purevsuren, S., Urban, E., Dirsch, V. M., & Glasl, S. (2015). Quantitation of phenylpropanoids and iridoids in insulin-sensitising extracts of *Leonurus sibiricus* L. (Lamiaceae). *Phytochemical Analysis*, 27(1), 23–31.
289. Zegorka G et Glowniak K. (2001). Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 26: 179-187
290. Hossain, M. B., Rai, D. K., Brunton, N. P., Martin-Diana, A. B., & Barry-Ryan, C. (2010). Characterization of Phenolic Composition in Lamiaceae Spices by LC-ESI-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19), 10576–10581.
291. Ziaková, A., & Brandšteterová, E. (2003). Validation of HPLC Determination of Phenolic Acids Present in Some Lamiaceae Family Plants. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 26(3), 443–453.
292. Milevskaya, V. V., Temerdashev, Z. A., Butyl'skaya, T. S., & Kiseleva, N. V. (2017). Determination of phenolic compounds in medicinal plants from the Lamiaceae family. *Journal of Analytical Chemistry*, 72(3), 342–348.
293. Skendi, A., Irakli, M., & Chatzopoulou, P. (2017). Analysis of phenolic compounds in Greek plants of Lamiaceae family by HPLC. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 6, 62–69.
294. Kocabas, Y.Z., Karaman, S. (2001). Essential Oils of Lamiaceae Family from South East Mediterranean Region (Turkey). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4: 1221-1223.
295. Daferera, D. J., Tarantilis, P. A., & Polissiou, M. G. (2002). Characterization of Essential Oils from Lamiaceae Species by Fourier Transform Raman Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(20), 5503–5507.
296. Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., & Anackov, G. (2006). Characterization of the Volatile Composition of Essential Oils of Some Lamiaceae Spices and the Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Entire Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1822–1828.
297. Agostini, F., Santos, A. C. A. dos, Rossato, M., Pansera, M. R., Santos, P. L. dos, Serafini, L. A., ... Moyna, P. (2009). Essential oil yield and composition of Lamiaceae species growing in southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(2), 473–478.
298. **Flora of China (1994).** *Flora of China*, 17: 63-69 Source : http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=620&taxon_id=100916

- 299. Coll J. Tandrón Y.A. (2008).** Neo-clerodane diterpenoids from *Ajuga*: structural elucidation and biological activity. *Phytochem. Rev.*, **7**: 25-49.
- 300. Israili Z. H. Lyoussi B. (2009).** Ethnopharmacology Of The Plants Of Genus *Ajuga*. *Pak. J. Pharm. Sci.* **22** (4) : 425-462.
- 301. Couplon F. (2012).** Les plantes et leurs noms: Histoires insolites. Editions Quae. 223 p
- 302. Beloued A. (2012).** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. 284p.
- 303. Ait Youssef M. 2006.** Plante Médicinales Kabyles. Ibis Press, 349p.
- 304. Krim K., (1992).** Timbres Flore- Plantes médicinales : *Ajuga iva* [en ligne]. Imprimerie de la Banque d'Algérie. https://colnect.com/en/stamps/stamp/197018-Ajuga_iva-Medicinal_plants-Algeria (consulté le 27.11.2018)
- 305. APG4. (2016).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1–20.
- 306. Baba, Aissa F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie moderne Rouiba, 46
- 307. Batanouny K.H., Abou Tabl S., Shabana M. and Soliman F. (2005).** A guide to Medicinal Plants in North Africa. *Academy of Scientific Research and Technology*. International Union for Conservation (IUCN). pp17-18.
- 308. Chazel M., et Chazel L. 2012.** Découverte naturaliste des garrigues. Editions Quae. 208p.
- 309. Girre L., (2001).** Les plantes et les médicaments. L'origine végétale de nos médicaments. Edition Delachaux et Niestlé SA, Paris, 138.
- 310. Halimi A.K. (2004).** Les plantes médicinales en Algérie. 1^{ère} édition. *BERTI Editions*, Alger. pp: 156-157.
- 311. Bonnier, G. (1990).** La grande flore en couleurs. Paris, Belin. 729p.
- 312. Coste H. Flahault C. (1906).** Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse, et des contrées limitrophes, Volume 3. P. Klincksieck. 832p.
- 313. El-Hilaly, J. (2007).** Les propriétés pharmacologiques, ethnobotaniques et phytochimiques d'*Ajuga iva*. *Biomatec Echo* 4. 2(1). 7-9

- 314. Ikan R. et Ravid U. (1971).** The isolation and identification of ecdysterone from *Ajuga iva*. *Planta Med.*, **20**: 33-35.
- 315. Sabri, N., Asaad, A., & Khafagy, S. (1981).** Isolation of Four Ecdysones from *Ajuga iva* Roots and a Rapid Semiquantitative Method for Ecdysone Determination. *Planta Medica*, 42(07), 293–295.
- 316. Aly, R., Ravid, U., Abu-Nassar, J., Botnick, I., Lebedev, G., Gal, S., ... Ghanim, M. (2011).** Biological activity of natural phytoecdysteroids from *Ajuga iva* against the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* and the perseae mite *Oligonychus perseae*. *Pest Management Science*, 67(12), 1493–1498.
- 317. Wessner M, Champion B, Girault J-P, Kaouadji N, Saidi B and Lafont R (1992).** Ecdysteroids from *Ajuga iva*. *Phytochemistry*, **31**: 3785-3788.
- 318. Khafagy, SM., Sabri, NN., El-Sebakhy, N., Blessington, B., Asaad, A. (1979).** A C-20 ecdysone-like substance from *Ajuga iva*. *Planta. Med.*, **35**: 184-185.
- 319. Coll J. (2007).** New minor ecdysteroids from *Ajuga iva* (Labiatae) and complete H-NMR assignment of cyasterone. *Asociacion de Quimicos del Instituto Quimico de Sarria, Barcelona, Espagne*, **64(528)**, 242-250.
- 320. Ben Jannet H.B, Mighri Z, Serani L, Laprevote O, Jullian J- C and Roblot F (1997).** Isolation and structure elucidation of three new diglyceride compounds from *Ajuga iva* leaves. *Nat. Prod. Lett.*, **10** : 157-164.
- 321. Camps F, Coll J and Cortel AA (1982).** New clerodane diterpenoids from *Ajuga iva* (Labiatae). *Chem. Lett.*, **7**: 1053-1056.
- 322. Bennaghmouch L, Hajjaji N, Gmira N. (2002).** Flavonoïdes d'*Ajuga iva*. *Act Inst. Agron. Vet.*, **22 (1)** : 25-30.
- 323. Ghedira K, Chemli R, Richard B, Zeches M and Le Men- Olivier L (1991).** Contribution to the study of the traditional Tunisian pharmacopoeia: study of aerial parts of *Ajuga iva* (L.) Schreb. [French]. *Plantes Med. Phytother.*, **25**:100-111.
- 324. Assaad A. et Lahloub M.F. (1989).** Iridoid glycosides of *Ajuga iva*. *Pl. Med.* **55**: 211.
- 325. Abdelguerfi A., Ramdane S.A. (2003).** Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture, Tome XI. Bilans des Expertises sur « La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie » MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31. 231p

- 326. Zerroug M.M., Zouaghi M., Boumerfeg S, Baghiani A, Nicklin J., Arrar L. (2011).** Antibacterial Activity of Extracts of *Ajuga Iva*, and *Teucrium Polium*. *Advances in Environmental Biology*, 5(2): 491-495.
- 327. Bouabdelli et al., (2012).** Antimicrobial Activity of 22 Plants Used in Urolithiasis Medicine in Western Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. S530-S535
- 328. Makni, M., Anissa, Haddar., Walid, Kriaa., Najiba, Zeghal. (2013)** Antioxidant, Free Radical Scavenging, and Antimicrobial Activities of *Ajuga iva* Leaf Extracts, *International Journal of Food Properties*, 16:4, 756-765,
- 329. Ayari et al. (2013).** Evaluation of Antioxydant And Antimicrobial Activities of Tunisian *Ajuga Iva* L. Essential Oils. *Revue F. S. B XI*. 203 – 210.
- 330. Chenni A. Ait-Yahia D. Boukortt F.O. Prost J. Lacaille-Dubois M.A. Bouchenak M. (2006).** *Ajuga Iva* Treatment Attenuates Hypercholesterolemia Induced By A Cholesterol Supplemented Diet And Improves Lipid Peroxidation And Antioxidant Enzymes. *Nutritional approaches : XIV bztentational Symposium on Atherosclerosis*, p14
- 331. Chenni A. Yahia D.A. Boukortt F.O. Prost J. Lacaille-Dubois M.A. Bouchenak M. (2007).** Effect of aqueous extract of *Ajuga iva* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet. *J. Ethnopharmacol.*, **109**: 207-213.
- 332. Lacaille-Dubois M.A., Chenni A., Yahia D.A., Boukortt F.O., Prost J., Bouchenak M. (2006).** Hypolipidemic and antioxidant effect of *Ajuga iva* in rats fed a highcholesterol diet. 54th Annual Congress on Medicinal Plants Research, Helsinki, Finland, 29 August – 2 September, 2006, Poster 126.
- 333. Bouderbala S., Lamri-Senhadji M., Lacaille-Dubois M.A., Bouchenak M. (2008).** Changes in antioxidant defense status in hypercholesterolemic rats treated with *Ajuga iva*. *Phytomedicine*, **15** : 453-461.
- 334. Bouderbala S., Prost J., Lacaille-Dubois M.A., Bouchenak M. (2010).** Iridoid extracts from *Ajuga iva* increase the antioxidant enzyme activities in red blood cells of rats fed a cholesterol-rich diet. *Nutrition Research*. 30. 358–365.

335. Hamden K. S., Carreau, K. jarnoussr, F. Ayadi, F. Garrnazi, N. Mezgenni and A. Elfeki. (2008). Inhibitory effects of 1α , 25dihydroxyvitamin D3 and *Ajuga iva* extract on oxidative stress, toxicity and hypo-fertility in diabetic rat testes. *Physiol Biochem*, 64 (3). 231-240.
336. Taleb-Senouci D., Ghomari M.A., Krouf H., Bouderbala S. Prost J. Lacaille-Dubois M.A., Bouchenak M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 16. 623–631.
337. El-Hilaly J. Lyoussi B (2002). Hypoglycaemic effect of the lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, **80**: 109-113.
338. El-Hilaly J, Tahraoui A, Israili ZH and Lyoussi B (2006). Hypolipidemic effects of acute and sub-chronic administration of an aqueous extract of *Ajuga iva* L. whole plant in normal and diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, **105**: 441-448.
339. El-Hilaly J, Tahraoui A, Israili ZH and Lyoussi B (2007). Acute hypoglycemic, hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effects of continuous intravenous infusion of a lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* L. Schreber whole plant in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pak. J. Pharm. Sci.*, **20**: 261-268.
340. Marc E.B, Nelly A., Annick D.D., Frederic D. (2008). Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *J. Ethnopharmacol.*, **120**: 315-334.
341. Taleb-Senouci D., Krouf H., Ghomari M.A., Lacaille-Dubois M.A., Bouchenak M. (2008). Effect of an aqueous extract of *Ajuga iva* on glycaemia, reverse cholesterol transport and atherogenic ratios in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Proceedings of the Nutrition Society*. (67 (OCE), E194
342. EL-Hawary et al. (2013). Gas chromatography-mass spectrometry analysis, hepatoprotective and antioxidant activities of the essential oils of four Libyan herbs. *J. Med. Plants Res.* 7(24). 1746-1753,
343. Bouderbala S., Prost J., Lacaille-Dubois M.A., Bouchenak M. (2012). Iridoid enriched fraction from *Ajuga iva* reduce cholesterolemia, triacylglycerolemia and increase the lecithin : cholesterol acyltransferase activity of rats fed a cholesterol-rich diet. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*. 2(1) :55-60.

344. **Bougandoura N., Prost J., Bouchenak M. (2009).** *Ajuga Iva* Treatment Increases Post-Heparin Lipase Activity and Decreases Serum and Vldl-Triacylglycerols In Rats Fed a Cholesterol-Rich Diet. *Int J Pharm Pharm Sci.* **7(6) : 136-140.**
345. **El-Hilaly J, Lyoussi B, Wibo M and Morel N (2004b).** Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta. *J. Ethnopharmacol.*, **93**: 69-74.
346. **Bennaghmouch L, Hajjaji N, Zellou A., Cherrah Y. (2001).** Pharmacological study of *Ajuga iva*. [French]. *Ann. Pharmaceut. Francais.*, 59 : 284.
347. **Habib JF, Ben Douissa K, Ghedira A, Toumi R. Chemli. (1990).** Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle de Tunisie : Activité anti-ulcéreuse de *Ajuga iva*, *Rhus oxyacantha* et *Teucrium polium*. In : Ethnopharmacologie: sources, méthodes, objectifs, Paris, Metz, ORSTOM et SFE; 387-388.
348. **Beghalia et al., (2009).** Effects of *Atriplex halimus* and *Ajuga iva* L. Schreb on Calcium Oxalate Urolithiasis Risk *in vitro*. *Asian Journal of Chemistry.* 21(2). 1119-1125
349. **Bondi, ML, Al-Hillo MRY, Lamara K, Ladjel S, Bruno M, Piozzi F and Simmonds MSJ (2000).** Occurrence of the antifeedant 14,15-dihydroajugapitin in the aerial parts of *Ajuga iva* from Algeria. *Biochem. Syst. Ecol.*, **2** : 1023-1025.
350. **Caballero C, Castañera P, Ortego F, Fontana G, Pierro P, Savona G and Rodríguez B. (2001).** Effects of ajugarins and related neoclerodane diterpenoids on feeding behaviour of *Leptinotarsa decemlineata* and *Spodoptera exigua* larvae. *Phytochemistry*, **58**: 249- 256.
351. **Bellés, X., Camps, F., Coll, J., Piulachs, M.D., (1985).** Insect antifeedant activity of clerodane diterpenoids against larvae of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera). *J. Chem. Ecol.* 11(10) :1439-45.
352. **Rharrabe K. Sayah F. LaFont R. (2010).** Dietary effects of four phytoecdysteroids on growth and development of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *J of Insect Science.* 10 :13. 12p
353. **Jbilou, R., Ennabili, A., Sayah, F. (2006).** Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Afr. J. Biotechnol.*, 5: 936-940.

- 354. Jbilou, R., Amri, H., Bouayad, N., Ghailani, N., Ennabili, S., Sayah, F. (2008).** Insecticidal effects of extracts of seven plant species on larval development, α -amylase activity and offspring production of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae). *Bioresour. Technol.*, 99: 959-964.
- 355. ANDI. (2013).** http://www.andi.dz/PDF/monographies/Tizi_ouzou.pdf
- 356. Lemoine C. (2005).** Les fleurs méditerranéennes. Editions Jean-paul Gisserot. p2.
- 357. Anonyme. (2017).** <http://wilaya-tiziouzou.dz/> (consulté le 23/08/2017)
- 358. Benkhniq O., Zidane L., Fadli M., Elyacoubi H., Rochdi A. ET Douira A., (2011.a).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraa Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta Bot. Barc.* 53, 191-216
- 359. Dobignard A. et Chatelain C. (2010-2013).** Index Synonymique de la Flore d'Afrique du Nord. Conservatoire Et Jardin Botaniques De La Ville De Genève.
- 360. Si-Said M. (2017).** Glossaire Methodique De La Langue Kabyle. Lulu.com. 242p.
- 361. Prat R. (2007).** Expérimentation en biologie et physiologie végétales : trois cents manipulations. Editions Quae. 296 p
- 362. Zerrad, W., Hillali. S., Mataoui, M., El antris, B.S., Et hmeyen, A. (2006).** "Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur", Laboratoire de Biochimie, d"environnement, Maroc, 1p.
- 363. ISO. (1987).** ISO-1575 : Determination of total ash. 3rd ed. p1
- 364. Harborne, J. B. (1973).** Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. Chapman and Hall, New york. 278p
- 365. Paris R. et H. Moyse, (1969).** Précis De Matière Médicinale, Masson, Paris, France.
- 366. Farnsworth, N. R. (1966).** Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55(3), 225–276. In Geissman T. in "Modern Methods of Plant Analysis, vol. II1, Paech, K., and Tracey, M . V., eds., Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1955, p. 450
- 367. Sheel R., Nisha K., Kumar J. (2014).** Preliminary Phytochemical Screening Of Methanolic Extract Of *Clerodendron infortunatum*. *Journal of Applied Chemistry*. 7(1) : 10-13.

368. El-Yahyaoui O., Ouaziz N.A., Guinda I., Sammama A., Kerrouri S., Bouabid B., El Bakkall M., Quayou A., Lrhorfi A., Bengueddour R. (2017). Phytochemical screening and thin layer chromatography of two medicinal plants: *Adansonia digitata* (Bombacaceae) and *Acacia raddiana* (Fabaceae) *In Ilboudo S, Ouedraogo M, Some N, Guissou PI. (2009). Criblage phytochimique et évaluation de la toxicité aigüe de *Pisolithus tinctorius* (Basidiomycète). J Sci. Pharm. Biol, 10:6-13.*
369. Seigler D.S. (1998). Plant Secondary Metabolism. Springer. *In Hostettmann K., Hostettmann M., Marston A. (1991). Saponins. In Charlwood B.V. et Bantrophe D.V. Terpenoid. Vol. 7 of Methods in Plants Biochemistry. (Harborne J.B. et Dey P.M., eds). Academic Press, London. 7 ; 235-471.*
370. Evans, G.E. (2009). "Trease and Evans, Pharmacognosy", 16th Edition, Elseiver. 169-477.
371. Rodríguez-González, S., Martínez-Flores, H.E., Chávez-Moreno, C.K., Macías-Rodríguez, L.I., Zavala-Mendoza, E., Garnica-Romo, M.G., Chacón-García, L. (2014). Extraction and Characterization of Mucilage From Wild Species of *Opuntia*. *Journal of Food Process Engineering*, 37(3), 285–292.
372. Ribéreau-Gayon J. et Peynaud E. (1968). Les composés phénoliques des végétaux, *Traité d'œnologie. Édition Dunod. 254 p.*
373. Clevenger J.F. (1928). Apparatus for the Determination of Volatile Oil. *Journal Of The American Pharmaceutical Association. XVII (4) : 345-349.*
374. Rao, B. R. R., Kaul, P. N., Syamasundar, K. V., & Ramesh, S. (2005). Chemical profiles of primary and secondary essential oils of palmarosa (*Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats var. *motia* Burk.). *Industrial Crops and Products*, 21(1), 121–127.
375. Shah, A.K., Bhatt, D.R., Desai, M.A., Jadeja, G.C., Parikh, J.K. (2017). Extraction of essential oil from Patchouli leaves using hydrodistillation: Parametric studies and optimization. *Indian Journal of Chemical Technology. 24 : pp. 405-410*
376. Folin, O., Ciocalteu, V. (1927). On Tyrosine and Tryptophane Determinations In Proteins. *J. Biol. Chem. 73 :627-650.*
377. Wong, C.-C., Li, H.-B., Cheng, K.-W., & Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*, 97(4), 705–711.

- 378. Formagio, A., Volobuff, C., Santiago, M., Cardoso, C., Vieira, M., & Valdevina Pereira, Z. (2014).** Evaluation of Antioxidant Activity, Total Flavonoids, Tannins and Phenolic Compounds in Psychotria Leaf Extracts. *Antioxidants*, 3(4), 745–757.
- 379. Saxena M., Saxena J., Nema R., Singh D., Gupta A. (2013).** Phytochemistry of Medicinal Plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1(6) : 168-182.
- 380. EUCAST. (2015).** Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method. Version 5. 21p
- 381. Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2) : 211-219.
- 382. Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., & Kunz, W. (2016).** Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chimie*, 19(6), 754–765.
- 383. Barros, L., Baptista, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2007).** Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. *Food and Chemical Toxicology*, 45(9), 1731–1737.
- 384. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- 385. Pinchuk, I., Shoal, H., Dotan, Y., & Lichtenberg, D. (2012).** Evaluation of antioxidants: Scope, limitations and relevance of assays. *Chemistry and Physics of Lipids*, 165(6), 638–647.
- 386. Shalaby, E.A., Shanab, S.M.M. (2013).** Antiradical and Antioxidant Activities of Different *Spirulina platensis* Extracts against DPPH and ABTS Radical Assays. *J Mar Biol Oceanogr.* 2:1.
- 387. Gad, C.S. (2016).** *Animal Models in Toxicology*. CRC Press. p49
- 388. Stora D. (2013).** *Pharmacologie et thérapeutique*. 2^e ed. Initiatives Sante. 240p.
- 389. OECD. (2001).** Guidline for testing of chemicals: Test guidline No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure. Organisation for Economic Co-operation and Development. Paris.

- 390. Soro T.Y., Néné-bi A.S., Zahoui O.S., Yapi A., Traoré F. (2015).** Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). *Journal of Animal & Plant Sciences*. 24(3) : 3802-3813.
- 391. Amouzoun, L. A.-L., Agbonon, A., Eklou-Gadegbeku, K., Aklikokou, K., & Gbéassor, M. (2008).** Activités antipyrétique et anti-inflammatoire d'extraits hydro-alcooliques des racines et feuilles de *Nauclea latifolia* Smith (Rubiaceae) chez le rat Wistar. *Phytothérapie*, 6(4), 228–231.
- 392. Zhang, L., Hu, J.-J., Lin, J.-W., Fang, W.-S., & Du, G.-H. (2009).** Anti-inflammatory and analgesic effects of ethanol and aqueous extracts of *Pteroccephalus hookeri* (C.B. Clarke) Höeck. *Journal of Ethnopharmacology*, 123(3), 510–514.
- 393. Alimi, H., Hfaiedh, N., Bouoni, Z., Sakly, M., & Ben Rhouma, K. (2011).** Evaluation of antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. *inermis* flowers extract in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32(3), 406–416.
- 394. Bardi DAA, Khan MAS, Sabri SZ, Kadir FA, Mahmood AA, et al. (2011).** Anti-ulcerogenic activity of *Typhonium flagelliforme* aqueous leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Scientific Research and Essays* 6: 3232–3239.
- 395. Srikanta B, Siddaraju M, Dharmesh S. A. (2007).** novel phenol-bound pectic polysaccharide from *Decalepis hamiltonii* with multi-step ulcer preventive activity. *World J Gastroenterol*. 13(39) : 5196-5207
- 396. Bancroft J.D., et Layton C, (2013).** The Hematoxylin and Eosin. In Suvarna S.K. Layton., Bancroft J.D. (Eds). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*, Expert. pp 173-186.
- 397. Porcon B., Monod G. (2017)** Économiser de l'eau et ne plus polluer lors du rinçage des échantillons histologiques xés au liquide de Bouin en utilisant un automate de déshydratation. *Cahier des Techniques de l'INRA*, INRA, 90, pp.1-4.
- 398. Markman, B. E. O., Bacchi, E. M., & Kato, E. T. M. (2004).** Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(1), 55–57.

399. **Ziyyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassouli, A., Serhrouchni, M., Benjelloun, W., (1997).** Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of Ethnopharmacology* 58, 45-54.
400. **Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H., El-Hilaly, J., Eddouks, M., (2001).** Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez-Boulemane). *Journal of Ethnopharmacology* 77, 175–182.
401. **Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M.- L., Jouad, H.(2002).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal of Ethnopharmacology* 82, 97–103.
402. **Bouallama M., Bradai L., Abid M., (2014).** Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne. Cas de la région du Souf. *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes.* 7(2) : 16 – 24
403. **Orch H., Douira A., Zidane L. (2015).** Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète, et des maladies cardiaques dans la région d'Izarène (Nord du Maroc). *J. Appl. Biosci.* 86:7940– 7956
404. **Benlamdini N., Elhafian M., Rochdi A., Zidane L. (2014).** Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale du Haut Atlas oriental (Haute Moulouya). *J. Appl. Biosci.* 78 : 6771 – 6787.
405. **Langford, S. D., & Boor, P. J. (1996).** Oleander toxicity: an examination of human and animal toxic exposures. *Toxicology*, 109(1), 1–13.
406. **Al-Yahya, M. A., AL-Farhan, A. H., & Adam, S. E. I. (2000).** Preliminary toxicity study on the individual and combined effects of *Citrullus colocynthis* and *Nerium oleander* in rats. *Fitoterapia*, 71(4), 385–391.
407. **Zaoui, A., Cherrah, Y., Alaoui, K., Mahassine, N., Amarouch, H., & Hassar, M. (2002).** Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(1), 23–26.
408. **Ali, B. H. et Blunden, G. (2003).** Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research*, 17(4), 299–305.

- 409. Gonzalez-Tejero M.R., Casares-Porcel M., Sanchez-Rojas C.P., Ramiro-Gutierrez J.M., Molero-Mesa J., Pieroni A., Giusti M.E., Censorii E., De Pasquale C., Della A., Paraskeva-Hadjichambi D., Hadjichambis A., Houmani Z., El-Demerdash M., El-Zayat M., Hmamouchi M. and Eljohrig S., (2008).** Medicinal plants in the Mediterranean area: synthesis of the results of the project Rubia. *J. Ethnopharmacol.*, 116 (2), pp341-357.
- 410. Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S-M, Ghorbani A. (2005).** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 63-79.
- 411. Mehdioui R. et Kahouadji A: (2007).** Étude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d’Amsittène: cas de la Commune d’Imi n’Tlit (Province d’Essaouira). *Bulletin de l’Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie* n°29: 11-20.
- 412. Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z.H., Lyoussi, B., (2007).** Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology* 110, 105–117.
- 413. Lahsissene, H., Kahouadji, A. (2010).** Analyse ethnobotanique des plantes médicinales et aromatiques de la flore marocaine: cas de la région de Zaër. *Phytothérapie*, 8(4), 202–209.
- 414. Salhi S., Fadli M., Zidane L., Douira A., (2010).** Études floristique et ethnobotaniques des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 31 : 133-146.
- 415. Meddour, R., Meddour-Shar, O. (2015).** Medicinal plants and their traditional uses in Kabylia. *Arabian Journal of Medicinal & Aromatic Plants*. 137-151.
- 416. Ould El Hadj M.D., Hadj-Mahammed M. Et Zabeirou H., (2003).** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). *Courrier du Savoir* N°03, Université Mohamed Khider – Biskra, Algérie, pp 47-51
- 417. Goyal V. (2005).** Plant Water Relationship and Strategies to Improve Salt Tolerance. In Bose B. and Hemantaranjan A. (eds). *Developments in Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Vol 1. pp. 81-104.
- 418. Lambers H., Chapin III F.S., Pons T.L. (2008).** *Plant Physiological Ecology*. Springer. p3.

419. **Kramer, P.J., Boyer, J.S. (1995).** Function and Properties of Water. Water Relations of Plants and Soils. Academic Press. pp16-21.
420. **Huber-Sannwald E., Wieser J. (2003).** Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups. Springer. pp185-186
421. **Momin R.K. et Kadam V.B. (2011).** Determination of ash values of some medicinal plants of genus sesbania of marathwada region in maharashtra. Journal of Phytology. 3(12): 52-54
422. **Pachkore G.L. et Dhale D.A. (2011).** Pharmacognostic Evaluation of *Hyptis Suaveolens* (L.Poit) Lamiaceae. *Journal of Ecobiotechnology*. 3(3): 05-10.
423. **Begum A., Sindhu K., Giri K., Umera F., Gauthami G., Kumar Vinod J., Naveen N. Rao N.N., Shaffath Ali S., Sri K., Dutt R. (2017).** Pharmacognostical and Physio-Chemical Evaluation of Indian *Asparagus officinalis* Linn Family Lamiaceae. IJPPR, 9(3) : 327-336.
424. **Vermani A., Navneet., Prabhat., Chauhan A. (2010).** Physico-Chemical Analysis of Ash of Some Medicinal Plants Growing in Uttarakhand, India. Nature and science. 8(6) : 88-91.
425. **Nduche M.U., Edeoga H.O., Omosun H.O., Nwankwo D. (2015).** Evaluation of the Chemical Composition of Five Nigerian Medicinal Plants. Journal of Pharmacy and Biological Science. 10(2) : 27-31.
426. **Resh H.M. (2016).** Plant nutrition. Hydroponic Food Production: A Definitive Guidebook for the Advanced Home Gardener and the Commercial Hydroponic Grower. 7th Ed. CRC Press. 9-12.
427. **Thomas R. et Krishnakumari S. (2015).** Proximate analysis and mineral composition of *Myristica fragrans* seeds. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 3(6) : 39-42.
428. **OMS, (1996).** World Health Organization Technical series: Trace elements in Human Nutrition and Health. World Health Organization, Geneva. pp 199 - 205.
429. **Anke M, Groppe B, Kronemann H, Bratter P, Schramel P (Eds.). (1984)** Significance of newer essential trace elements (like Si, Ni, As, Li, V,) for the nutrition of man and animals: Trace elem anal chem med Biol., Berlin, 3, 421.
430. **Sanchez-Castillo, C. P., Dewey, P. J. S., Aguirre, A., Lara, J. J., Vaca, R., Leon de la Barra, P., ... James, W. P. T. (1998).** The Mineral Content of Mexican Fruits and Vegetables. Journal of Food Composition and Analysis, 11(4), 340–356.

431. **Hariri A. et Ouis N. (2016)**, Phytochemical Studies and Antioxidant Activities of *Adiantum Capilus-Veneris*, *Lavandula Stoechas* And *Ajuga Iva*. *World Journal of Pharmaceutical Reseach*. 5(3) : 79-103.
432. **Chouitah, O., Meddah, B., Aoues, A., & Sonnet, P. (2017)**. Essential Oil from the Leaves of *Ajuga iva*: Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(3), 873–877.
433. **Baser, K. H. C., Kurkcuoglu, M., & Erdemgil, F. Z. (2001)**. Chemistry of Natural Compounds, 37(3), 242–244.
434. **Vohra A. et Kaur H. (2011)**. Chemical investigation of medicinal plant *Ajuga bracteosa*. *J. Nat. Prod. Plant Resour.* 1 (1): 37-45
435. **Ardekani M.R.S., Khanavi M., Taheri P., Samadi N., Safaripour E., Salimpour F. (2010)**. The Essential Oil Composition of *Ajuga chamaecistus* Ging. subsp. *Tomentella* Rech. f. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 13(1), 45–51.
436. **Mitić, V. D., Stankov-Jovanović, V. P., Jovanović, O. P., Palić, I. R., Djordjević, A. S., & Stojanović, G. S. (2011)**. Composition and Antioxidant Activity of Hydrodistilled Essential Oil of Serbian *Ajuga chamaepitys* (L.) Schreber ssp. *chia* (Schreber) Arcangeli. *Journal of Essential Oil Research*, 23(6), 70–74.
437. **Küçükbay F.Z., Kuyumcu E., Yildiz B. (2013)**. Essential Oil Composition from the Aerial Parts of *Ajuga orientalis* L. Growing in Turkey. *Asian Journal of Chemistry*. 25(16), 9126-9128.
438. **Movahhedin, N., Zengin, G., Bahadori, M. B., Sarikurkcu, C., Bahadori, S., & Dinparast, L. (2016)**. *Ajuga chamaecistus* subsp. *scoparia* (Boiss.) Rech.f.: A new source of phytochemicals for antidiabetic, skin-care, and neuroprotective uses. *Industrial Crops and Products*, 94, 89–96.
439. **Karami, A. (2016)**. Essential oil composition of *Ajuga comata* Stapf. from Southern Zagros, Iran. *Natural Product Research*, 31(3), 359–361.
440. **Mazloomifar, H., Saber-Tehrani, M., Rustaiyan, A., Masoudi, S. (2003)**. Chemical composition of the essential oil of *Ajuga chamaecistus* Ging. ssp. *chamaecistus* from Iran. *J Essent Oil Res.* 15:17–18.
441. **Velasco-Negueruela Arturo, Pérez-Alonso Ma José, Palá-Paül Jesús, Iñigo A, Sanz J. (2004)**. Volatile constituents of the essential oil of *Ajuga chamaepitys* (L.) Schreber. ssp. *chamaepitys* from Spain. *J Essent Oil Res.* 16:372–373.
442. **Sajjadi SE, Ghannadi A. (2004)**. Volatile oil composition of the aerial parts of *Ajuga orientalis* L. from Iran. *Z Naturforsch.* 59:166–168.

- 443. Javidnia K, Miri R, Soltani M, Khosravi AR. (2010).** Chemical constituents of the essential oil of *Ajuga austro-iranica* Rech. f. (Lamiaceae) from Iran. J Essent Oil Res. 22:392–394.
- 444. Singh P, Prakash OM, Pant AK. (2015).** Essential oil composition of *Ajuga parviflora* Benth. Growing in Western Himalayan region of Uttarakhand (India). J Essent Oil Bear Plants. 18:679–701.
- 445. Mothana R.A., M.S. Alsaied, Hasoon S.S., Al-Mosa'iy N.M., Al-Rehaily, A.J., Al-Yahya M. A. (2012).** “Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga bracteosa* Wall. ex Benth. and *Lavandula dentata* L. growing wild in Yemen,” *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 6, no. 15, pp. 3066–3071,.
- 446. Burbott A. et Loomis P. (1987).** Development, oil storage of dehiscence and peltate trichomes in *Thymus vulgaris*. Nord J. Bot, Vol.3; pp 245-504.
- 447. El-Keltawi, N. E., & Croteau, R. (1986.a).** Influence of ethephon and daminozide on growth and essential oil content of peppermint and sage. *Phytochemistry*, 25(6), 1285–1288.
- 448. El-Keltawi, N.E., Croteau, R. (1986.b).** Influence of phosphon D and cycocel on growth and essential oil content of peppermint. *Phytochem*, « b», Vol. 25, pp 1603-1606.
- 449. Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017).** Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1193–S1199.
- 450. Sulaiman C.T., Shahida V., Balachandran I. (2015).** Effect of Extraction Solvent on the Phytoconstituents of *Aegle marmelos* (L.) Correa. *Journal of Natural Remedies*. 15 (1). 58-64.
- 451. Majhenič L., Kerget M.S., Knez Z. ; (2007).** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, **104**, 1258–1268.
- 452. Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009).** Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*, 14(6), 2167–2180.

453. **Stankovic, M. S., Niciforovic, N., Topuzovic, M., & Solujic, S. (2011).** Total Phenolic Content, Flavonoid Concentrations and Antioxidant Activity, of The Whole Plant and Plant Parts Extracts from *Teucrium Montanum* L. *Var. Montanum*, *F. Supinum* (L.) Reichenb. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 25(1), 2222–2227.
454. **Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y.-H. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302.
455. **Bystrická, J., Vollmannová, A., Margitanová, E., & Čičová, I. (2010).** Dynamics of polyphenolics formation in different plant parts and different growth phases of selected buckwheat cultivars. *Acta Agriculturae Slovenica*, 95(3).
456. **Albayrak, S., Aksoy, A., Albayrak, S., Sagdic, O. (2013)** In vitro antioxidant and antimicrobial activity of some Lamiaceae species, *Iranian Journal of Science and Technology*, A1, 1-9.
457. **Stankovic, M. S. (2011).** Total Phenolic Content, Flavonoid Concentrations and Antioxidant Activity of *Marrubium peregrinum* L. Extracts. *Kragujevac J. Sci.* 33. 63-72.
458. **Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
459. **Gao, M., et Liu, C.-Z. (2005).** Comparison of Techniques for the Extraction of Flavonoids from Cultured Cells of *Saussurea medusa* Maxim. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(8-9), 1461–1463.
460. **Sytar, O., Hemmerich, I., Zivcak, M., Rauh, C., & Brestic, M. (2018).** Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(4), 631–641.
461. **Dhull, S. B., Kaur, P., & Purewal, S. S. (2016).** Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts. *Resource-Efficient Technologies*, 2(4), 168–174.
462. **Obiero D.K. (2017).** Comparative analysis of total tannins in *Plectranthus barbatus* Andrews water, acetone and methanolic extracts in Kenya. *The Journal of Phytopharmacology*, 6(5):293-296

- 463. Mach, J. (2015).** Phytol from Degradation of Chlorophyll Feeds Biosynthesis of Tocopherols. *The Plant Cell*, tpc.15.00860.
- 464. Kouri, G., Tsimogiannis, D., Bardouki, H., & Oreopoulou, V. (2007).** Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(2), 155–162.
- 465. Motawe, M.H., Ibrahim, F.M., Ibrahim, M.E. Mahmoud, E.A., Aly, H.F. (2015).** Isolation and Identification of Terpenoids and Sterols of *Nepeta cataria* L. *Int.J. PharmTech Res.*,8(10), pp 10-17.
- 466. Chiller, K., Selkin, B. A., & Murakawa, G. J. (2001).** Skin Microflora and Bacterial Infections of the Skin. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 6(3), 170–174.
- 467. Al-Abdalall A.H.A. (2010).** Isolation and identification of microbes associated with mobile phones in Dammam in Eastern Saudi Arabia. *J Family Community Med.* 17:11-4.
- 468. Dixon, R.; Dey, P.; Lamb, C. (1983).** Phytoalexins: Enzymology and molecular biology. *Advances in Enzymology* 55, 1–69.
- 469. Penna, C., Marino, S., Vivot, E., Cruaños, M. ., de D. Muñoz, J., Cruaños, J., ... Martino, V. (2001).** Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 77(1), 37–40.
- 470. Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., Kilburn, J. D., & Rakariyatham, N. (2007).** Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. *Food Chemistry*, 100(3), 1044–1048.
- 471. Suomi, J., Sirén, H., Hartonen, K., & Riekkola, M.-L. (2000).** Extraction of iridoid glycosides and their determination by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Journal of Chromatography A*, 868(1), 73–83.
- 472. Yu, J., Lei, J., Yu, H., Cai, X., & Zou, G. (2004).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Scutellaria barbata*. *Phytochemistry*, 65(7), 881–884.
- 473. Kabouche, Z., Boutaghane, N., Laggoune, S., Kabouche, A., Aitkaki, Z., & Benlabed, K. (2005).** Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *International Journal of Aromatherapy*, 15(3), 129–133.

- 474. Du, E., Gan, L., Li, Z., Wang, W., Liu, D., & Guo, Y. (2015).** In vitro antibacterial activity of thymol and carvacrol and their effects on broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 6(1).
- 475. Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., ... Nabavi, S. M. (2016).** Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chemistry*, 210, 402–414.
- 476. Kubo, I., Fujita, K., & Nihei, K. (2007).** Antimicrobial activity of anethole and related compounds from aniseed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(2), 242–247.
- 477. Mohammed, M.J. (2009).** Isolation and identification of anethole from *Pimpinella anisum* L. fruit oil. An antimicrobial study. *Journal of Pharmacy Research*, 2(5),915-919.
- 478. Esfandyari-Manesh, M., Ghaedi, Z., Asemi, M., Khanavi, M., Manayi, A., Jamalifar, H., ... Dinarvand, R. (2013).** Study of antimicrobial activity of anethole and carvone loaded PLGA nanoparticles. *Journal of Pharmacy Research*, 7(4), 290–295.
- 479. Pattnaik, S., Subramanyam, V.R., Bapaji, M., Kole, C.R., (1997).** Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios* 89, 39–46.
- 480. Lattaoui, N., et Tantaoui-Elaraki, A. (1994).** Individual and combined oils. *Rivista Italiana. EPPOS* 13, 13–19.
- 481. Marino, M., Bersani, C., & Comi, G. (2001).** Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *International Journal of Food Microbiology*, 67(3), 187–195.
- 482. Yumrutas O. et Saygideger S. D. (2012).** Determination of antioxidant and antimutagenic activities of *Phlomis armeniaca* and *Mentha pulegium*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 02(01): 36-40.
- 483. Osman, I.H. (2017).** Antioxidant properties of *Mentha pulegium* and histopathological evaluation of its ameliorating effect on experimental acute hepatic injury. *Histol Cytol Embryol.* 1 : 1-5.
- 484. Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997).** Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152–159.
- 485. Erol, N. T., Sari, F. & Velioglu, Y. S. (2010).** Polyphenols, alkaloids and antioxidant activity of different grades turkish black tea. *GIDA* 35 (3), 161-168.

486. **Baghiani, A., Boumerfeg, S., Adjadj, M., Ameni, D., Djermouni, M., Khelifi-Touhami, F., ... Arrar, L. (2011).** Antioxidants, Free Radicals Scavenging and Xanthine Oxidase Inhibitory Potentials of *Ajuga iva* L. Extracts. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(4), 21–30.
487. **Saadaoui B., Bekir J., Akrouit J., Ammar S., Mahjoub A., Mars M. ; (2006).** Etude de la composition et du pouvoir antioxydant des composés phénoliques de quelques espèces végétales de l'aride tunisien. *Revue des régions arides*, 1, 87-92.
488. **Khaled-Khodja, N., Boulekbache-Makhlouf, L., & Madani, K. (2014).** Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial Crops and Products*, 61, 41–48.
489. **Halliwell, B., Gutteridge, JM. (1989):** *Free Radicals in Biology and Medicine*, 2nd ed. Oxford, Clarendon Press.
490. **Hall, CA., Cuppett, SL. (1997).** Structure-activities of natural antioxidants. In: *Aruoma OI, Cuppett SL, eds., Anti-oxidant Methodology: In vivo and in vitro Concepts*. Champaign, IL, AOCS Press, pp. 141–172.
491. **Sönmez E, Köse YB. (2017).** The total phenolic contents and antioxidant activities of endemic species *Ajuga postii* Briq. and *Ajuga relictata* P.H.Davis (Lamiaceae) from Turkey. *Indian J of Pharmaceutical Education and Research*.;51(4):700-5.
492. **Turkoglu S., Turkoglu I., Kahyaoglu M., Celik S. (2010).** Determination of antimicrobial and antioxidant activities of Turkish endemic *Ajuga chamaepitys* (L.) Schreber subsp. *euphratica* P.H. Davis (Lamiaceae). *J Med Plants Res*.4:1260-8.
493. **Hsieh, C.-W., Ko, W.-C., Ho, W.-J., Chang, C.-K., Chen, G.-J., & Tsai, J.-C. (2016).** Antioxidant and hepatoprotective effects of *Ajuga nipponensis* extract by ultrasonic-assisted extraction. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(5), 420–425.
494. **Ben Mansour, M., Balti, R., Rabaoui, L., Bougatef, A., & Guerfel, M. (2013).** Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from south Tunisian *Ajuga pseudoiva* Rob. Lamiaceae. *Process Biochemistry*, 48(4), 723–729.

495. **Derwich E., Chabir R., Taouil R., Senhaji O. (2011).** In-vitro Antioxidant Activity and GC/MS Studies on the Leaves of *Mentha piperita* (Lamiaceae) from Morocco. *Int. J. Pharma. Sci. Drug Res.* 3(2), 130-136.
496. **Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
497. **Barra A., Coroneo V., Dessi S., Cabras P., Angioni A. (2010).** Chemical variability, antifungal and antioxidant activity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oil from Sardinia. *Nat. Prod. Commun.* 5, 329-335.
498. **Kamatou, G. P. P., & Viljoen, A. M. (2009).** A Review of the Application and Pharmacological Properties of α -Bisabolol and α -Bisabolol-Rich Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(1), 1–7.
499. **Mohandas GG, Kumaraswamy M. Antioxidant Activities of Terpenoids from *Thuidium tamariscellum* (C. Muell.) Bosch. and Sande-Lac. a Moss. (2018).** *Pharmacog J.* 10(4) : 645- 9.
500. **Frank, J., Budek, A., Lundh, T., Parker, R. S., Swanson, J. E., Lourenço, C. F., ... Kamal-Eldin, A. (2006).** Dietary flavonoids with a catechol structure increase α -tocopherol in rats and protect the vitamin from oxidation in vitro. *Journal of Lipid Research*, 47(12), 2718–2725.
501. **Ishii, T., Ishikawa, M., Miyoshi, N., Yasunaga, M., Akagawa, M., Uchida, K., & Nakamura, Y. (2009).** Catechol Type Polyphenol Is a Potential Modifier of Protein Sulfhydryls: Development and Application of a New Probe for Understanding the Dietary Polyphenol Actions. *Chemical Research in Toxicology*, 22(10), 1689–1698.
502. **Valant-Vetschera, K. M., Roitman, J. N., & Wollenweber, E. (2003).** Chemodiversity of exudate flavonoids in some members of the Lamiaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(11), 1279–1289.
503. **Carvalho, R. N. Jr., Moura, L. S., Rosa, P. T. V., Meireles, M. A. A. (2005) .** Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. *J. Supercrit. Fluids.* 35: 197-204.
504. **Özgen, U., Mavi, A., Terzi, Z., Yıldırım, A., Coşkun, M., & Houghton, P. J. (2006).** Antioxidant Properties of Some Medicinal Lamiaceae (Labiatae) Species. *Pharmaceutical Biology*, 44(2), 107–112.

- 505. Özgen U, Mavi A, Terzi Z, Coskun M, Yildirim A (2004):** Antioxidant properties of some Asteraceae (Compositae) species. *Turkish J Pharm Sci* 1: 203–216.
- 506. Kayani, W. K., Dilshad, E., Ahmed, T., Ismail, H., & Mirza, B. (2016).** Evaluation of *Ajuga bracteosa* for antioxidant, anti-inflammatory, analgesic, antidepressant and anticoagulant activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1).
- 507. Fleurentin J. (1991).** *Ethnopharmacologie : sources, méthodes, objectifs : actes du 1er Colloque européen d'ethnopharmacologie*, Metz, Centre Internationale des Congrès. IRD Editions. 493p
- 508. Schuppan D., Dayan A. D., Charlesworth F.A. (1986).** *The Contribution of Acute Toxicity Testing to the Evaluation of Pharmaceuticals*. Springer. p23.
- 509. Raza M, Al-Shabanah OA, El-Hadiyah TM, Al-Majed AA. (2002).** Effect of prolonged vigabatrin treatment on haematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. *Sci Pharm*. 70 : 135–145.
- 510. Teo, S., Stirling, D., Thomas, S., Hoberman, A., Kiorpes, A., & Khetani, V. (2002).** A 90-day oral gavage toxicity study of d-methylphenidate and d,l-methylphenidate in Sprague–Dawley rats. *Toxicology*, 179(3), 183–196.
- 511. SGH. (2013).** *Système Général Harmonisé De Classification Et D'étiquetage Des Produits Chimiques*. 5^e Ed. NATIONS UNIES. New York et Genève. pp. 121-122.
- 512. Zbinden, G. (1963).** *Experimental and Clinical Aspects of Drug Toxicity*. *Advances in Pharmacology*. 2: 1–112.
- 513. Maleki, N., Garjani, A., Nazemiyeh, H., Nilfouroushan, N., Eftekhar Sadat, A. T., Allameh, Z., & Hasannia, N. (2001).** Potent anti-inflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* on rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), 213–218.
- 514. Hämäläinen, M., Nieminen, R., Vuorela, P., Heinonen, M., & Moilanen, E. (2007).** Anti-Inflammatory Effects of Flavonoids: Genistein, Kaempferol, Quercetin, and Daidzein Inhibit STAT-1 and NF-κB Activations, Whereas Flavone, Isorhamnetin, Naringenin, and Pelargonidin Inhibit only NF-κB Activation along with Their Inhibitory Effect on iNOS Expression and NO Production in Activated Macrophages. *Mediators of Inflammation*, 1–10.
- 515. Rathee, P., Chaudhary, H., Rathee, S., Rathee, D., Kumar, V., & Kohli, K. (2009).** Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-inflammatory Agents: A Review. *Inflammation & Allergy - Drug Targets*, 8(3), 229–235.

516. **Serafini, M., Peluso, I., & Raguzzini, A. (2010).** Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proceedings of the Nutrition Society*, 69(03), 273–278.
517. **Mohammed M.S., Osman W.J.A., Garelnabi E.A.E., Osman Z, Osman B, Khalid H.S., A. Mohamed M.A. (2014).** *The Journal of Phytopharmacology*; 3(4): 275-285.
518. **Wilhelm, D.L., Mason, B. (1960).** Vascular permeability changes in inflammation: the role of endogeneous permeability factors in mild thermal injury. *British Journal of Experimental Pathology* 41 (5), 487–506.
519. **Di Rosa, M., Papadimitriou, J. M., & Willoughby, D. A. (1971).** A histopathological and pharmacological analysis of the mode of action of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *The Journal of Pathology*, 105(4), 239–256.
520. **Goetzi, E. J. (1980).** Mediators of Immediate Hypersensitivity Derived from Arachidonic Acid. *New England Journal of Medicine*, 303(14), 822–825.
521. **El-Hela, A.A., Nevein M.A.H, Gouda T.M.D., Ghoneim M.M. (2016).** HPTLC Fingerprint Profile of Triterpenes of *Lamium amplexicaule Benth.* and *Ajuga iva L.* (Lamiaceae) Monitored with Screening of their Anti-inflammatory Effect., *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*.5(6): 176-181.
522. **Gautam, R., Jachak, S. M., & Saklani, A. (2011).** Anti-inflammatory effect of *Ajuga bracteosa* Wall Ex Benth. mediated through cyclooxygenase (COX) inhibition. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 928–930.
523. **Kaithwas, G., Gautam, R., Jachak, S. M., & Saklani, A. (2012).** Antiarthritic effects of *Ajuga bracteosa* Wall ex Benth. in acute and chronic models of arthritis in albino rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), 185–188.
524. **Singh, R., Patil, S. M., Pal, G., & Ahmad, M. (2012).** Evaluation of in vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Ajuga bracteosa* Wall ex Benth. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2, S404–S407.
525. **Toiu, A., Mocan, A., Vlase, L., Pârvu, A. E., Vodnar, D. C., Gheldiu, A.-M., ... Oniga, I. (2018).** Phytochemical Composition, Antioxidant, Antimicrobial and in Vivo Anti-inflammatory Activity of Traditionally Used Romanian *Ajuga laxmannii* (Murray) Benth. (“Nobleman’s Beard” – Barba Împăratului). *Frontiers in Pharmacology*, 9.

- 526. Biswas, N. N., Saha, S., & Ali, M. K. (2014).** Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and analgesic activities of ethanolic extract of *Mentha arvensis* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(10), 792–797. In Ranolds JE, Prasad AB. *Martindale: the extra pharmacopoeia*. 28th ed. London: The Pharmaceutical Press; 1982, p. 245.
- 527. Ali N, Sultana U, Shah SWA, Nabi M, Shakirullah, Shah I, et al. (2016).** Acute toxicity and analgesic activity of crude flavonoids of *Achillea Wilhelmsii* and *Teucrium Stocksianum*. *Khyber Med Univ J*; 8(1): 7-11. In **Duarte ID, Nakamura M, Ferreira SH. (1988).** Participation of the sympathetic system in acetic acid-induced writhing in mice. *Braz J Med Biol Res.*;21(2):341-3.
- 528. Franzotti, E., Santos, C. V. ., Rodrigues, H. M. S. ., Mourão, R. H. ., Andrade, M. ., & Antonioli, A. . (2000).** Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (*Malva-branca*). *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1-2), 273–277.
- 529. Mbiantcha, M., Kamanyi, A., Teponno, R. B., Tapondjou, A. L., Watcho, P., & Nguelefack, T. B. (2011).** Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Extracts from the Bulbils of *Dioscorea bulbifera* L. *varsativa* (Dioscoreaceae) in Mice and Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 1–9.
- 530. Küpeli, E., & Yesilada, E. (2007).** Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. *Journal of Ethnopharmacology*, 112(3), 524–530.
- 531. Parveen, Z., Deng, Y., Saeed, M. K., Dai, R., Ahamad, W., & Yu, Y. H. (2007).** Antiinflammatory and Analgesic Activities of *Thesium chinense* Turcz Extracts and its Major Flavonoids, Kaempferol and Kaempferol-3-O-glucoside. *YAKUGAKU ZASSHI*, 127(8), 1275–1279.
- 532. Erdemoglu, N., Akkol, E. K., Yesilada, E., & Calış, I. (2008).** Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory and antinociceptive principles from a folk remedy, *Rhododendron ponticum* L. leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1), 172–178.
- 533. Ghogare, U. R., Nirmal, S. A., Patil, R. Y., & Kharya, M. D. (2009).** Antinociceptive activity of *Gynandropsis gynandra* leaves. *Natural Product Research*, 23(4), 327–333.

- 534. Karimi, G., Tabrizian, K., & Rezaee, R. (2010).** Evaluation of the Analgesic Effect of Dextromethorphan and its Interaction With Nitric Oxide on Sciatic Nerve Ligated Rats. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 3(1), 38–42.
- 535. Sannigrahi S, Mazumder UK, Pal D, Mishra ML, Maity S. (2011).** Flavonoids of *Enhydra Fluctuans* exhibits analgesic and anti-inflammatory activity in different animal models. *Pak J Pharm Sci.* 24(3) : 369-75.
- 536. Khanavi, M., Davoodipoor, A., Sadati, S., Ardekani, M., & Sharifzadeh, M. (2014).** Antinociceptive effect of some extracts from *Ajuga chamaecistus* Ging. ssp. *tomentella* (Boiss.) Rech. f. aerial parts. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(1), 56.
- 537. Pal A. and Pawar R.S. (2011).** A Study on *Ajuga bracteosa* wall ex. Benth for analgesic activity. *Int J Cur Bio Med Sci*; 1(2): 12-14.
- 538. Khatri, R.S., Ahmad, M., Pal, G., Ashwlayan, V.D. (2013).** Evaluation of antinociceptive activity of *Ajuga bracteosa* wall ex benth. *Int J Green Pharm*; 7:73-6.
- 539. Miri, A., Sharifi-Rad, J., Tabrizian, K., & Nasiri, A. A. (2015).** Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of *Teucrium persicum* Boiss. Extract in Mice. *Scientifica*, 2015, 1–8.
- 540. Peana, A. T., Marzocco, S., Popolo, A., & Pinto, A. (2006).** (-)-Linalool inhibits in vitro NO formation: Probable involvement in the antinociceptive activity of this monoterpene compound. *Life Sciences*, 78(7), 719–723.
- 541. Chavan, M. J., Wakte, P. S., & Shinde, D. B. (2010).** Analgesic and anti-inflammatory activity of Caryophyllene oxide from *Annona squamosa* L. bark. *Phytomedicine*, 17(2), 149–151.
- 542. Santos, C. C. de M. P., Salvadori, M. S., Mota, V. G., Costa, L. M., de Almeida, A. A. C., de Oliveira, G. A. L., ... de Almeida, R. N. (2013).** Antinociceptive and Antioxidant Activities of Phytol In Vivo and In Vitro Models. *Neuroscience Journal*, 2013, 1–9.
- 543. Ou, M.-C., Hsu, T.-F., Lai, A. C., Lin, Y.-T., & Lin, C.-C. (2012).** Pain relief assessment by aromatic essential oil massage on outpatients with primary dysmenorrhea: A randomized, double-blind clinical trial. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 38(5), 817–822.
- 544. Kluger, M. J. (1991).** Fever: Role of Pyrogens and Cryogens. *Physiological Reviews*, 71(1), 93–127.

- 545. Ryan, M., & Levy, M. M. (2003).** *Critical Care*, 7(3), 221.
- 546. Ghannadi, A., Hajhashemi, V., & Jafarabadi, H. (2005).** An Investigation of the Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of *Nigella sativa* Seed Polyphenols. *Journal of Medicinal Food*, 8(4), 488–493.
- 547. Ridtitid, W., Ruangsang, P., Reanmongkol, W. and Wongnawa, M. (2007).** Studies of the anti-inflammatory and antipyretic activities of the methanolic extract of *Piper sarmentosum* Roxb. leaves in rats. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 29(6) : 1519-1526
- 548. Mackowiak, P. A. (2000).** Physiological Rationale for Suppression of Fever. *Clinical Infectious Diseases*, 31(Supplement_5), S185–S189.
- 549. Elhabazi, K., Aboufatima, R., Zyad, A., Touhami, M., Mouse, H.A., Benharref, A., & Chait, A. (2013).** Study on the antipyretic activity of thyme (*Thymus broussonetii*) in experimental rats. *Moroccan J. Biol.* 8-9 : 23-28
- 550. Mukherjee, K., Saha, B. P., & Mukherjee, P. K. (2002).** Evaluation of antipyretic potential of *Leucas lavandulaefolia* (Labiatae) aerial part extract. *Phytotherapy Research*, 16(7), 686–688.
- 551. Makonnen, E., Debella, A., Zerihun, L., Abebe, D., & Teka, F. (2003.b).** Antipyretic properties of the aqueous and ethanol extracts of the leaves of *Ocimum suave* and *Ocimum lamiifolium* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1), 85–91.
- 552. Awaad, A. S., El-meligy, R. M., Qenawy, S. A., Atta, A. H., & Soliman, G. A. (2011).** Anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of some desert plants. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15(4), 367–373.
- 553. Soares, R., Azevedo, I., Sawatzky, D. A., & Rossi, A. G. (2006).** Apigenin: Is It a Pro- or Anti-Inflammatory Agent? *The American Journal of Pathology*, 168(5), 1762–1763.
- 554. Lee, J.-H., Zhou, H. Y., Cho, S. Y., Kim, Y. S., Lee, Y. S., & Jeong, C. S. (2007).** Anti-inflammatory mechanisms of apigenin: inhibition of cyclooxygenase-2 expression, adhesion of monocytes to human umbilical vein endothelial cells, and expression of cellular adhesion molecules. *Archives of Pharmacal Research*, 30(10), 1318–1327.

555. Doseff, A. I., Arango, D., Cardenas, H., Nicholas, C., Nuovo, G., & Grotewold, E. (2011). Apigenin A Potent Anti-Inflammatory Flavonoid: Its Efficacy In Lung Inflammation And Target Identification Provides Novel Potential Alternative Therapeutic Approaches. C39. NOVEL THERAPEUTIC OPTIONS IN AIRWAYS DISEASE.
556. Nishitani, Y., Yamamoto, K., Yoshida, M., Azuma, T., Kanazawa, K., Hashimoto, T., & Mizuno, M. (2013). Intestinal anti-inflammatory activity of luteolin: Role of the aglycone in NF- κ B inactivation in macrophages co-cultured with intestinal epithelial cells. *BioFactors*, 39(5), 522–533.
557. Chen, D., Bi, A., Dong, X., Jiang, Y., Rui, B., Liu, J., ... Luo, L. (2014). Luteolin exhibits anti-inflammatory effects by blocking the activity of heat shock protein 90 in macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 443(1), 326–332.
558. Balez, R., Steiner, N., Engel, M., Muñoz, S. S., Lum, J. S., Wu, Y., ... Ooi, L. (2016). Neuroprotective effects of apigenin against inflammation, neuronal excitability and apoptosis in an induced pluripotent stem cell model of Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, 6(1).
559. Xia, N., Chen, G., Liu, M., Ye, X., Pan, Y., Ge, J., ... Xie, S. (2016). Anti-inflammatory effects of luteolin on experimental autoimmune thyroiditis in mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(6), 4049–4054.
560. Aziz, N., Kim, M.-Y., & Cho, J. Y. (2018). Anti-inflammatory effects of luteolin: A review of in vitro, in vivo, and in silico studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 225, 342–358.
561. Hollander, D., Tarnawski, A., Krause, W. J., & Gergely, H. (1985). Protective Effect of Sucralfate Against Alcohol-Induced Gastric Mucosal Injury in the Rat. *Gastroenterology*, 88(1), 366–374.
562. Miller, T. A. (1987). Mechanisms of stress-related mucosal damage. *The American Journal of Medicine*, 83(6), 8–14.
563. Henry, D. A., & Langman, M. J. S. (1981). Adverse Effects of Anti-ulcer Drugs. *Drugs*, 21(6), 444–459.
564. Sannomiya, M., Fonseca, V. B., da Silva, M. A., Rocha, L. R. M., dos Santos, L. C., Hiruma-Lima, C. A., ... Vilegas, W. (2005). Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(1), 1–6.

565. **Zayachkivska OS (2005)**, Konturek SJ, Drozdowicz D, Konturek PC, Brzozowski T, Ghegotsky MR. Gastroprotective effects of flavonoids in plant extracts. *J Physiol Pharmacol*; **56** Suppl 1: 219-231
566. **Reyes-Chilpa, R., Baggio, C. H., Alavez-Solano, D., Estrada-Muñiz, E., Kauffman, F. C., Sanchez, R. I., & Mesia-Vela, S. (2006)**. Inhibition of gastric H⁺,K⁺-ATPase activity by flavonoids, coumarins and xanthenes isolated from Mexican medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 105(1-2), 167–172.
567. **Awaad, A. S., Al-Jaber, N. A., Moses, J. E., El-Meligy, R. M., & Zain, M. E. (2012)**. Antiulcerogenic Activities of the Extracts and Isolated Flavonoids of *Euphorbia cuneata* Vahl. *Phytotherapy Research*, 27(1), 126–130.
568. **De Jesus, N. Z. T., Falcão, H. de S., Gomes, I. F., Leite, T. J. de A., Lima, G. R. de M., Barbosa-Filho, J. M., ... Batista, L. M. (2012)**. Tannins, Peptic Ulcers and Related Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(3), 3203–3228.
569. **Ye, Y., So, H., Liu, E. S., Shin, V., Cho, C. (2003)**. Effect of polysaccharides from *Angelica sinensis* on gastric ulcer healing. *Life Sciences*, 72(8), 925–932.
570. **Gao, Y., Tang, W., Gao, H., Chan, E., Lan, J., Zhou, S. (2004)**. *Ganoderma lucidum* Polysaccharide Fractions Accelerate Healing of Acetic Acid-Induced Ulcers in Rats. *Journal of Medicinal Food*, 7(4), 417–421.
571. **Izzo, A.A., Carlo, G.D., Mascolo, N., Capasso, F., Autore, G. (1994)**. Antiulcer effect of flavonoids. Role of endogenous PAF. *Phytotherapy Research*, 8(3), 179–181.
572. **De la Lastra, A., Martin, M. J., & Motilva, V. (1994)**. Antiulcer and Gastroprotective Effects of Quercetin: A Gross and Histologic Study. *Pharmacology*, 48(1), 56–62.
573. **Martín, M. J., La -Casa, C., Alarcón-de-la-Lastra, C., Cabeza, J., Villegas, I., Motilva, V. (1998)**. Anti-Oxidant Mechanisms Involved in Gastroprotective Effects of Quercetin. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 53(1-2), 82–88.
574. **Kahraman, A., Erkasap, N., Köken, T., Serteser, M., Aktepe, F., & Erkasap, S. (2003)**. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. *Toxicology*, 183(1-3), 133–142.
575. **Barnaulov, O. D., Manicheva, O. A., Zapesochnaya, G. G., Shelyuto, V. L., & Glyzin, V. I. (1982)**. Effects of certain flavonoids on the ulcerogenic action of reserpine in mice. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 16(3), 199–202.

576. Rainova, L., Nakov, N., Bogdanova, S., Minkov, E., & Staneva-Stoytcheva, D. (1988). Ulceroprotective activity of the flavonoids of *Genista rumelica* Vel. *Phytotherapy Research*, 2(3), 137–139.
577. Motilva, V., Alarc de la Lastra, C. Ó., Mart Calero, M. J. Í., & Torreblanca, J. (1992). Effects of naringenin and quercetin on experimental chronic gastric ulcer in rat. Studies on the histological findings. *Phytotherapy Research*, 6(3), 168–170.
578. Martin, M. J., Motilva, V., & ÓN de la Lastra, C. A. (1993). Quercetin and naringenin; effects on ulcer formation and gastric secretion in rats. *Phytotherapy Research*, 7(2), 150–153.
579. Martin, M. J., Marhuenda, E., Perez-Guerrero, C., & Franco, J. M. (1994). Antiulcer Effect of Naringin on Gastric Lesions Induced by Ethanol in Rats. *Pharmacology*, 49(3),
580. Galati, E. M., Monforte, M. T., d'Aquino, A., Miceli, N., Di Mauro, D., & Sanogo, R. (1998). Effects of naringin on experimental ulcer in rats. *Phytomedicine*, 5(5), 361–366.
581. Naik, Y., Jayaram, S., Harish Nayaka, M. A., Lakshman, & Dharmesh, S. M. (2007). Gastroprotective effect of swallow root (*Decalepis hamiltonii*) extract: Possible involvement of H⁺–K⁺–ATPase inhibition and antioxidative mechanism. *Journal of Ethnopharmacology*, 112(1), 173–179.
582. Jainu, M., & Devi, C. S. S. (2006). Antiulcerogenic and ulcer healing effects of *Solanum nigrum* (L.) on experimental ulcer models: Possible mechanism for the inhibition of acid formation. *Journal of Ethnopharmacology*, 104(1-2), 156–163.

ANTIMICROBIAL AND ANALGESIC ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACT OF ALGERIAN *AJUGA IVA* (L.) SCHREB (LAMIACEAE)

MOUHEB Samia*¹, KHALI Mustapha², ROUIBI Abdelhak¹ and SAIDI Fairouz¹

1. University Blida 1- Faculty of Nature and Life Sciences – Cellular biology and physiology Department - Research Laboratory of Biotechnology, Environment and Health - B.P. 270, route de Soumaâ, Blida 09000, Algeria.

2. University Blida 1- Faculty of Nature and Life Sciences – Laboratory of Protection and Valorization of Agrobiological Resources - B.P. 270, route de Soumaâ, Blida 09000, Algeria.

Reçu le 26/01/2018, Révisé le 04/06/2018, Accepté le 07/06/2018

Abstract

Description of the subject: *Ajuga iva* (*A.iva*) is a medicinal plant used to treat various diseases. It is interesting to investigate its therapeutic virtues for its valorization and encourage its use to replace synthetic drugs.

Objective: Investigate the antimicrobial and analgesic effect of *A.iva* extract, a medicinal plant from north Algeria.

Methods: The powdered aerial parts of *A.iva* were extracted by decoction in water and then lyophilized. The extract was tested against seven microbial strains including bacteria and fungi, using the diffusion agar method. Two doses of *A.iva* extract (500, 1000 mg/kg.b.w) were tested to evaluate the analgesic effect in mice, using the writhing test. Indomethacin and sterile distilled water were used respectively, as positive and negative controls.

Results: The results of antimicrobial activity of the aqueous extract of *A.iva*, revealed a very weak activity against all the microbial strains. The inhibition zone did not exceed $8,88 \pm 1,23$ mm. Oral administration of *A.iva* extract one hour before acetic acid injection, had significantly reduce the number of writhes at the dose of 1000 mg/kg.b.w (62,75 %, $p < 0,05$).

Conclusion: The results of the present study showed a very weak antimicrobial activity of the aqueous extract of *A.iva*. They also revealed that *A.iva* contains potential analgesic components with significant effects, that reduce peripheral pain.

Keywords: *Ajuga iva*; Lamiaceae; medicinal plants; antimicrobial activity; Analgesic activity; writhing test.

ACTIVITE ANTIMICROBIENNE ET ANALGESIQUE DE L'EXTRAIT AQUEUX D'*AJUGA IVA* (L.) SCHREB (LAMIACEAE) D'ALGERIE

Résumé

Description du sujet : *Ajuga iva* (*A.iva*) est une plante médicinale utilisée dans le traitement de diverses maladies. Il est intéressant de connaître ses vertus thérapeutiques pour la valoriser et encourager son utilisation à la place des médicaments synthétiques.

Objectifs : Etudier l'effet antimicrobien et analgésique de l'extrait d'*A.iva*, une plante médicinale du nord Algérien.

Méthodes : Les parties aériennes d'*A.iva* pulvérisées ont été extraites par décoction aqueuse, puis lyophilisées. L'extrait a été testé contre sept souches microbiennes comprenant des bactéries et des champignons, par la méthode de diffusion sur gélose. Deux doses d'extrait (500 et 1000 mg/kg.p.c) ont été testées pour évaluer l'effet analgésique chez les souris par le test de contorsions. L'indométacine et l'eau distillée stérile ont été utilisées respectivement comme témoins positif et négatif.

Résultats : Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait ont révélé une très faible activité contre toutes les souches microbiennes. La zone d'inhibition était inférieure à $8,88 \pm 1,23$ mm. L'administration orale de l'extrait a réduit significativement le nombre de spasmes à la dose de 1000 mg/kg.p.c (62,75%, $p < 0,05$).

Conclusion : Les résultats de la présente étude ont montré une très faible activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*A.iva*. Ils révèlent également que l'extrait aqueux d'*A.iva* contient des composants analgésiques potentiels avec des effets significatifs qui réduisent la douleur périphérique.

Mots clés : *Ajuga iva* ; Lamiaceae ; Plantes médicinales ; Activité antimicrobienne ; Activité analgésique ; test de contorsions abdominales.

* Corresponding author: MOUHEB Samia, E-mail: samiya.mouheb@gmail.com

CERTIFICATE



CERTIFICATE

is awarded to

Samia MOUHEB, Mustapha KHALI, Abdelhak ROUBI

for the paper presentation entitled

PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ACUTE TOXICITY STUDY OF AQUEOUS EXTRACT OF AJUGA IVA (L.) SCHREB FROM ALGERIA

within the VIII International Scientific Agriculture Symposium
"AGROSYM 2017"
that has been held from 05th to 08th October 2017 on
Jahorina mountain,
Bosnia and Herzegovina

Please consider this certificate as an official document to facilitate any procedures related to your professional career.

Academician Dusan Kovacevic
President of Scientific Committee

Prof. dr Vesna Milic
President of Organization Committee

Association Tunisienne
de Biotechnologie et
de Valorisation des Bio-Ressources

Tunisian Association
of Biotechnology
and Bio-Resources Valorization

ATTESTATION DE PARTICIPATION

Le Président de l'AT-BVBR, atteste que

SAMIA MOUHEB

a présenté au VI^{ème} congrès international de Biotechnologie et Valorisation des Bio-Ressources,
organisé par l'AT-BVBR du 20 au 23 Mars 2018 à Tabarka - Tunisie,
une communication par Affiche intitulée


C. AFFICHE N°:684.

ANALYSE PAR CG-MS DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AJUGA IVA (L.) SCHREB. D'ALGERIE

SAMIA MOUHEB , MUSTAPHA KHALI , ABDELHAK ROUBI



Président de l'AT-BVBR

Prof. Mohamed Lamjed 





Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed Boudiaf - M'sila
Faculté des sciences
Département des sciences de la nature et de la vie



Attestation de participation

Le président de la Première Journée Scientifique sur les Biotechnologies « 1^{re}JSB18 » qui s'est déroulée le 16 Avril 2018 à l'Université Mohamed Boudiaf - M'sila, atteste que :

Melle/Mme/Mr.: Samia Mouheb

A présenté une communication *Affichée* intitulée :

Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux dans les extraits d'*Ajuga reptans* L.

Co-auteurs: Mustapha Khali, Abdelhak Rouibi

Président de la 1^{ère} JSB18

Dr. Hamdi BENDIF



1985



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed Boudiaf - M'sila
Faculté des Sciences
Département des sciences de la nature et de la vie



Attestation de participation

Le président de la Première Journée Scientifique sur les Biotechnologies « 1^{ère} JSB18 » qui s'est déroulée le 16 Avril 2018 à l'Université Mohamed Boudiaf - M'sila, atteste que :

Melle/Mme/Mr.: Samia Mouheb

A présenté une communication *Affichée* intitulée :

Activité antiinflammatoire de l'extrait aqueux d'*Ajuga Iva* L.

Co-auteurs: Mustapha Khali, Abdelhak Rouibi

Président de la 1^{ère} JSB18

Dr. Hamdi BENDIF

