

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de BLIDA1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et des Organismes



Mémoire de fin d'Etudes

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences de la Nature et de la
Vie

Option : Phytothérapie et Santé

Thème

**Evaluation des activités antioxydante, anti-inflammatoire
et diurétique des extraits aqueux des feuilles et des fruits
de l'Arbousier (*Arbutus unedo L.*).**

Présenté par :

Ferhat Wafa

Ghezali Saliha Djaouida

Soutenu le: 17/09/2015

Devant le jury composé de :

Mme BRADEA. M.S	M.C.A	UB1	Présidente
Mme FAIDI. H	M.A.A	UB1	Examinatrice
Mme AMEDJKOUH. H	M.A.A	UB1	Promotrice

Promotion : 2014/2015

Remerciement

Avant tout, nous remercions Dieu, source de toute connaissance.

Nous tenons à remercier Mlle AMEDJKOUH H., notre promotrice pour avoir accepté de nous encadrer et pour ses précieux conseils, son encouragement et sa disponibilité dans ce projet.

Nos sincères remerciements vont :

A Madame BRADEA M.S maitre de conference (A) à l'Université de Blida 1, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire.

A Madame FAIDI H maitre assistante à l'Université de Blida 1, de l'intérêt qu'elle a apporté au travail en acceptant d'être examinatrice.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance à Mlle Brenkia A pour sa sympathie, ses conseils et son importante aide.

Sans oublier de remercier tout le personnel de CRD d'Al Harrach.

Enfin, nous tenons à exprimer nos remerciements pour toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

A cœur vaillant rien d'impossible

A conscience tranquille est accessible

Quand il y a la soif d'apprendre

Tout vient à point à qui soit attendre

Quand il y a le souci de réaliser un dessein

Tout devient facile pour arriver à nos fins

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers partants, pour leurs amours, leur soutien et tous leurs
sacrifices.

A ma deuxième maman hassiba et son mari nacer pour leur soutien et qui
ont été toujours près de moi.

A mes frères mohamed, adlen et hicham

A mes sœur lynda et djazia

A toute ma famille

A mes très chers amis Imen, Sara, Wafa, Siham, Ihssen et yasmin

A toute personne qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un encouragement

Je dis " merci "

Saliha

Dédicaces

Je dédie cet humble travail avec grand amour, sincérité et fierté :

A mes chers parents qui m'ont encouragé à aller de l'avant et qui m'ont donné tout leur amour pour reprendre mes études.

A mes frères, SMAIL, HICHAM et YUCEF.

A mon oncle ALI et sa petite famille.

A ma cousine ZOHRA qui m'a encouragé et m'a aidé.

A toute ma famille

A mon binôme et mon amie SALIHA.

A mes proches amis : WAFIA, MERIEM, IHSEN, YASMIN et FELLA.

A toutes les personnes que j'aime, je dédie le fruit de mon projet de fin d'étude.

Wafa

Résumé

L'arbousier (*Arbutus unedo* L.) appartenant à la famille des Ericaceae, est une plante spontanée à caractère thérapeutique, très répandue dans le bassin méditerranéen.

La présente étude porte sur une comparaison entre les feuilles et les fruits de l'arbousier dans la région de Blida (hammam melouan) sur le plan phytochimique et pharmacotoxicologie.

Un screening phytochimique a permis la mise en évidence de quelques métabolites secondaires : les anthocyanes, leuco-anthocyanes, tanins, saponines, flavonoïdes, glucosides, coumarines et mucilages.

Les tests limites de la toxicité aiguë montrent que les feuilles et les fruits ne présentent aucune toxicité à des doses comprises entre 2 à 10 g/kg.

L'évaluation de l'activité diurétique des deux infusés à une dose de 2g/kg chez les rats a présenté un meilleur effet diurétique avec une excrétion urinaire volumétrique 127,4% pour les feuilles et 132,7% pour les fruits, en comparaison avec le produit de référence (furosémide) à la dose de 0,5 mg/kg dont le résultat est de 111,1%.

Les extraits aqueux de l'arbousier à une dose de 3g/kg réduisent considérablement l'œdème de la patte de souris (41,9 % pour les feuilles et 51,3 % pour les fruits) induit par la carraghénine à 0,1 % par rapport au diclofénac (40,3%).

Le pouvoir antioxydant a été évalué par le test de 2,2-diphénylpicryl-1-hydrozyl et a montré que l'arbousier possède une forte capacité réductrice ($IC_{50}=0.29$ g/ml pour les feuilles, $IC_{50}=0.87$ g/ml pour les fruits) en comparaison avec le produit de référence (acide ascorbique) ($IC_{50}=0.69$ g/ml).

Mots clés: *Arbutus unedo* L., Screening phytochimique, activité anti-inflammatoire, activité diurétique, activité antioxydante.

Abstract

Arbutus unedo L. tree, is belonging to the family of Ericaceae, it is a plant with therapeutic spontaneous character, very answered in the Mediterranean basin.

This study focuses on a comparison between the leaves and the fruits of the strawberry tree in the Blida region (Hammam melouen) on the phytochemical plans and pharmacotoxicology.

A phytochemical screening allowed the evidence implementation of some secondary metabolites: the anthocyanins, leucoanthocyanes, tannins, saponins, flavonoids, glycosides, coumarins, and mucilages.

The limits tests of acute toxicity showed that the leaves and the fruits have no toxicity at doses between 2 to 10 g / kg.

The evaluation of the diuretic activity of two infused at a dose of 2g / kg in rats have presented a better diuretic effect with a volumetric urinary excretion 127.4% for the leaves and 132.7% for the fruits compared with the reference product (furosemide) at the dose 0.5 mg / kg, the result is 111.1%.

The aqueous extracts of the *Arbutus unedo* L. tree at a dose of 3g / kg ,has significantly reduced the edema of the mouse paw (41.9% for leaves and 51,3% for fruits) induced by carrageenan 0.1% with diclofénac compared to 40.3%.

The antioxidant capacity was evaluated by the test-2-2-1-hydrozyl diphénylpieryl has shows that the *Arbutus unedo* Ltree has a high reducing ability (IC₅₀ = 0.29 g / ml for the sheets, IC₅₀ = 0.87 g / ml for fruit) in comparaisn with the reference product (ascorbic acid) (IC₅₀ = 0.69 g / ml).

Key words: *Arbutus unedo* L., phytochemical screening, anti-inflammatory activity, diuretic activity, antioxidant activity.

Liste des figures

Figure 01 : Aspect général de <i>Arbutus unedo</i> L.....	8
Figure 02 : Feuilles de <i>Arbutus unedo</i> L.....	9
Figure 03 : Infloraisance et fleurs de <i>Arbutus unedo</i> L.....	9
Figure 04 : Fruits de <i>Arbutus unedo</i> L.....	10
Figure 05 : Souris Albinos.....	15
Figure 06 : Rats Wistar.....	15
Figure 07 : Poudre végétale des feuilles de <i>Arbutus unedo</i> L.....	16
Figure 08 : Morceaux de fruits de <i>Arbutus unedo</i> L.....	16
Figure 09 : Protocole expérimental du test limite de la toxicité aiguë.....	21
Figure 10 : Protocole expérimental de l'activité diurétique.....	24
Figure 11 : Protocole expérimental de l'activité anti-inflammatoire.....	27
Figure 12 : Evolution des volumes d'urine en fonction de temps.....	32
Figure 13 : Pourcentage d'excrétion urinaire volumétrique des lots de rats des différents essais.....	32
Figure 14 : Evolution du pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l'extrait des fruit.....	35
Figure 15 : Evolution du pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l'extrait des feuilles.....	35
Figure 16 : Evolution du pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.....	36

Liste des Tableaux

Tableau I : Les caractéristiques de la zone de prélèvement.....	14
Tableau II: Les caractéristiques du matériel animal utilisé.....	15
Tableau III : Les poids et le volume de l'eau physiologique (Na Cl 0.9%) administré pour chaque lot.....	(Annexe II)
Tableau IV : Les résultats de screening chimique des feuilles et des fruits de l'arbousier.....	32
Tableau V: Les résultats du test limite de la toxicité aigue des extraits aqueux.....	33
Tableau VI : Résultats de l'activité diurétique chez le lot témoin.....	(Annexe II)
Tableau VII : Résultats de l'activité diurétique chez le lot essai 1 (furosémide).	(Annexe II)
Tableau VIII : Résultats de l'activité diurétique chez le lot essai 2 (les feuilles).....	(Annexe II)
Tableau IX : Résultats du test diurétique de l'essai 3 (les fruits).....	(Annexe II)
Tableau X: Etude statistique de l'activité diurétique de <i>l'Arbutus unedo</i> L.....	(Annexe II)
Tableau XI : Le pourcentage d'œdème et le pourcentage d'inhibition d'œdème de 2 doses de l'extrait de feuilles.....	37
Tableau XII : Le pourcentage d'œdème et le pourcentage d'inhibition d'œdème de 2 doses de l'extrait de fruits.....	37
Tableau XIII : Etude statistique de l'activité anti-inflammatoire des fruits de <i>l'Arbutus unedo</i> L.....	(Annexe II)
Tableau XIV : Etude statistique de l'activité anti-inflammatoire des feuilles de <i>l'Arbutus unedo</i> L.....	(Annexe II)
Tableau XV: Tableau représentant les IC50 les valeurs des IC50 de chaque extrait testé.....	41

Glossaire

Diurèse : sécrétion de l'urine (**Larousse, 1992**).

Diurétique : substance ou produit qui fait uriner (**Larousse, 1992**).

Pléthore : surabondance de sang et d'humeur (**Larousse, 1992**).

Astringente : Se dit d'une substance qui resserre et assèche les tissus, et peut faciliter leur cicatrisation (**Larousse, 1992**).

Mouvement péristaltique : Se dit des contractions qui se produisent dans les organes tubulaires et provoquent le déplacement du contenu de l'organe (**Larousse, 1992**).

Aponévrose plantaire : L'aponévrose, ou fascia plantaire, est un tissu fibreux du pied situé sous la peau, au milieu de la voûte plantaire et fixé au talon et aux premières phalanges (**Larousse, 1992**).

Ebriété : état d'une personne ivre (**Larousse, 1992**).

Lithiase oxalique : ou oxalo-calcique est un type de calcul qui peut être responsable de lithiases urinaires. Ces calculs sont composés de cristaux d'oxalate de calcium (**Larousse, 1992**).

Dysenterie : Maladie infectieuse aiguë épidémique, très fréquente dans les régions tropicales, caractérisée anatomiquement par des lésions inflammatoires, ulcéreuses et gangreneuses, du gros intestin (**Quevauvilliers, 2007**).

Grelot : Fleurs en grelot, fleurs qui ont la forme d'une clochette (**Larousse**).

Narcotique : se dit d'une substance qui provoque un relâchement musculaire ou une diminution de la sensibilité (**Larousse**).

Œdème : gonflement d'un organe ou d'un tissu dû à une accumulation visible palpable de fluide dans le tissu interstitiel (**Leurselle et al., 2004**).

Gavage : est une technique d'alimentation forcée pratiquée chez l'homme et l'animal à l'aide d'une sonde gastrique (**Encyclopedie encarta 2009**).

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I-Plantes médicinales et phytothérapie.....	3
I-1-Définitions.....	3
I-1-1-Plantes médicinales.....	3
I-1-2-Phytothérapie.....	3
I-2-Mode de préparation des plantes.....	3
I-3-Les principes actifs des plantes.....	4
II-Généralités sur la plante étudiée (<i>Arbutus unedo</i> L.).....	8
II-1-Description botanique.....	8
II-2-Systématique.....	10
II-3- Noms vernaculaires.....	10
II-4-Répartition géographique.....	11
II-5-Principes actifs de la plante.....	11
II-6-Propriétés thérapeutiques.....	12
II-7-Autres propriétés.....	13

Chapitre II : Matériel et Méthodes

I-Matériel.....	14
II-Méthodes.....	16
II-1-Screening phytochimique.....	16
II-2-Etude toxicologique.....	19
II-3-Etude des activités biologiques.....	22
II-3-1-Evaluation de l'activité diurétique.....	22
II-3-2-Evaluation de l'activité anti inflammatoire.....	25
II-3-3-Evaluation de l'activité antioxydante.....	28

Chapitre III : Résultats et Discussions

I- Screening phytochimique.....	29
II-Etude toxicologique.....	29
III-Etude des activités biologiques.....	31
III-1- Activité diurétique.....	31
III-2- Activité anti inflammatoire.....	34
III-3- Activité antioxydante.....	36
Conclusion.....	40
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Au travers les âges, l'homme a pu compter sur les plantes pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ces besoins médicaux (**Roux, 2005**), leur utilisation a longtemps été guidée par la tradition. La phytothérapie renaît ces derniers temps avec une approche plus scientifique. Elle se base sur des études, des analyses et des expérimentations (**Svoboda et Svoboda, 2000 ; Cazaubon, 2005**).

D'autant plus, l'être humain se montre de plus en plus réticent à l'emploi des molécules chimiques. Il y a donc un réel besoin de trouver des méthodes alternatives.

Pour cela, l'évolution des propriétés thérapeutiques des plantes, constitue une tâche très intéressante et utile, particulièrement pour les plantes d'une utilisation rare, moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle et les traditions médicinales. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (**Bahorun, 1997**).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives (**Ferrari, 2002 et Berube-Gagnon, 2006**).

A ce jour, plus de 10000 espèces de plantes différentes sont utilisées par les scientifiques, et de nombreux médicaments sont élaborés à partir de leurs principes actifs. L'Organisation mondiale de la Santé considère que dans de nombreux pays peu développés, les plantes et leurs composants représentent la première source de remèdes (**Baba aissa, 2011**).

En Algérie, les plantes médicinales et les remèdes à base de plantes n'ont jamais été totalement abandonnés et les gens n'ont jamais cessé de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir une tradition thérapeutique vivante malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne (**Ali -Delille, 2011**).

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à une plante médicinale, qui pousse dans les maquis et qui est l'arbousier (*Arbutus unedo L.*) de la famille d'Ericaceae. Cette plante est utilisée comme un remède naturel : astringente diurétique, antiseptique urinaires (**Özcan et Hacisferogullari, 2007**), antidiarrhéque, anti-inflammatoire, dépuratif (**Baba aissa, 2011**).

Notre travail a pour objectif :

-L'étude phytochimique qui consiste à un screening chimique de l'extrait aqueux des feuilles et des fruits de l'arbousier.

-L'étude toxicologique de l'arbousier.

-L'étude biologique portant sur l'effet anti-inflammatoire, diurétique et antioxydant de *Arbutus unedo L.*

chapitre I

I-Plantes médicinales et phytothérapie

I-Plantes médicinales et phytothérapie

I-1-Définitions

I-1-1-Plantes médicinales

Les plantes sont dites médicinales lorsqu'un de leurs organes (feuilles, fleurs, racines, tiges, graines, fruits) possède des activités pharmacologiques ou possède au moins une partie ayant des propriétés médicamenteuses (**Bruneton, 1999**) ; en d'autre terme, une plante médicinale est une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux (**Farnsworth et al., 2007**).

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

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisées directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (**Fouché et al., 2000**).

I-1-2-La phytothérapie

Selon **Roland (2002)**, la phytothérapie est le « traitement par les plantes » du grec phyton= plantes et therapeia= soin, cure.

C'est le traitement curatif ou préventif des maladies par l'utilisation de préparation obtenues à partir de plantes entières ou d'organes de plante : feuille, fleur, fruit, racine, graine (**Fintelmann et Weiss, 2004**).

I-2-Mode de préparation des plantes médicinales

L'utilisation la plus traditionnelle des plantes médicinales est la tisane qui est un terme plus technique pour la majorité des préparations, telle que les infusions et les décoctions (**Scimeca et Tétou, 2008**) :

I-2-1-Infusion

L'infusion est la forme de préparation la plus simple, elle est appliquée généralement aux organes délicats de la plante. Cette forme permet d'assurer une diffusion optimale des substances volatiles (**Baba aissa, 2011**), elle est préparée en versant de l'eau bouillante sur des plantes fraîches ou sèches (**Frély, 2006**), le mélange est laissé pour 15 à 20 minutes puis filtré à l'aide d'un linge propre (**Nogaret-ehrhart, 2006**).

I-2-2-Décoction

La décoction s'applique en général aux racines, écorces, bois et rameaux, elle consiste à faire bouillir les organes indiqués dans de l'eau pendant plusieurs minutes (**Baba aissa, 2011**) ; il est déconseillé de faire bouillir les plantes aromatiques car les essences s'évaporent (**Berton, 2001**).

I-2-3-Macération

Elle permet d'obtenir la solution la plus concentrée en laissant la plante en contact de l'eau à froid pendant quelques heures, voire quelques jours (**Férly, 2006**). Elle est employée surtout pour des substances trop facilement transformables par la chaleur (**Bernadet, 1983**), et également pour éviter d'extraire les tanins (**Raynaud, 2005**).

I-2-4-Poudres médicinales

Les plantes (feuilles, fleurs, graines, écorces) préparées sous forme de poudre obtenue par pulvérisation, dans un mortier ou dans un moulin, peuvent s'utiliser pour un soin interne ou externe. Les poudres sont parfois comprimées en cachets et parfois utilisées telles quelles (**Delille, 2011**).

I-2-5-Teinture

Sont des extraits concentrés de plantes médicinales préparés avec un mélange d'eau et d'alcool, qui favorise l'extraction des composants végétaux et agit également comme conservateur (**McIntyre, 2010**). Les teintures présentent deux avantages majeurs : leur conservation qui peut s'étendre à une durée de trois années et l'absorption rapide par l'organisme de leurs principes actifs (**Nogaret-ehrhart, 2006**).

I-3-Les principes actifs des plantes

Les plantes fabriquent des hydrates de carbone et émettent de l'oxygène par la photosynthèse, créant au fil de ce processus des voies métaboliques fournissant les

substances nécessaires à la production d'une pléthore de composants au niveau des plantes médicinales, cela inclut les minéraux, les vitamines, les oligoéléments et un large assortiment de substances à action thérapeutique spécifique dans le corps. Les plus connues sont **(McIntyre, 2010)** :

I-3-1-les terpènes

Le nom de terpènes vient à l'origine de la térébenthine, l'huile volatile des pins, ce terme a été utilisé de façon plutôt imprécise pour tous les composés huileux volatils insolubles dans l'eau ayant en général une odeur de résine végétale **(Clayden et al., 2002)**.

Ce sont des métabolites universels trouvés dans tous les organismes vivants ; plus de 33000 composés terpéniques ont été découverts, parmi lesquels nous distinguons : les hémiterpènes en C₅, les monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes en C₂₀, les sesterpènes en C₂₅, les triterpènes en C₃₀, les tétraterpènes en C₄₀ et les polyterpènes en C_n **(Santelli et al., 2012)**.

I-3-2- les composés phénoliques

I-3-2-1-les acides phénoliques

Se définissent par l'existence d'un seul noyau benzoïque portant un ou plusieurs groupements hydroxyles, ils se trouvent en général à l'état combiné (sous forme d'esters ou glucosides) **(Gayon, 1980)**, ils incluent les acides benzoïques, les acides cinnamiques et les coumarines **(Sauvion et al., 2013)**.

***les coumarines**

Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines ont une structure de base (C₆-C₃) dérivant des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale, elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique **(Collin et Crouzet, 2011)**.

I-3-2-2-les flavonoïdes

Groupe de substances telles que les flavonols et les flavonones, dont la structure permet de les rattacher aux flavones (pigment). Les flavonoïdes sont responsables de la coloration de nombreuses fleurs et fruits, et parfois de feuilles ; on en trouve dans le citron. Les pigments sont insolubles dans l'eau **(Baba aïssa, 2011)**. Les flavonoïdes assurant la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet **(Bruneton, 1999)**.

Il existe environ 12 groupes connus de flavonoïdes qui ne diffèrent les uns les autres que par l'état d'oxydation de ce noyau hétérocyclique, les trois principaux groupes sont les flavones, flavonols et anthocyanes (**Hopkins, 2003**).

***Les anthocyanes**

Ce sont des pigments colorés produits par les angiospermes responsables de la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines, ils forment une vaste famille de molécules aux formules chimiques très diverses (du bleu au rouge en passant par le mauve et l'orange), dépendent de leur structure et du PH du milieu intracellulaire, les anthocyanes sont synthétisés par les cellules épidermiques ou sous épidermiques de différents organes (**Samouelian et al, 2009**).

Les anthocyanes sont les 3-O-glycosides des dérivés polyhydroxylés et des polyméthoxylés des sels de flavylum (ou 2-phénylbenzopyrylium), 90% des anthocyanes sont construites autour de six anthocyanidines naturelles qui sont la pélagonidine, la cyanidine, la péonidine, la malvidine et la delphinidine (**Andersen et al., 2006**).

I-3-2-3-Les tanins

Ce sont des composés phénoliques (polyphénols) accumulés dans les racines, l'écorce, les feuilles et quelque fois dans les fruits de certaines plantes (arbres, arbustes, arbrisseaux) (**Baba aissa, 2011**), ils sont largement présents dans la nature, souvent entant que glucosides, ils représentent le plus grand groupe de polyphénols. Leur principale action thérapeutique astringente, car ils sont capables de se lier à l'albumine, protéine de la peau et des muqueuses, forment une couche protectrice insoluble résistante à l'infection, sur la peau, la muqueuse délicates de la bouche et des systèmes respiratoires, digestif, urinaire et reproducteurs (**McIntyre, 2010**).

I-3-3-Les quinones

Ce sont des noyaux aromatiques avec deux substitutions cétones. Ces composés, étant colorés sont responsables de la réaction de brunissement dans les fruits et les végétaux coupés ou lésés. En plus de fournir une source de radicaux libres stables, les quinones sont connus pour se complexer de manière irréversible avec les nucléophiles des acides aminés dans les protéines. Par conséquent, les quinones inactivent les protéines et altèrent leur fonction (**Arif et al., 2009**).

I-3-4-Les alcaloïdes

Ce sont des composés organiques azotés, plus ou moins basique, d'origine naturelle le plus souvent végétale, de structures très variées, habituellement mono ou polycycliques, L'azote est le plus souvent intracyclique et entre dans la formation d'un noyau déterminant la classification, dont les principales classes sont la tropane, la quinolizidine, l'isoquinoléine, l'indole et la quinoléine (**Gazengel et orecchioni, 2013**).

Les alcaloïdes sont utilisés comme anti-cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (**Iserin et al, 2007**).

I-3-5-Les glucosides

Ce sont des produits résultants du métabolisme secondaire des plantes, constitués de deux fractions, l'une, le plus souvent inactive exerce un effet favorable sur la solubilité du glucoside et son absorption ; la seconde fraction qui est la plus active, dénommée aglycone détermine l'effet thérapeutique (**Volak et al., 1987**) les saponines font partie des glucosides les plus importantes :

***Les saponines**

C'est un ensemble de composés chimiques définis comme des hétérosides d'alcools aliphatiques (saponosides), l'hydrolyse des saponines libère des oses variés (**Baba aissa, 2010**). Lorsqu'elles sont mélangées à l'eau, forment un mousse. Précipitent par ailleurs le cholestérol. les plantes contenant des saponines ont un gout amer et une action hémolytique. Les saponines peuvent dissoudre les parois des globules rouges, si bien qu'on ne doit jamais les injecter dans le sang (**McIntyre, 2010**).

I-3-6-Mucilage

Cette substance sucrée, pareille à un gel, attire l'eau pour former un fluide visqueux. Pris par voie orale, le mucilage couvre les muqueuses de l'appareil digestif, respiratoire et génito-urinaire, les protégeant de l'irritation et de l'inflammation. Le mucilage calme la diarrhée en diminuant le mouvement péristaltique causé par l'irritation de la paroi intestinale (**McIntyre, 2010**).

Chapitre I

II-Généralité sur la plante étudiée

II-Généralités sur la plante étudiée (*Arbutus unedo* L.)

L'Arbousier appartient à la famille des Ericaceae, c'est une grande famille cosmopolite représentée par 124 genre et environ 4100 espèces (**Meberley, 1987; Stevens et al., 2004 In Lhuilier, 2007**).

Le genre *Arbutus* comporte 14 espèces disséminées dans les régions tempérées et fraîches de l'hémisphère nord et en Amérique tropicale (**Dib, 2008**).

L'arbousier est appelé aussi « arbre à fraises », Selon **Babo (2006)**, *Arbutus unedo* voulait dire « je mange un seul », allusion au goût désagréable du fruit. Très présent dans la région méditerranéenne et particulier dans les maquis Corse.

II-1-Description botanique

L'arbousier, ou arbres aux fraises (**Figure 01**), petit ligneux méridionales, n'est en fait qu'un arbuste, voir un arbrisseau. C'est un arbre très intéressant par ce qu'il résiste bien aux gels jusqu'à des températures de -12 C° à -15 C° , et qu'il s'adapte à une très large gamme de sol et d'expositions. Il pousse en plein soleil, voire en arbre de sous-bois et il supporte le calcaire (**Morris, 2007**), et peut atteindre 5 m de hauteur (**Delille, 2010**), c'est un arbuste à écorce brunâtre, celle des jeunes rameaux rougeâtre (**Baba Aissa, 2011**).



Figure 01 : Aspect général de *Arbutus unedo* L. (originale)

1-Feuilles

Les feuilles sont lancéolées simples (**Figure 02**), luisantes à bord finement denticulé coriaces (**Baba Aissa, 2010**).



Figure 02: Feuilles de *Arbutus unedo* L. (Originale)

2- Fleurs

Les fleurs sont en forme de clochettes regroupées en panicules terminales (**Figure 03**), régulières, bisexuées, calice à lobes triangulaires très courts, corolle en grelot, rétrécie au sommet du tube d'un blanc rosé ou verdâtre (**Boullard, 2001**).



Figure 03 : Infloressance et fleurs de *Arbutus unedo* L. (Originale)

3-Fruit

Le fruit, appelé l'arbose (**Figure 04/ A et B**), est globuleuse charnue (**Figure 04/C**), de saveur acidulée (**Baba Aissa, 2010**), varié considérablement dans la taille, bien qu'il fasse la moyenne de 1 à 2 cm de diamètre. C'est une baie sphérique rouge, il ressemble aux fraises mais cette ressemblance ne s'applique pas au goût. Parfois arrangée, elle est toujours hérissée de courts tubercules pyramidaux et renferme de nombreuses graines

(Boullard, 1997). Si le fruit apparaisse à côté des fleurs c'est à cause de leur lenteur à murir c'est bien qu'il coïncide avec la floraison de l'année suivante (kaddem, 1990). Les fruits apparaissent vers le mois de septembre-octobre (Mehboubi, 2011).



Figure 04 : Fruit de *Arbutus unedo* L. (Originale)

II-2-Systématique

Selon Guignard (2001); Judd et al (2002), l'Arbousier est classé comme suit :

Règne: Plantae

Embranchement: Spermatophytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous-classe : Astéridées

Ordre : Ericales

Famille : Ericacées

Genre : *Arbutus*

Espèce: *Arbutus unedo* L.

II-3-Noms vernaculaires

Il existe plusieurs noms de *Arbutus unedo* L. à travers le monde :

En arabe : Boukhannû (Mahboubi, 2011)

En Algérie : Sissou, Lendj, Tississou, Bahnou, Bou djbibba (Beloued 2003)

En Anglais : Arbutus (Mahboubi, 2011)

En Français : Arbousier, Arbre à fraises, faux fraisier (Delille, 2010).

II-4-Répartition géographique

Dans le monde, l'arbousier est très commun sur le bassin méditerranéen, le sud-ouest mais également sur le bord de l'atlantique (**Mahboubi, 2011**). Il se trouve disséminé en Charente et jusqu'en Irlande, des régions relativement chaudes (**Babo, 2007**). Il aime les régions montagneuses et les bois arides. C'est une plante essentiellement sauvage ; sa culture est très rare (**Mahboubi, 2011**). En Algérie, c'est l'arbuste de maquis, fréquent dans les bois du littoral et dans le Telle (**kaddem, 1990**).

II-5-Principes actifs de l'arbousier

L'arbousier commun contient 2,7 % d'arbutine c'est un puissant antiseptique de l'appareil urinaire il contient aussi de la méthylarbutine et d'autres hydroquinones, un principe amer et des tanins (**Iserin, 2001**).

1-Toute la plante

De l'extrait hydro-alcoolique de la plante entière de *Arbutus unedo* L. recueilli dans un taillis de la forêt méditerranéenne, situé dans le centre de l'Italie, 12 composés phénoliques ont été identifiés: le gallate d'éthyle, l'arbutine et deux dérivés de l'arbutine (p-hydroxybenzoylarbutine et galloylearbutine) et huit flavonoïdes (gallocatéchine, la catéchine, le kaempférol 3-O- α -L-rhamnoside, la quercétine 3-O- α -L-rhamnoside, myricétine 3-O- α -L-rhamnoside, le kaempférol 3-O- β -D-arabinoside, la quercétine 3-O- β -D-arabinoside, et myricétine 3-O- β -D-arabinoside) (**Fiorentino, 2007**).

Triterpènes ont également été trouvés dans l'éther de pétrole et d'acétate d'éthyle extraits de plante entière recueillies en Turquie: l'acétate α -amyrine, bétuline, l'acide bétulinique, 6 β -hydroxystigmast-4-en-3-one, lupéol, l'acide platonique, l'acide pomolic 3- l'acétate, le β -sitostérol et 7 β -hydroxystigmast-4-èn-3-one (**Carcache-Blanco, 2006**).

2-Les feuilles

La Chromatographie sur couche mince de séparation des flavonoïdes et des acides phénoliques à partir d'extraits méthanoliques des feuilles de *Arbutus unedo* L. indiqué la présence de la quercitrine, l'isoquercitrine, hypéroside, et de la rutine (**Mals et al, 2006**).

3-Les fruits

Par CG-MS : des acides phénoliques et non-volatiles et des sucres solubles ont été identifiés et quantifiés dans les fruits de l'arbousier. Les acides phénoliques quantifiés étaient l'acide gallique (10,7 mg / g de poids sec), gentisique (1,9 mg / g), protocatéchuique (0,6 mg / g), p-hydroxybenzoïque (0,3 mg / g), vanillique (0,12 mg / g) et m-anisic (0,05 mg / g). Dans le groupe des acides non volatils, fumarique (1,94 mg / g de poids sec), lactique (0,84 mg / g), malique (0,84 mg / g), subérique (0,23 mg / g) et d'acide citrique ont été trouvées. Le Fructose, le glucose, le saccharose et le maltose sont les sucres solubles identifiés et quantifiés dans le montant de 27,8, 21,5, 1,8 et 1,11% en poids sec, respectivement (**Ayaz et al, 2000**).

Les composés phénoliques de *Arbutus unedo* L. des fruits récoltés à Marina di Vecchiano, Pise, Italie, inclus anthocyanes (delphinidine-3-O-galactoside, cyanidine-3-O-glucose et cyanidine-3-O-arabinoside); le 4-arbutine, le β -D-glucogalline et L'acide 3-O-galloylquinic; acide 4-O- β -D-glucopyranoside gallique; L'acide 5-O-galloylquinic; L'acide 5-O-galloylshikimic; et l'acide 3-O-galloylshikimic (**Pawlowska et al. ,2006**).

II-6-Propriétés thérapeutiques

Les composés bioactifs tels que les polyphénols, les acides aromatiques, monoterpénoïdes, Phénylpropanoïdes, les stérols, des triterpénoïdes et les flavonoïdes présents dans ses feuilles et l'écorce, peuvent expliquer son activité pharmacologique (**Pallauf et al. 2008**).

En gargarisme, l'arbousier soulage les maux de gorge (**Iserin, 2001**), il est également utilisé pour traiter les pathologies cardiovasculaire et le diabète (**El houari, 2007**).

Les feuilles de l'arbousier sont antiseptiques et très astringentes, ils sont utilisées contre les diarrhées, la dysenterie, les inflammations des vois urinaires accompagnées de purulence, les coliques néphrétiques, les calculs urinaires et les diverses affection rénales (**Beloued, 2003**).

Les feuilles ont aussi : une activité antioxydant (**Miguel et al, 2014**), une Activité anti microbienne principalement contre les bactéries gram positives (**Orak et al., 2011**) : les *Helicobacter pylari* et *klebsiella pneumoniae*. (**Ferreira et al., 2012**), un Effet antifongique contre deux moles aflatoxines : *Aspergillus parasiticus* (**Orak et al., 2011**) et contre *Candida tropicalis* (**Ferreira et al., 2012**), une Activité antimicrobienne intracellulaire sans effet toxique sur les macrophages (**El Ouarti et al., 2012**), une Activité anti-leishmaniose in vitro par l'extrait éthanolique (**Kivcak et al., 2009**) et une activité

anti-inflammatoire par des extraits aqueux des feuilles de l'arbousier (**Mariotto et al., 2008**).

Les fleurs possèdent des propriétés sudorifiques réputées (**Beloued, 2003**).

Les fruits ont des effets narcotiques et les racines sont utilisées comme dépurative et décongestionnante (**Beloued, 2003**). Dans la médecine traditionnelle, il est rapporté que le fruit de *l'Arbutus unedo* L. possède des propriétés, astringente, diurétique, antiseptique (**Ôzcan et Haciseferogullari, 2007**).

Les extraits aqueux des fruits in vitro ont montrés une activité antioxydante (**Isbilir et al. 2012**).

L'huile essentielle des fruits à une activité antimicrobienne efficace contre : *Monocitogène listeria* et *Entracacus foecalis* (**Kahriman et al., 2010**).

II-7-Autres propriétés

Les arbouses servent à faire des confitures, des boissons fermentées et même un vinaigre doux, dont la fabrication est mentionnée par le botaniste Andalou du sixième siècle, Abù-l-Khayr Al-Ichbili.

Le bois de l'arbousier, dur, à grain fin, se prêtant bien au polissage et au tournage, est utilisé pour fabriquer divers petits objets : boîtes, damiers, échiquiers, bibelots, statuettes. C'est aussi un très bon combustible et son charbon est d'excellente qualité. Enfin, les écorces et les feuilles sont employées pour tanner les peaux. (**Bellakhdar, 2003**). Le bois de l'arbousier est relativement facile à travailler, et la souche permettrait de fabriquer des pipes appréciées par les connaisseurs. La carbonisation fournit un excellent charbon de bois (**Bizouard et Favier, 1962**).

En raison de leur teneur en sucre fermentescible élevé, ils ont été traditionnellement utilisés pour obtenir des boissons alcoolisées. Leur teneur en pectine les rend appropriés pour la production de gels, comme des confitures et gelées, compotes. Ces trois principaux modes de consommation ont été largement signalés dans différentes régions espagnoles (**Tardío et al., 2006**).

Chapitre II

Matériel et Méthode

Notre travail a été réalisé durant une période s'étalant du mois de Février jusqu'au mois de Mai 2015.

- L'étude phytochimique a été réalisée dans le laboratoire des substances naturelles du Centre de Recherche et de Développement (CRD) El Harrach.
- L'effet anti-inflammatoire, l'activité diurétique et la toxicité ont été réalisés dans le laboratoire de pharmacotoxicologie de (CRD) El Harrach.
- L'effet antioxydant a été réalisé dans le laboratoire de PFE du département de biologie de l'université de BLIDA1.

I-Matériel

1-1-Matériel végétal

L'étude phytochimique et biologique a été réalisée sur les fruits et les feuilles de l'espèce *Arbutus unedo* L. (Arbousier), récoltée en mois de Décembre 2015, dans la région de Hammam melouene à BLIDA.

Les caractéristiques (localisation et climat) de la zone d'étude ont été recueillies auprès de l'Institut National des Ressources Hydrauliques (INRH) de Soumâa et du Parc National de Chréa (PNC), secteur Hammam Melouane (**Tableau I**).

Tableau I : Les caractéristiques de la zone de prélèvement.

Localisation	La région de Hammam Melouane : la zone d'étude située dans la Daïra de Bougara, Wilaya de Blida, à environ 40 Km au sud-ouest d'Alger.
Caractéristiques météorologiques	Le climat de Hammam Melouane est méditerranéen la températures varie de 15 °C à 33°C La pluviométrie ne dépasse pas les 700 mm/an.

I-1-2-Matériel animal

La toxicité et l'activité anti-inflammatoire sont testées sur 93 souris Albinos (**Figure 05**) réparties en :

- 8 lots de 6 souris chacun pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire.
- 9 lots de 5 souris chacun pour l'étude de la toxicité.

-L'activité diurétique est testée sur 20 rats Wistar (**Figure 06**), repartis en 4 lots de 5 rats chacun.



Figure 05 : Souris Albinos



Figure 06 : Rat Wistar

Les caractéristiques du matériel animal sont illustrées dans le **Tableau II**

Tableau II : Les caractéristiques du matériel animal utilisé.

Animal	Souris Albinos	Rat wistart
Race	Swiss	Swiss
Poids	18g à 22g	150g à 200g
Sexe	Males et femelles	Males et femelles
Alimentation	Garanules d'origine O.N.A.B(office nationales de l'alimentation du bétail)	
Boisson	Eau de ville (eau potable)	
Condition d'hébergement :		
-cages	polypropylène	
-Température	20-24°C	
-Humidité	50%	
-Eclairage	10h	

II-Méthodes

II-1-présentation du matériel végétal

Après la récolte, les feuilles et les fruits ont été séchés à l'abri de la lumière, à une température ambiante pour éviter la photo-oxydation des substances, dans un endroit bien aéré pour éviter les moisissures. Après séchage, les feuilles sont finement broyées à l'aide d'un mortier, en poudre de couleur verte (**Figure 07**), et les fruits sont coupés finement en petits morceau de couleur rouge foncé (**Figure 08**), le matériel végétal obtenu (poudre de feuilles et morceaux de fruit) est conservé dans des sachets en papier.

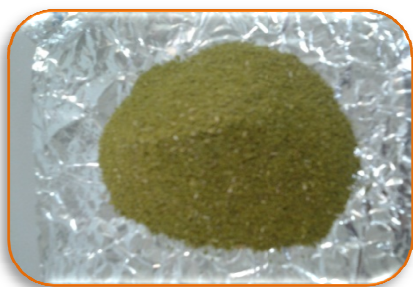


Figure 07 : Poudre végétale des feuilles de *Arbutus unedo* L.



Figure 08 : Morceaux de fruits secs de *Arbutus unedo* L.

II-1-Screening phytochimique

II-1-1-Principe

Ce test phytochimique consiste à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation, ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé (Alaoui-Boukhris, 2009).

II-1-2- Préparation de l'infusé

10 g de poudre végétale sont mise dans 100 ml d'eau distillée bouillante ; après 15 min, le mélange est filtré sur papier filtre (Alaoui-Boukhris, 2009).

a) Recherche des anthocyanes

Nous avons rajouté quelques gouttes d'HCL (acide chlorhydrique) à 5 ml d'infusé. la réaction donne une coloration rouge en présence d'anthocyanes (Paris et Moyse, 1969 ; Debray et al., 1971).

b) Recherche des leuco anthocyanes

2 g de poudre végétale sont mises dans 20 ml d'un mélange de propanol/acide chlorhydrique (1/1) et porté en bain marie bouillant pendant quelques minutes, une coloration rouge se développe en présence des leuco anthocyanes (Bruneton, 1999).

c) Recherche des tanins

Quelques gouttes d'une solution de Chlorure de fer (Fe Cl_3) à 5 % sont ajoutés à 5 ml de l'infusé. La réaction donne une coloration bleue noire en présence des tanins (Bruneton, 1999).

***Tanins catéchiqques**

7 ml de réactif de Stiany (**Annexe I**) sont ajouté à 15 ml de l'infusé , la réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchiqques (**Bekro et al., 2007**).

***Tanins galliques**

2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de Chlorure de fer sont ajouté à 5 ml d'infusé, la réaction donne une coloration bleue foncé en présence des tanins galliques (**Bekro et al., 2007**).

d) Recherche des quinones

***Quinones libres**

2 g de poudre végétale humectés par 2 ml d'acide chlorhydrique, sont mis en contact pendant 3h dans 20 ml de chloroforme, le filtrat obtenu est agité avec 5 ml d'ammoniac(1/2). La présence des quinones libres est indiquée par la formation d'une coloration rouge (**Bruneton, 1999**).

*** Quinones combinés**

2 g de poudre végétale sont additionnés à 5 ml d'acide sulfurique 2 N et porté à reflux pendant 2 h. la solution extractive est filtrée puis épuisé par 20 ml de chloroforme. Cette solution chloroformmique est évaporée à sec puis épuisé par l'ammoniac (1/2). La réaction donne une coloration rouge en présence de quinones combinées (**Bekro et al., 2007**).

d) Recherche des saponosides

Quelques gouttes d'acétate de plomb sont ajoutés à 2 ml de l'infusé , la formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides (**Bruneton, 1999**).

f) Recherche des alcaloïdes

5 g de poudre végétale humecté avec l'ammoniac (1/2) sont macérées pendant 24 h dans 50 ml d'un mélange éther/chloroforme (3/1). Le filtrat est épuisé par l'acide chlorhydrique. Des réactions de précipitations sont effectuées sur la solution chlorhydrique, en présence d'alcaloïdes, le réactif de Dragendorff (**Annexe I**) donne un précipité rouge (**Bruneton, 1999**).

g) Recherche des coumarines

2 g de poudre végétale sont portée à reflux dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 min puis filtré. A 5 ml du filtrat nous avons ajouté 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10 % et quelques gouttes d'HCL à 10 %. La formation d'un trouble indique la présence des coumarines (**Bruneton, 1999**).

I) Recherche des flavonoïdes

À 5 ml d'infusé sont additionnée 5 ml d'HCl, un coupeaux de Mg et 1ml d'alcool iso-amylque. La réaction donne une coloration rouge orangé en présence des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

j) Recherche des glucosides

À 2 g de poudre végétale sont ajoutées quelques gouttes de l'acide sulfurique (H₂SO₄). La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides (**Dif, 2011**).

k) Recherche des mucilages

1 ml de l'infusé est ajouté à 5 ml d'alcool absolu. La formation d'un précipité floconneux blanc montre la présence des mucilages (**Paris et Moyses, 1976**).

II-2-Etude toxicologique

Avant d'examiner l'activité thérapeutique d'une plante ou ces constituants, il est nécessaire de connaître sa toxicité (**Meyer, 1977**).

A-Principe :

Il consiste l'administration de dose croissante des extraits aqueux des feuilles et des fruits

à plusieurs lots de souris répartis d'une manière homogène. Les souris de chaque lot reçoivent la même dose de l'extrait aqueux (**Miller et Tainter, 1944**).

B-Mode opératoire :

Pour réaliser ce test, 9 lots de 5 souris chacun dont le poids varié entre 18 g et 22 g sont préparés :

- un lot témoin recevant de l'eau physiologique.
- 4 lots expérimentaux recevant les extraits aqueux des feuilles à des doses de :
2, 4, 6 et 10 g/kg du poids corporel.
- 4 expérimentaux recevant les extraits aqueux des fruits à des doses de :
2, 4, 6 et 10 g/kg du poids corporel.

La préparation des solutions administrées est illustrée en **Annexe I**. Les souris sont mises à jeun la veille du test, l'eau n'est pas limitée. Le lendemain une dose unique des extraits aqueux des feuilles et des fruits de l'*Arbutus unedo* L. est administrée aux souris par voie orale, à des doses de 2, 4, 6 et 10 g/kg du poids corporel à un volume de 0.5 ml pour chaque souris.

L'observation des effets toxiques des extraits aqueux de l'arbousier sur les souris, ainsi que le nombre de mortalités, se fait tous les jours et ce durant les 14 jours qui suivent l'administration.

Les souris qui meurent pendant l'essai à la fin de l'expérience sont autopsiées (**Journal officiel des communautés européenne, 1992**).

-le but de l'étude de la toxicité aiguë est de déterminer la dose létale (DL50) qui est définie comme : l'estimation statistique d'une dose unique de produit supposée tuer 50% des animaux (**Frank et al., 1992**).

Selon **Viala (1998)**, pour une substance administrée par voie orale :

- Elle est extrêmement toxique, si la DL50 est inférieure à 5mg/kg.
- Elle est très toxique, si la DL50 est compris entre 5 et 50 mg/kg.
- Elle est peu toxique, si la DL50 est compris entre 0.5 et 5 g/kg.
- Elle n'est pas toxique ou l'est très peu, si la DL50 est supérieur à 5g/kg.

Le protocole expérimental de l'étude toxicologique est résumé dans la **Figure 09**.

Mise des souris à jeun la veille du teste



Pesée et marquage des souris



Préparation des extraits a testés

Administration de solutions préparées



Privé les souris de nourriture pendant 4 heures

Observation des souris pendant 14

Figure 09 : Protocole expérimental du test limite de la toxicité aigue

II-3-Etude des activités biologiques

II-3-1-Evaluation de l'activité diurétique

A-Principe :

Le principe de l'étude consiste à mesurer l'excrétion urinaire chez le rat mis en surcharge saline (Colot, 1972).

Le protocole expérimental est un protocole standardisé utilisé par le laboratoire de pharmaco-toxicologique au CRD du groupe SAIDAL d'EL Harrache (Alger).

B-Mode opératoire :

les rats sont pesés et numérotés au niveau de leur queues par des traits horizontaux.

Les rats sont mis à jeun de nourriture et de boisson 18 h avant le test, et répartis en 4 lots de 5 rats.

Nous administrons pour les 4 lots, par voie intra-gastrique à l'aide d'une sonde gastrique, la solution physiologique NaCl à 0.9% sous un volume totale de 50 ml/kg du poids corporel.

Les poids des rats et les volumes de l'eau physiologique (Na Cl 0.9%) administrée pour chaque rat sont mentionnés dans le **Tableau III en Annexe II**.

Les 4 lots reçoivent les solutions suivantes :

- Lot témoin : chaque rat reçoit 2 ml d'eau physiologique.
- Lot essai 1 : chaque rat reçoit 2 ml de produit de référence (Furosémide) à une dose de 25 mg/kg
- Lot essai 2 : chaque rat reçoit 2 ml de l'infusé des feuilles à une dose de 2 g/kg
- Lot essai 3 : chaque rat reçoit 2 ml de l'infusé des fruits à une dose de 2 g/kg

A la fin de l'expérimentation chaque rat est placé dans une cage métabolique individuelle et sont mises en observation chaque heure.

➤ **Expression des résultats**

Les rats sont mis en observation pour la quantité d'urine excrétée chaque heure pendant les 6 heures après l'administration du produit.

Selon **Colot, (1972)**, l'excrétion urinaire volumétrique (EUV) est déterminée sur la quantité d'urine recueillie par la formule suivante :

$$\text{EUV \%} = \frac{\text{Volume recueilli (ml)}}{\text{Volume administré (ml)}} * 100$$

Le pourcentage d'augmentation de volume d'urine est calculé par la formule suivante (**Colot, 1972**) :

$$\text{Pourcentage d'augmentation} = \frac{E - T}{T} * 100$$

E : Volume d'urine recueillie de lot d'essai (ml).

V : Volume d'urine recueillie de lot témoin (ml).

La signification statistique est calculée par le test du Tukey et Anova.

Le protocole de l'activité diurétique est illustré dans la **Figure 10**.

Marquage

Pesée des rats

Préparation des solutions

Administration aux rats 50 ml/kg de l'eau

Après 30 min, administration aux rats 2 ml de produit



Chaque rat est placé dans une cage à métabolisme



Mesure de la quantité d'urine excrétée chaque heure pendant six heures



Figure 10 : Protocole expérimental de l'activité diurétique

II-3-2-Evaluation de l'activité anti inflammatoire des extraits aqueux des feuilles et des fruits de l'arbousier

A-Principe

L'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester et du produit de référence correspondant (**Levy, 1996**).

B-Mode opératoire

Le test consiste à évaluer l'effet anti inflammatoire de l'extrait aqueux sur l'œdème des pattes postérieures après injection de carraghénine à 0,1 % chez les souris.

1- Produit de référence

Chaque souris reçoit 0,025 ml de diclofénac à la dose 0,01 mg/ml. La mise en évidence de l'activité anti inflammatoire a été réalisée selon la méthode de **Levy, (1969)** et reprise par **Berkan et al. , (1991)**.

La préparation des solutions administrées est illustrée en **Annexe I**

Les souris testées sont repartis en 4 lots de 6 souris, chacun est mise à jeun la veille du test.

-A T0 : Nous avons administrés aux 3 lots les suspensions suivantes :

*Lot témoin : Chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau distillée.

*Lot essai 1 : Chaque souris reçoit 0,5 ml de l'extrait aqueux des fruits à : 0.5g/kg, 2.2 g/kg et 3g/kg.

*Lot essai 2 : Chaque souris reçoit 0,5 ml de l'extrait aqueux des feuilles à : 0.5g/kg, 2.2 g/kg et 3g/kg.

*Lot essai 3 : Chaque souris reçoit 0,025 ml du produit de référence diclofenac (0.01 mg/ml).

-A T0 +30 min : La solution de carraghénine est injectée sous l'aponévrose plantaire de la partie arrière gauche sous un volume de 0,025 ml à tous les animaux mise en expérience.

-A T0 + 4 h : Les animaux ont été sacrifiés par l'éther.

* Les pattes postérieures gauches sont coupées à hauteur de l'articulation et est pesés sur une balance analytique.

C-Expression des résultats

1- Les moyennes arithmiques des poids de la patte gauche et la patte droite sont calculées pour chaque lot.

2-Le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (pourcentage d'œdème) est calculée par la formule suivante :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{MPPG} - \text{MPPD}}{\text{MPPD}} * 100$$

MPPG : moyenne des pattes gauches.

MPPD : moyenne des pattes droites.

3-Le pourcentage de réduction de l'œdème est calculé chez les souris traitées par rapport aux témoins.

$$\% \text{ de réduction d'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essais}}{\% \text{ d'œdème témoin}} * 100$$

La signification statistique est calculée par le test du Tukey et Anova.

Le protocole expérimental de l'activité anti-inflammatoire est illustré dans la **Figure 11**.

Marquage de souris



Pesée des souris

Préparation des solutions

Gavage



Injection de carraghénine



Sacrifice par l'éther

Coupure des pattes



Pesée des pattes gauches et droites

Figure 11: Protocole expérimental de l'activité anti-inflammatoire

II-3-3-Evaluation de l'activité anti-oxydante

Notre choix est porté sur l'utilisation d'un seul test chimique : le piégeage du radical 1,1-diphényl -2-picrylhydrazyl (DPPH).

1-Principe

Le DPPH est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. A température ambiante, le radical DPPH présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons. Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre par une diminution de l'absorbance à 517 nm (**Masuda et al., 1999**).

2-Mode opératoire

Le test du DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par **Mansouri et al., (2010)**. Pour la mesure de l'activité, 0.1 ml de l'extrait à tester à différentes concentrations (de 0.2% jusqu'à 2%) est mise en évidence de 3.9 ml de la solution méthanoïque de DPPH (solubilisation de 2.4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol absolu). Le mélange est placé pendant 30 min à l'obscurité pour réagir et l'absorbance est mesuré à 517 nm contre un témoin négatif (sans extrait). L'antioxydant de synthèse est l'acide ascorbique.

3-Lecture des résultats

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

$$PI\% = \frac{DO \text{ Blanc} - DO \text{ Echantillon}}{DO \text{ Blanc}} * 100$$

PI: pourcentage d'inhibition

DO Blanc: absorbance du Témoin négatif (sans extrait)

DO échantillon : absorbance de l'extrait

➤ Calcul de l'IC50

IC50 ou concentration inhibitrice 50 (aussi appelée EC50 pour *Efficient concentration* 50), permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Ces dernières sont calculées graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées (**Bertoncelj et al., 2007**).

Chapitre III

Résultat et Discussion

I- Screening Phytochimique :

Les résultats de screening phytochimique des feuilles et des fruits de la plante étudiée *Arbutus unedo* L. sont regroupés dans le **Tableau IV**.

Tableau IV: Résultats de screening chimique des feuilles et des fruits de l'arbousier.

	Résultats de l'extrait des feuilles		Résultats de l'extrait des fruits	
	Les feuilles	Réaction	Les fruits	Réaction
Les métabolites secondaires				
Les Anthocyanes	+	Coloration rouge	+	Coloration rouge
Les Leuco anthocyanes	+	Coloration rouge foncé	+	Coloration rouge foncé
Les tanins	+	Coloration bleu noire	+	Coloration bleu noire
Les tanins galliques	+	Coloration bleu noire	+	Coloration bleu noire
Les tanins catechiques	-	Pas de virage de couleur	+	Coloration rouge
Les Saponosides	+	Présence d'un précipité blanc	+	Présence d'un précipité blanc
Les Senosides	+	Coloration rouge	+	Coloration violette
Les quinones libres	-	Pas de virage de couleur	-	Pas de virage de couleur
Les quinones combinées	-	Pas de virage de couleur	-	Pas de virage de couleur
Les alcaloïdes	-	Pas de virage de couleur	-	Pas de virage de couleur
Les flavonoïdes	+	Coloration rouge orangé	+	Coloration orange
Les glucosides	+	Coloration violette	+	Coloration violette
Les mucilages	+	Présence d'un précipité blanc	+	Présence d'un précipité blanc
Les coumarines	+	Formation d'un trouble	+	Formation d'un trouble

(+) présence (-) absence

Les résultats expérimentaux de l'étude phytochimique (**Tableau IV**) mené sur 2 extraits aqueux (extrait des feuilles et extrait des fruits) de *Arbutus unedo* L. ont montré la présence de quelques composés phénoliques à savoir : les flavonoïdes, les anthocyanes, les leucoanthocyanes, les tanins galliques, les coumarines; la présence des saponosides, des senosides, des glucosides et les mucilages ; par contre la recherche des quinones (libres et combinés) et des alcaloïdes s'est révélées négative ; de plus, la recherche des tanins catéchiques s'est révélées positive uniquement pour les feuilles.

Nos résultats concordent avec ceux trouvés dans d'autres études sur la plante *Arbutus unedo* L., et qui ont montré la présence des glucosides (**Agaz et al., 2000**), les acides phénoliques (coumarines) et les anthocyanes (**Alarcao-E-silva et al., 2001**), les tanins et les flavonoïdes (**Pallauf et al., 2008**) et (**Iserin, 2001**).

D'après **Males et al., (2006)**, La détermination spectrophotométrique a indiqué que les feuilles sont plus riches en flavonoïdes que les fruits .

II- Etude toxicologique

Les résultats du test limite que nous avons effectués pour déterminer la toxicité aiguë de l'*Arbutus unedo* L. sont résumés dans le **Tableau** ci-dessous:

Tableau V: Résultats du test limite de la toxicité aiguë des extraits aqueux.

lots	Produits admenistrés	Taux de mortalité %			
		2 g/kg	4 g/kg	6 g/kg	10 g/kg
Essai1: 5 souris	Infusé des feuilles	0	0	0	0
Essai2: 5 souris	Infusé des fruits	0	0	0	0
Témoin	Eau physiologique	0			

Au cours de notre étude sur la toxicité aiguë et selon nos conditions expérimentales, les doses utilisées de 2 , 4, 6 et 10 g/kg de l'infusé de *Arbutus unedo* L. (fruits et feuilles) n'a révélée aucune mortalité, ce qui nous permet de dire que la DL50 est supérieur à 10g/kg de poids corporel et que par conséquent la plante étudiée n'est pas toxique ou très peu toxique.

Nos résultats vont dans le même ordre d'idées que ceux avancés par différents auteurs (**Bizouard, et Favier, 1962 ; Bellakhdar, 2003 ; Aouadhi, 2010**) qui montrent que :

Selon **Bizouard, et Favier, (1962)**, la consommation d'une grande quantité de l'arboise provoque des vertiges et des épisodes diarrhéiques assez inconfortables. L'arboise est donc comestible, à condition d'en ingérer des quantités raisonnables. Par contre, pour les sujets atteints de lithiase oxalique, l'arboise, avec sa grande quantité d'oxalate de calcium, ou d'acide oxalique, devrait être éventuellement déconseillée.

Bellakhdar, (2003), signale que la grande consommation surtout à jeun, provoque une certaine ivresse.

D'autre part Aouadhi, (2010), a montré que à forte dose, l'arbousier est narcotique et stupéfiant due à la présence d'une toxine l'andromédotoxine (diterpène tétracyclique), responsable de vomissements et de baisse de tension et pouvant entraîner la mort si elle est absorbée en doses importantes. La consommation en grande quantité des baies provoque des coliques et des effets proches de l'ébriété (les fruits trop murs contiennent une quantité non négligeable d'alcool).

III- Etude des activités biologiques

III-1- Activité diurétique

Les résultats obtenus pour chaque lot sont compilés dans les **Tableaux VI, VII, VIII et IX** en **Annexe II**.

Les résultats de l'activité diurétique sont représentés sous forme de courbe mettant en valeur l'évolution des volumes d'urine en fonction du temps (**Figures 12**) et d'un histogramme mettant en valeur l'évolution des pourcentages d'EUV des lots testés (**Figure13**).

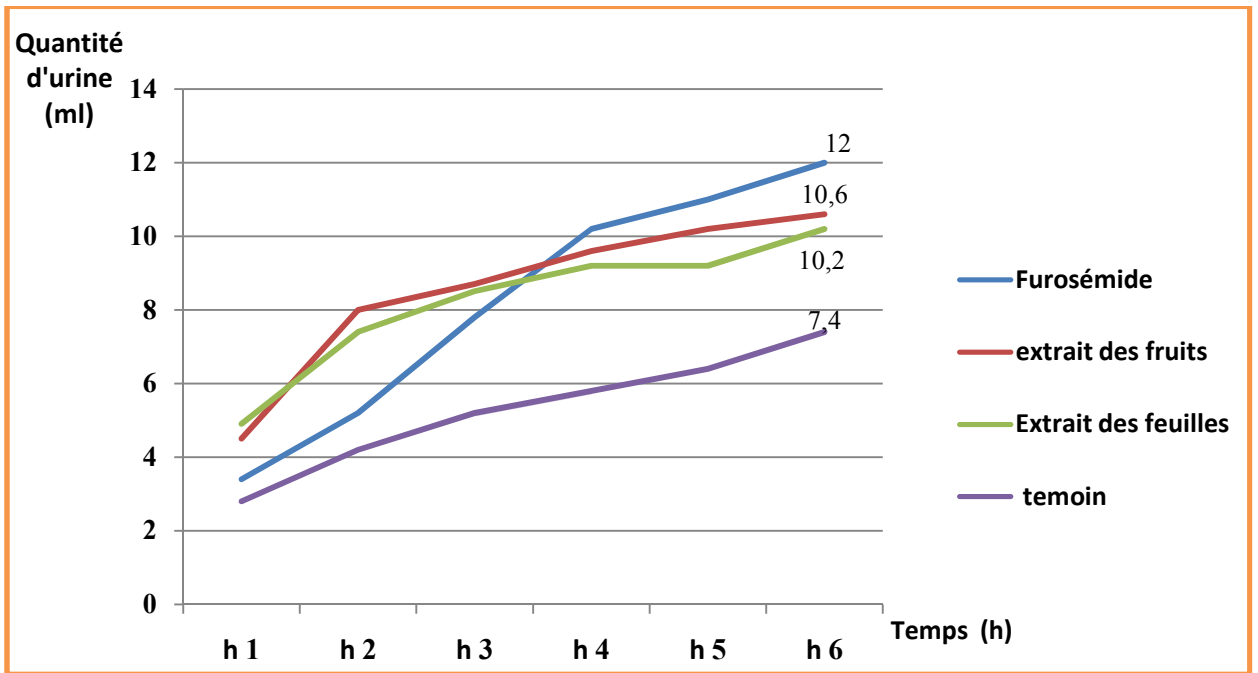


Figure 12 : Evolution des volumes d'urine en fonction de temps.

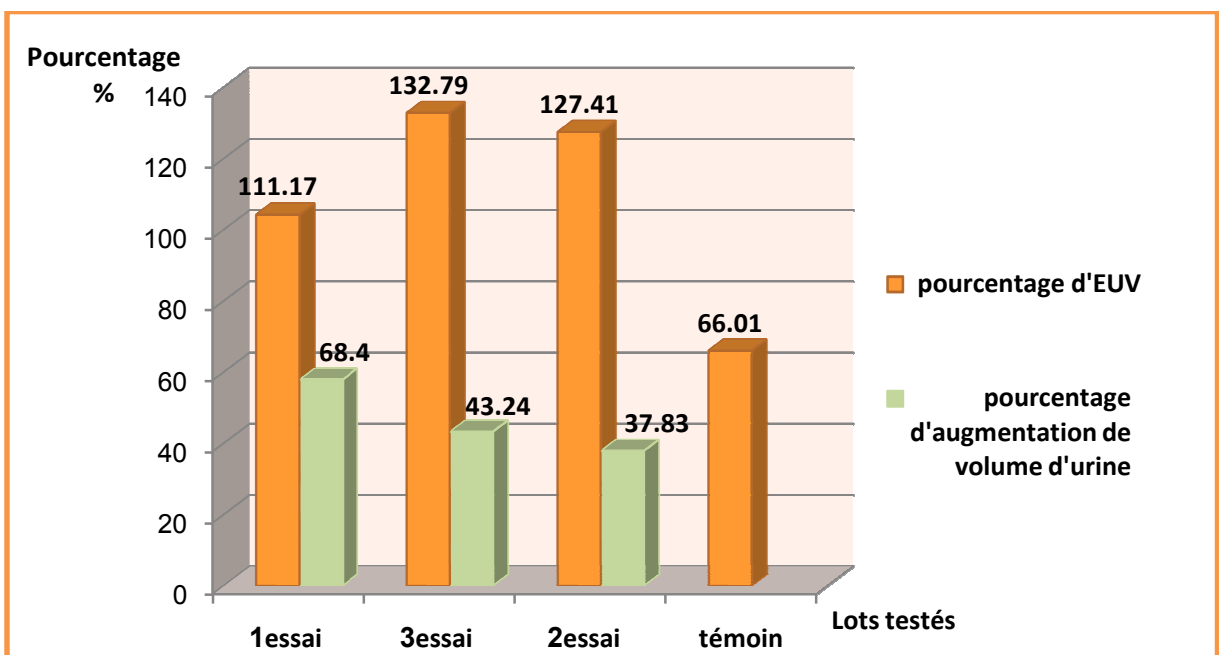


Figure 13 : Pourcentages d' Excrétion Urinaire Volumétrique des lots de rats des différents essai.

Les résultats montrent que la diurèse des rats témoins est de **7,8 ml** et le pourcentage de l'excrétion urinaire volumétrique est égal à **66,01%**.

Concernant le lot essai 1 (Furosémide), la diurèse des rats qui ont reçus le produit de référence est égale à **12 ml**, et l'excrétion urinaire volumétrique est égale à **111,17 %** tandis que le pourcentage d'augmentation de volume d'urine chez ces animaux est de **68,40%**.

Nous remarquons aussi une augmentation des urées de **10,2 ml** chez les rats traités par une solution à base des feuilles ainsi que le pourcentage d'augmentation de l'excrétion urinaire volumétrique est de **127,40 %** et le pourcentage de volume d'urine augmente à **37,83%**.

La diurèse des rats traités par une solution à base des fruits est de **10,6 ml** avec un pourcentage de l'excrétion volumétrique de **132,79%** et une augmentation du pourcentage de volume d'urine à **43,24 %**.

D'après les résultats obtenus de l'étude statistique, nous pouvons constater qu'il y a une différence significatif entre les deux moyennes: lot témoin et lot essai 1, lot témoin et essai 2 (**Tableau XIII en Annexe II**). Cela nous a permis de conclure que l'extrait des feuilles et des fruits d'*Arbutus unedo* L. ont une réelle activité diurétique à la dose de 2 g/kg.

Globalement, l'étude comparative des résultats obtenus nous a permis de constater que les solutions à base de fruits et de feuilles d'*Arbutus unedo* L. augmentent d'une façon remarquable la diurèse, cela indique que la plante étudiée possède un effet diurétique.

Ces résultats sont similaires à ceux cités par **Özcan et Hacisferogullari, (2007)** et **Beloued, (2003)**, chez la même plante.

L'**EMA** approuvent l'usage de certains espèces des éricaceae (busserole, arbousier et canneberge) riche en arbutine, dans le traitement des infections urinaires (cystite, urtrite).

L'arbutine est un hétéroside diphenolique (**Bruneton, 1999**), il libère de l'hydroquinol par hydrolyse au niveau intestinal, porteur de l'activité antifongique et antibactérienne. Cette étape nécessite cependant que les urines soient alcalinisées (boire au minimum 1L d'eau minérale alcaline par jour).

La busserole appartient à la même famille de l'arbousier (Ericaceae) est parfaitement indiquée dans les cystites récidivantes. Etant « traditionnellement utilisée pour favoriser

l'élimination rénale de l'eau » et « comme adjuvant des cures de diurèse dans les troubles urinaires bénins », elle est utilisée en prévention chez les personnes sujettes aux cystites en cas de diurèse insuffisante (Marceau, 2013).

III-2-Activité anti-inflammatoire

L'étude de l'activité anti-inflammatoire des différents extraits de l'arbousier est réalisée par la pesée des pattes droites et gauches des souris répartis en 8 lots (témoin, essai 1, essai 2 et essai 3) en absence et en présence d'un traitement anti-inflammatoire.

Tableau XI: Pourcentage d'augmentation d'œdème et Pourcentage d'inhibition d'œdème de 3 doses de l'extrait de fruits.

	Lot essai 1 (à 0.5 g/kg)	Lot essai 1 (à 2.2g/kg)	Lot essai 1 (à 3g/kg)	Lot Témoin	Lot essai 3 (Diclofenac)
% d'augmentation d'œdème après 4 heures	44.10	17.711	16.55	34.01	20.30
% d'inhibition d'œdème	-29.63	47.91	51.34	0	40.30

Tableau XII : Pourcentage d'augmentation d'œdème et Pourcentage d'inhibition d'œdème de 3 doses de l'extrait de feuilles.

	Lot essai 2 (à 0.5 g/kg)	Lot essai 2 (à 2.2g/kg)	Lot essai 2 (à 3g/kg)	Lot Témoin	Lot essai 3 (Diclofenac)
% d'augmentation d'œdème après 4 heures	48.34	29.37	19.73	34.01	20.30
% d'inhibition d'œdème	-42.10	16.65	41.99	0	40.30

Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition d'œdème des souris qui ont reçus l'extrait des feuilles à une dose de 0.5 g/kg est de -42.10 %, et pour la dose de 2.2g/kg le pourcentage d'inhibition d'œdème est égal à 16.65%.

Dans nos conditions expérimentales, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles était significative après 4h avec un pourcentage d'inhibition de l'œdème de 41,99% à une dose de 3 g/kg.

Pour l'extrait aqueux des fruits, le pourcentage d'inhibition d'œdème est: -29.63 % à une dose de 0.5 g/k; 47.91% pour 2.2 g/kg et 51.34 % pour 3 g/kg.

Par ailleurs nous avons utilisé le test Tuckey pour l'analyse statistique pour nos résultats du lot de souris traités par les deux extraits avec le lot témoin.

Nous avons constaté que les résultats ont été statistiquement significatifs (**Tableau XIII et XIV en Annexe II**), Après 4 heures. Cela nous a permis de consigner que l'extrait des feuilles et des fruits de *Arbutus unedo* L. ont une réelle activité anti-inflammatoire à la dose de 3 g/kg.

L'activité anti-inflammatoire de nos extraits peut s'expliquer en partie par la présence des flavonoïdes. Selon **Bruneton (1999)**, les flavonoïdes sont principalement connus pour leur activité anti-inflammatoire.

De nombreuses études ont prouvé que les flavonoïdes déploient leurs activités pharmacologiques, notamment anti-inflammatoires, par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation. En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro inflammatoires très actives. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase, de la cyclooxygénase et de la phospholipase A2 (**Manthey et al., 2000**). Certaines kinases (PKC, la PI3kinase et tyrosine kinases) impliquées dans la réponse inflammatoire sont aussi affectées par les flavonoïdes (**Middleton et al., 2000**). La présence de la double liaison C2=C3 dans le noyau des flavonoïdes semble être essentielle à leur activité anti-inflammatoire (**Kim et al., 1996**).

Les saponines ou saponosides sont des composés produits naturellement par certaines plantes, caractérisées par leurs propriétés tensioactives leur conférant un pouvoir moussant. Différentes saponines isolées comportent des propriétés immunomodulatrice, cytotoxique, antitumorale, anti-inflammatoire (**Cuy b., 2010**).

III-3-Activité antioxydant

Après 30 min l'absorbance est mesurée à 517 nm par un spectrophotometre. La capacité de la réduction du radical libre DPPH pendant le temps de 30 min par les deux extraits de la plante et par l'acide ascorbique, est représenté par les **Figures 14, 15 et 16**.

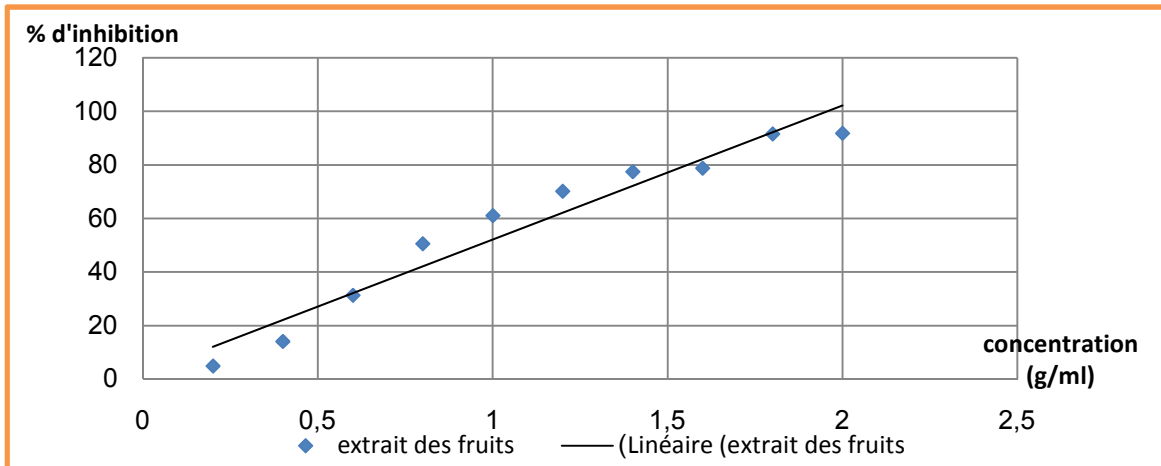


Figure 14: Evolution du pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l'extrait des fruits.

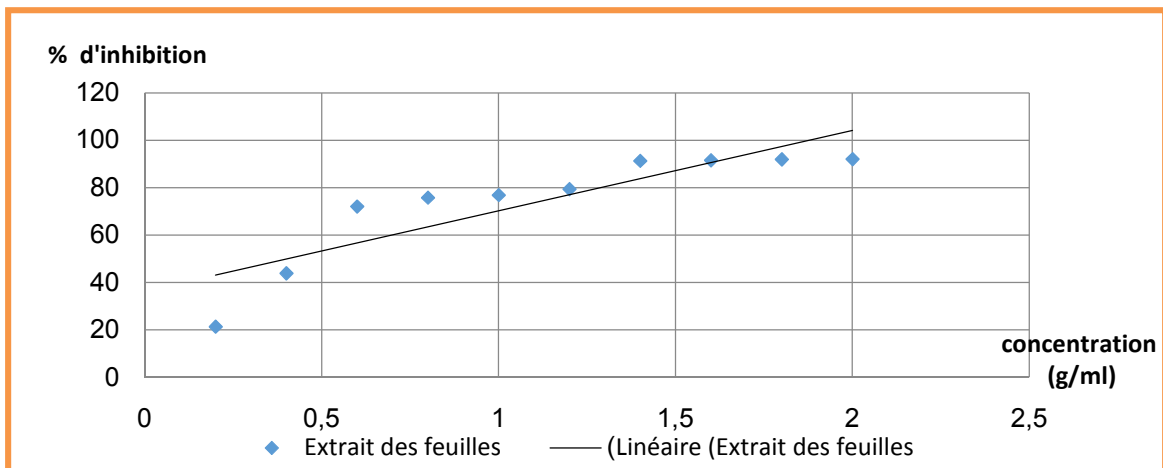


Figure 15: Evolution du pourcentage d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations de l'extrait des feuilles.

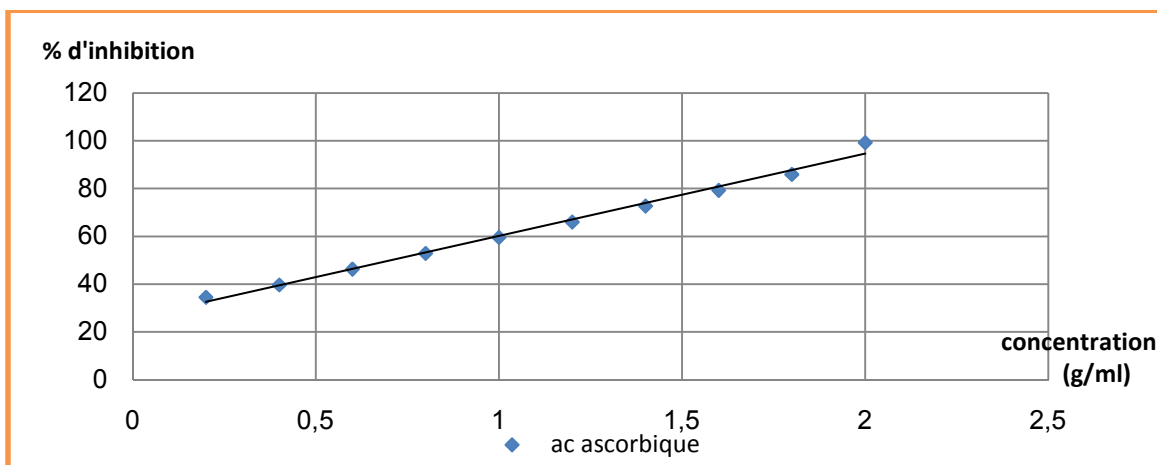


Figure 16: Evolution du pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

A partir des représentations graphiques Nous avons déterminé les valeurs des IC50 de chaque extrait testé (**Tableau XV**)

Tableau XV: Les valeurs des IC50 de chaque extrait testé.

Extrait	IC50 (g/ml)
Fruits	0.87
Feuilles	0.29
AC ascorbique	0.69

Le meilleur résultat obtenu à été celui de l'extrait des feuilles (IC50= 0.29 g/ml) qui a donné une activité antioxydante supérieure à celui de l'acide ascorbique (IC50= 0.69 g/ml), par rapport à celui des fruits (IC50= 0.87 g/ml).

L'activité antioxydante est déterminé par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH à 517 nm, qui est du à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H, par les antioxydants (AH) donneurs d'hydrogènes présent dans l'extrait végétal ou par une autre espèce radicalaire comme le montre les équations suivantes (**1 et 2**) (**Maisuthisakul *et al.*, 2007 ; Da Silva Pinto, 2008**) :

DPPH (violet) + AH (flavonoïde) \longrightarrow DPPH-H (jaune) + A' (radical flavonoxy) (1)

DPPH + R' \longrightarrow DPPH-R (2)

L'étude phytochimique sur les extraits des feuilles et des fruits de *Arbutus unedo* a révélé la présence des coumarines, qui ont des capacités de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyle superoxydes et peroxydes (Caesar, 2007).

Le screening phytochimique a révélé aussi la présence des flavonoïdes et des tanins catechiques. Selon Aruoma et al., (1995) et Bahorun (1997), les flavonoïdes sont reconnus pour leur activité antioxydante.

À cause de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes (Fl-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants (R*), comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle, par transfert d'hydrogène et le radical Flavonoxy (Fl-o) qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure stable (Jovanovic et al., 1994)

Ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante : $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} (\text{Cu}^+) \rightarrow \cdot\text{OH} + \cdot\text{OH} + \text{Fe}^{3+} (\text{Cu}^{2+})$ (Brown, 1998 ; Dacosta, 2003).

Et d'après les travaux d'Okuda et al., (1983) et Okamura et al., (1993), les tanins catechiques présentent également des propriétés antioxydantes. Cela nous a permis de dire que l'extrait des feuilles et des fruits d'*Arbutus unedo* L. ont une bonne activité antioxydante.

Conclusion

Notre étude à portée sur une plante médicinale connue scientifiquement sous le nom de *Arbutus unedo L.*, en Algérie appelée Lendj. Ce travail avait pour objectif de déterminer la composition chimique des feuilles et des fruits de cette plante et d'étudier certain effets éventuellement thérapeutiques.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence des principes bioactifs dans nos échantillons (feuilles et fruits): des tanins, des anthocynes, des flavonoïdes, des glucosides, des saponosides, des coumarines et des mucilages.

L'administration des extraits aqueux des feuilles et des fruits de l'arbousier à des doses de 2, 4, 6 et 10 g/kg, n'a montré aucun signe de toxicité aiguë.

Par ailleurs nous avons constaté que la plante avait un effet diurétique remarquable avec une moyenne de 127.4 % d'EUV pour les feuilles et 132.7 % d'EUV pour les fruits par rapport au produit de référence furosémide (111.1 %).

Pour l'effet anti-inflammatoire, le pourcentage d'inhibition d'œdème augmente avec la concentration de l'extrait aqueux. A une dose de 3 g/kg les 2 extraits ont donnés un effet plus efficace (41.9% pour les feuilles et 51.3% pour les fruits) que le Diclofenac (40.3%).

Concernent l'activité antioxydante, les 2 extrais aqueux de feuilles et de fruits de l'arbousier et selon la méthode de piégeage de DPPH, ont montré une forte activité (IC₅₀= 0.29 g/ml pour feuilles et IC₅₀= 0.87 g/ml pour les fruits) par rapport à l'acide ascorbique (IC₅₀= 0.69 g/ml).

Nos résultats montrent que l'arbousier contient des composés doués d'une forte activité antioxydante ainsi que des activités anti inflammatoires et diurétiques intéressante. L'étude a révélé aussi que l'arbousier n'est pas toxique à une forte dose de 10 g/kg.

Comme perspective, il sera judicieux d'effectuer d'autres analyses tel que :

- Des recherches complémentaires pour identifier, isoler et purifier ces constituants.
- Refaire les même testes « in vitro » pour chaque famille afin de cibler la marge moléculaire active.
- Evaluer les seuils de toxicité en précisant la DL₅₀.
- Enfin proposer d'éventuelles préparations galéniques.

Références Bibliographique

- ✚ Address, E ETBruyans, P.V., 2006, a revised classification of the Apocynaceae, *Botanicalrevue*, (66), pp 1-56.

- ✚ Alaoui-boukhris M., 2009. Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaire. Mémoire de Master, Faculté des sciences et technique, pp 73.

- ✚ Alarcão-E-Silva, M. L. C. M. M., Leitão, A. E. B., Azinheira, H. G., &Leitão, M. C. A. (2001). The arbutus berry: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14,pp 27–35.

- ✚ Ali Delille, 2011.les plantes médicinales d’Algérie, Berti, 16p.

- ✚ Aouadhi S., 2010, Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle, l’étude de 57 plantes recommandés par les herboristes, Thèse de Master, Tunis, pp 65.

- ✚ Arif, M.I., rafiq M.et ghaffar A., 2009.host plants of cotton mealybug (*phenacoccus solanopsis*): A new menace to cotton agro-ecosystem of punjab.pakistan.*Int.J.agri.bio* 1.1, pp 163-167.

- ✚ Aruoma,O.I.,spencer,J.P.E,butler,J et Halliwell,B.,1995.commentary reaction of plant-derived and synthetic antioxydants with trichloromethylperoxyradicals.*free Rad*,22,pp 187-190.

- ✚ Aviram, M. ETFuhrman, B.;2002.Wine flavonoids protect against LDL oxidation and atherosclerosis, *Ann NY AcadSci*. 957, pp. 146–161.

- ✚ Ayaz, F.A., Kucukislamoglu, M., Reunanen, M., 2000. Sugar, nonvolatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoids*) fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*.13, pp 171-177.

- ✚ Baba aissa, 2011.encyclopédie des plantes. Edition el maarifa. PP 26.

- ✚ Babo D., 2007, l’encyclopédie des fruits, paris, Edition Désris. pp 24.

- ✚ Bahorun, T., 1997. substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle .food and agricultural research council. pp 83-94.
- ✚ Bekro Y.A., Janat A., Fézékro M., bouab., Féan H. et Ehouan E., 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *caesalpinia benthamiana* (Baill). 22 J science et Nature .4N°2 : PP 217-225.
- ✚ Bellakhdar J., 2013. le maghreb à travers ses plantes, Alger, BARZAKH. pp 70-71.
- ✚ Beloued A., 2003. plantes médicinales d'Algérie, Alger, OFFICE DES PUBLICATIONS UNIVERSITAIRES. pp 32-3.
- ✚ Bernadet, M., 1983. la phytotho-aromathérapie pratique. Bangles, France. pp 384.
- ✚ Berton H , 2001. sorcellerie en auvergne. Édition de borée. pp 288.
- ✚ Brown J.E., Khodr H., Hider R.C. et Rice-Evans C. (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. Biochem. J. 330: 1173-1178.
- ✚ Bruneton J, 1999. pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Édition technique et documentation, paris. pp 1120.
- ✚ Caesar LN. 2007. Étude de la phytochimie et des activités biologiques de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle gabonaise : *Terminalia catappa* Linn. (Combretaceae) et *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. (Crassulaceae). Thèse de Doctorat Université de Bamako Mali 142p.
- ✚ Carcache-Blanco, J.F.; Cuendet, M.; Park, E.J.; Su, B.-N., Rivero-Cruz, J.F.; Farnsworth, N.R.; Pezzuto, J.M.; Kinghorn, A.D, 2006. Potential cancer chemopreventive agents from *Arbutus unedo* L. Nat. Prod. Res. 20, pp 327–334.
- ✚ Cécile L., 2004, les plantes toxiques, Paris, JEAN-PAUL GISSEROT pp 2.

- ✚ Claire P., Mathieu M. et al, 2007, thérapeutique diurétique, NEPHROLOGIE & THERAPEUTIQUE, pp393.
- ✚ Clayden J.,wanen S.et greeves N.,2002.chimie organique,edition de Boeck supérieur,pp 1009.
- ✚ Cohen Y et Jacquat C., 2008, pharmacologie (6eme édition), MASSON, pp 268.
- ✚ Collin S.et crouzet J., 2011 : polyphénols et procédés.ed.lavoisier, pp 337.
- ✚ Colot, 1972, Notion technique de pharmacologie générale, Paris : Masson, pp 56.
- ✚ Cuy b., 2010, isolement et caractérisation des saponines des trois plantes de la famille des arliaceae et dracanceae et evaluation de leurs activités cytotoxique sur les cellules tumorale. Thèse de doctorat, LORRAINE, France, pp 120.
- ✚ Da Silva Pinto, M., Maria Lajolo, F., Inés Genovese, M.,2008. Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.), Food Chemistry, 107, pp1629-1635.
- ✚ DebreyM ;jacquemin,H ;Razofindrambo,R., 1971. Travaux et documents de l'orstom, paris,N°08.
- ✚ Dib, M.A., Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de quelques polyphénols présents dans *Arbutus unedo* L., Thèse de Doctorat, Tlemcen, 2008. pp 140.
- ✚ El Haouari, M., Lépez,J.J., Mekhfi,H., 2007.Antiaggregant effects of *Arbutus unedo* extracts in human platelets, J. Ethnopharmacology, 113, pp 325-331.
- ✚ El Ouarti, A.; Haouat, A.C.; Sqalli, H.; Haggoud, A.; Ennabili, A.; Ibsouda, S.; Iachagar, M.; Iraqui, M ,2012. Extra- and intracellular antimycobacterial activity of *Arbutus unedo* L. Afr. J. Microbiol. Res., 6, pp 1283–1290.

- ✚ Frély, R., 2006, votre beauté par les plantes, édition boré, pp 255.

- ✚ Ganhao, R., Morcuende, D., Estevez, M. (2010). Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on color and texture deterioration during chill storage. *Meat Science*, 85(3), pp 402–409.

- ✚ Gayon pascal Ribéreau, 1968.les composes phénoliques des végétaux.editionDunod,pp 254.

- ✚ GaZegel J-M.,orecchioni A-M.,2013.le préparateur en pharmacie.ed.tec et doc-lavoisier, pp1856.

- ✚ Gherib A, 1988 : Travaux pratiques de chimie thérapeutique diagnose des médicaments. Office des Publication Universitaire. P 105.

- ✚ Hopkins William G., 2003.physiologie végétale.edition de boecksupérieur,pp 532.

- ✚ Isbilir, S.S.; Orak, H.H.; Yagar, H.; Ekinci, N, 2012. Determination of antioxidant activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) flowers and fruits at different ripening stages. *Acta Sci. Pol.*, 11, pp 223–237.

- ✚ Iserin P., 2001, Encyclopédie des plantes médicinales, LAROUSSE, pp 170.

- ✚ Jovanovic S.V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B.,and Simic M.G. (1994). Flavonoids asantioxidants.*J. Am. Chem. Soc.*116: 4846-4851.

- ✚ Anonyme, Journal officiel des communautés européenne, 1992

- ✚ Kaddem S., 1990, les plantes médicinales en Algerie, Alger, Bouchene et Ad. DIWAN, pp 21.

- ✚ Kahriman, N.; Albay, C.G.; Dogan, N.; Usta, A.; Karaoglu, S.A.; Yayli, N. 2010. Volatile constituents and antimicrobial activities from flower and fruit of *Arbutus unedo* L. *Asian J. Chem.*, 22, pp 6437–6442.
- ✚ Kim HP, Son KH, Chang HW and Kuang SS (1996). Flavonoids: Potential anti-inflammatory agents. *Nat Prod Sci*, 2(1), pp 1-8.
- ✚ Kivcak, B.; Mert, T.; Ertabaklar, H.; Balcioglu, I.C.; Töz, S.O,2009. *In vitro* activity of *Arbutus unedo* against *Leishmania tropica* promastigotes. *Turk. Soc. Parasitol.*, 33, pp 114–115.
- ✚ Lacoste S., 2011, les plantes qui guérissent : les secrets de la phytothérapie, ED TALANTI KI, 414.
- ✚ Larousse, 1992, dictionnaire usuel, paris, Larousse, pp 288,300,644,696,735.
- ✚ Levy L., 1969. carrageenan paws edema in the mouse. *life science* 8, PP601-606.
- ✚ Mahboubi M., 2011, plantes médicinales de méditerranée et d'orient, France, SABIL, pp 13.
- ✚ Maisuthisakul, P., Suttajit, M., Pongsawatmmit, R., 2007. Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some Thai indigenous plants, *Food Chemistry*, 100: pp1409- 1418.
- ✚ Maisuthisakul, P., Suttajit, M., Pongsawatmmit, R., Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some Thai indigenous plants, *Food Chemistry*, 100: 1409- 1418, 2007.
- ✚ Males, Z., Plazibat, M., Vundac, V.B., Zunta, I., 2006. Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree – *Arbutus unedo* L. (Ericaceae). *Acta Pharm.* 56, pp 245–250.

- ✚ Ntihagowumwe E, 2005 :Etude des propriétés pharmacologiques du séné algérien (esp : *Cassia acutifolia*) et sa micro propagation in-vitro. Mémoire d'ingénieur d'état .pp 23-25.

- ✚ Okamura ,H.,Mimura,A.,Yakou,Y.,Niwanou,M .et Takahara,Y.,1993.Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. phytochem..33,pp557-561.

- ✚ Okuda, T.,Kimura, Y.,Yoshida,T .,Hatano,T.,okuda,H.et Arichi,S.,1983.studies on the activities of tannins and related compounds from médicinal plants and drugs.I.inhibitory effects of lipid peroxidation in metochondria and microsome of liver.chem.pharm.Bull.,31,pp 1625-1631.

- ✚ Orak, H.H.; Yagar, H.; Isbilir, S.S.; Demirci, A.Ş.; Gümüş, T.; Ekinci, N. 2011.Evaluation of antioxidant and antimicrobial potential of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf. Food Sci. Biotechnol. , 20, pp 1249–1256.
- ✚ Pallauf, K.; Rivas-Gonzalo, J.C.; del Castillo, M.D.; Cano, M.P.; de Pascual-Teresa, S.,2008. Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo*L.) fruits. J. Food Compos. Anal. 2008, 21, pp 273–281.

- ✚ Pari, S. et Moyse,H.,1969 .précis de matière.paris:Masson.

- ✚ Pawlowska, A.M.; de Leo, M.; Braca, A.,2006. Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. J. Agric. Food Chem. 54, pp 10234–10238.

- ✚ Pincemail, J, bonjean, k, cayeux, k, defraigne, j,2002. mécanisme physiologique de la défenseantioxydant. pp 233-239.

- ✚ Prior RL, wox, schach K.,2005.standardized Methods for determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements.journal of agricultural and food chemistry.53 (10):pp 4290-4302.

- ✚ Raynand, J., 2005. prescription et conseil en phytothérapie.la voisier, 215p.

- ✚ Roland J.C., 2002, des plantes et des hommes, Paris : Vuibert, 165pp : 111.
- ✚ Samouelian, F., Gaudinvalérie, Boccara, M.,2009.génétique moléculaire des plantes.edition Quae,208p.
- ✚ Santelli, M., 2012.chimie bio-organique.edition.lavoisier, 384p.
- ✚ Sauvion, N.,calatayud P.A.,thiléry D.,Marion-poll F.,2013.Interactions insects-plantes.ed.Quae,784p.
- ✚ Scimeca, D et Tétou, M., 2008, le guide de phytothérapie, la santé par les plantes, ED ALPEN, pp 279.
- ✚ Sherwood, E., Traber, D.2007. The systemic inflammatory response syndrome. In:Herndon DH, editor. Total burn care. 3rd edn., Saunders-Elsevier;pp,293–309.
- ✚ Tardío, J., Pardo-de-Santayana, M., & Morales, R. (2006). Ethnobotanical review of wild edible plants in Spain. Botanical Journal of Linnean Society, 152,pp 27–71.
- ✚ Teofrasto ,1988. Historia de las plantas. Spanish translation of the original Greek work written by Theophrastus in the 3rd century B.C. Madrid: Editorial Gredos.
- ✚ Tomlinson A, Appleton I, Moore AR, GilroyDW,Willis D, Mitchell JA, et al.1994 Cyclo-oxygenase and nitricoxidesynthaseisoforms in rat carrageenan induced pleurisy. Br J Pharmacol; 113;pp 693–698.
- ✚ Valnet J., 2010, la phytothérapie, Paris, MaloineS.A,pp 144.
- ✚ Viala, A.1998.eléments de toxicologie. Techniques et documentation, pp512.
- ✚ Volak, J, .stodola,J. et Severa F,1987 .plantes médicinales.Grund,paris,pp 319.

- ✚ Wang S.Y; Shyur L.F; Kuo Y.H et Chang S.T, (2002):Antioxydant activity of Abietane-type diterpenes from Heartwood of *Taiwania cryptomerioides* Hayata. *Holzforschung*.

Annexes

Annexe I

➤ Préparation des réactifs :

Réactif de stiany : 2 volumes de formol (50ml) + 1 volume d'HCl (1N) (25ml)

Réactif de Dragendroff :

Solution A : 0.425 g de nitrate de bismuth sont additionnées à 20 ml d'eau distillé et 5 ml d'acide acétique.

Solution B : 4 g d'iode de potassium sont ajoutés à 10 ml d'eau distillé

Les 2 solutions A et B sont mélangées, puis a 15 ml de mélange, 20 ml d'acide acétique sont ajoutés ensuite complété par l'eau distillé a 100 ml.

1-Préparation de solutions à administrées aux souris pour l'activité diurétique

A-Préparation de la matière végétale à 2 g/kg :

Nous avons préparé le même protocole pour les feuilles et les fruits de l'arbousier.

Pour cela nous avons préparé une infusion de 10 minutes à raison de 2 g/kg de poudre végétale.

Pour une moyenne des poids de 119g, nous procédons comme suite :

$$2 \text{ g} \longrightarrow 1000 \text{ g}$$

$$X \longrightarrow 119 \text{ g}$$

Donc, $X = 0.23 \text{ g}$ de poudre végétale.

2 g : la dose de la plante pour 1 kg du poids corporel.

119 g : c'est le poids moyen des rats.

0.23 g : c'est la quantité de la poudre végétale pour un rat de 119 g retrouvé dans 2 ml de la solution.

2 ml : c'est le volume de liquide que peut recevoir un rat.

$$\text{On a : } 0.23 \text{ g} \longrightarrow 2 \text{ ml}$$

$$Y \longrightarrow 100 \text{ ml}$$

Donc, $Y = 11.5 \text{ g}$

100 ml : c'est le volume d'eau distillée de la solution à préparer (feuilles ou fruit) suffisant pour les rats.

11.5 g : c'est la quantité de la poudre végétale pour un volume de 100 ml.

- nous avons préparé une infusion de 11.5 g de poudre d'arbousier (feuille ou fruits) dans un volume de 100 ml d'eau distillée, après infusion de 10 minutes on filtre.

B-Préparation du produit de référence :

Le produit de référence est un médicament diurétique : Furosémide de 20 comprimés dont chacun pèse 40 mg.

La dose de Furosémide est de 25 mg/kg (**Colot, 1972**).

Préparation de la dose de produit de référence :

$$\text{Nous avons : } 25\text{mg} \longrightarrow 1000 \text{ g}$$

$$X \longrightarrow 120 \text{ g}$$

Donc, $X = 3 \text{ mg}$

120 g : le poids moyen des rats.

3 mg : c'est la quantité de Furosémide pour un rat de 120 g retrouvé dans 2 ml d'eau distillée

Ensuite nous calculons le volume d'eau distillée nécessaire pour dissoudre 1 comprimé de 40 mg.

$$\text{On a : } 3 \text{ mg} \longrightarrow 2 \text{ ml}$$

$$40 \text{ mg} \longrightarrow Y$$

Donc, $Y = 26.7 \text{ ml}$ d'eau distillée.

A l'aide d'un mortier nous allons dissoudre un comprimé de 40 mg de Furosol dans 26.7 ml d'eau distillée.

26.7 ml : c'est le volume d'eau distillée de la solution à préparer (produit de référence) suffisante pour les rats.

c\ Préparation de la dose d'eau physiologique 50 ml/kg :

chaque rat reçoit un volume d'eau physiologique par rapport à son poids corporel.

Nous prend comme exemple le cas d'un rat qui à 120 g du poids corporel :

$$50 \text{ ml} \longrightarrow 1000 \text{ g}$$

$$X \longrightarrow 120 \text{ g}$$

Donc, $X = 6 \text{ ml}$ par rat de 120 g de poids corporel.

2-Préparation des solutions administrés de la toxicité

Nous avons préparé le même protocole pour les feuilles et les fruits de l'arbousier.

Pour cela nous avons préparé 4 infusions de 10 minutes à raison de 2, 4, 6 et 10 g/kg de poudre végétale.

1-Pour une moyenne des poids de 20g, nous procédons comme suite :

$$2 \text{ g} \longrightarrow 1000 \text{ g}$$

$$X \longrightarrow 20 \text{ g}$$

$X = 0.04 \text{ g}$, c'est la quantité de l'infusé pour une souri de 20 g retrouvé dans 0.5 ml d'eau distillé.

Chaque souri reçoit 0.5 ml de l'infusé.

$$0.04\text{g} \longrightarrow 0.5\text{ml}$$

$$Y \longrightarrow 20 \text{ ml}$$

$Y = 1.6 \text{ g}$, c'est la quantité de la poudre retrouvée dans 20 ml d'eau distillé.

2- pour une moyenne des poids de 19 g, la quantité de la poudre retrouvée dans 20 ml d'eau distillé pour une concentration de 4 g/kg est de : 3.04 g.

3- pour une moyenne des poids de 18.6 g, la quantité de la poudre retrouvée dans 20 ml d'eau distillé pour une concentration de 6 g/kg est de : 4.46 g.

4- pour une moyenne des poids de 19.6 g, la quantité de la poudre retrouvée dans 20 ml d'eau distillé pour une concentration de 10 g/kg est de : 17.84 g.

3-Préparation des solutions administrés de l'activité anti-inflammatoire

Nous avons préparé le même protocole pour les feuilles et les fruits de l'arbusier.

Pour cela nous avons préparé 3 infusions de 10 minutes à raison de 0,5 ; 2,2 et 3 g/kg de poudre végétale.

1-Pour une moyenne des poids de 20,5g des souris, nous procédons comme suite :

$$0,5g \longrightarrow 1000 g$$

$$X \longrightarrow 20,5g$$

$X = 0.01025 g$, c'est la quantité de l'infusé pour une souris de 20 g retrouvée dans 0.5 ml d'eau distillé.

Chaque souris reçoit 0.5 ml de l'infusé.

$$0.01025g \longrightarrow 0.5ml$$

$$Y \longrightarrow 20 ml$$

$Y = 0,1 g$, c'est la quantité de la poudre retrouvée dans 20 ml d'eau distillé.

2- pour une moyenne des poids de 21,8 g, la quantité de la poudre retrouvée dans 20 ml d'eau distillé pour une concentration de 2,2 g/kg est de : 1.92g.

3-pour une moyenne des poids de 21,3 g, la quantité de la poudre retrouvée dans 20 ml d'eau distillé pour une concentration de 3g/kg est de : 0,43 g.

Annexe II

Tableau III: les poids et le volume de l'eau physiologique (Na Cl 0.9%) administré pour chaque lot.

Lot Temoin	Rat	1	2	3	4	5
	Poids (g)	175	200	170	186	198
	NaCl (ml)	8.75	10	8.5	9.3	9.9
Lot Essai1 (référence)	Rat	1	2	3	4	5
	Poids (g)	185	185	190	200	200
	NaCl (ml)	9.25	9.25	9.5	10	9.5
Lot Essai2 (infusé des feuilles)	Rat	1	2	3	4	5
	Poids (g)	122	120	122	114	120
	NaCl (ml)	6.3	6	6.1	5.7	6
Lot Essai3 (infusé des fruits)	Rat	1	2	3	4	5
	Poids (g)	122	125	111	126	114
	NaCl (ml)	6.1	6.25	5.55	6.3	5.7

Résultats de l'activité diurétique

Tableau VI : Résultats de l'activité diurétique chez le lot témoin.

Paramètres/Rats	R1	R2	R3	R4	R5	Moyenne ± écart-type
Quantité d'urine de la 1ère heure (ml)	2	3	4	2	3	2.8± 0.83
Quantité d'urine de la 2ème heure (ml)	4	4	6	3	4	4.2± 1.09
Quantité d'urine de la 3ème heure (ml)	6	5	7	3	5	5.2 ±1.32
Quantité d'urine de la 4ème heure (ml)	8	6	7	3	5	5.8 ± 1.92
Quantité d'urine de la 5ème heure (ml)	8	7	8	4	5	6.4 ± 1.81
Quantité d'urine de la 6ème heure (ml)	9	8	8	6	6	7.4 ± 1.34
pourcentage d'EUUV (%)	83.72	66.66	76.19	53.09	50.42	66.01 ±14.38

Tableau VII : Résultats de l'activité diurétique chez le lot essai 1 (furosémide).

Paramètres/Rats	R1	R2	R3	R4	R5	Moyenne ± écart-type
Quantité d'urine de la 1 ^{ère} heure (ml)	3	3	3	4	4	3.4± 0.54
Quantité d'urine de la 2 ^{ème} heure (ml)	5	5	4	6	6	5.2± 0.83
Quantité d'urine de la 3 ^{ème} heure (ml)	6	7	8	10	8	7.8± 1.48
Quantité d'urine de la 4 ^{ème} heure (ml)	9	10	10	12	10	10.2± 1.09
Quantité d'urine de la 5 ^{ème} heure (ml)	9	11	11	13	15	11± 2.28
Quantité d'urine de la 6 ^{ème} heure (ml)	10	13	12	14	15	12± 1.92
Pourcentage d'EUUV	88.88	115.55	104.34	116.66	130.43	111.17 ± 15.52
pourcentage d'augmentation du volume d'urine	68.40					

Tableau VIII: Résultats de l'activité diurétique chez le lot essai 2 (les feuilles).

Paramètre/Rats	R1	R2	R3	R4	R5	moyenne ±écart-type
Quantité d'urine de la 1 ^{ère} heure (ml)	6.5	6	6	6	4	4.9 ± 0.97
Quantité d'urine de la 2 ^{ème} heure (ml)	8	8	8	7	6	7.4 ± 0.89
Quantité d'urine de la 3 ^{ème} heure (ml)	8	9.5	10	9	6	8.5 ± 1.58
Quantité d'urine de la 4 ^{ème} heure (ml)	8	10	10	10	8	9.2 ± 1.09
Quantité d'urine de la 5 ^{ème} heure (ml)	8	10	10	10	8	9.2 ± 1.09
Quantité d'urine de la 6 ^{ème} heure (ml)	9	11	11	11	9	10.2 ± 1.09
Pourcentage d'EUUV (%)	108.43	137.5	135.80	142.85	112.5	127.41 ± 15.75
pourcentage d'augmentation du volume d'urine(%)	37.83					

Tableau IX: Résultats du test diurétique de l'essai 3 (les fruits).

Paramètres/Rats	R1	R2	R3	R4	R5	Moyenne ±écart-type
Quantité d'urine de la 1ère heure (ml)	6	5,5	6	6,5	4,5	4,5±0,83
Quantité d'urine de la 2ème heure (ml)	8	8	8	8	8	8± 0
Quantité d'urine de la 3ème heure (ml)	9	8	9	9	8,5	8,7± 0,44
Quantité d'urine de la 4ème heure (ml)	10	10	9	10	9	9,6± 0,54
Quantité d'urine de la 5ème heure (ml)	10	11	10	10	10	10,2± 0,44
Quantité d'urine de la 6ème heure (ml)	11	11	10	11	10	10,6± 0,54
Pourcentage d'EUV (%)	135,80	133,33	132,45	132,53	129,87	132,79 ±2,12
pourcentage d'augmentation du volume d'urine(%)	43,24					