

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMEN DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

NAER Imane

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Pharmaco -Toxicologie

THÈME

**Screening phytochimique et Analyse bibliographique
de l'activité Biologique de *Rhamnus alaternus* L**

Soutenu publiquement le/...../2020

DEVANT LE JURY

Président	Mme ATTOU. N	Grade MCB	U. Mostaganem
Encadreur	Mme KRIBI. S	Grade MCB	U. Mostaganem
Examinatrice	Mme BELHOUCINE. M	Grade Pr	U. Mostaganem

Année universitaire 2019- 2020

Dédicaces

Je dédie ce travail,

À mes Parents, pour leur soutien tout le long de mes études,

*Vous qui avez toujours cru en moi et su me redonner
confiance lorsque la motivation n'était plus au rendez-vous,*

À ma Sœurs « Naer amina »

et mes Frères, À mes Amis,

À ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour



Remerciements

Avant tout nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.

Nous remercions notre encadreur de son grand aide durant la réalisation de ce travail, elle nous a orienté vers le succès avec ses connaissances et son encouragement. Elle était présente à tout moment qu'on a besoin d'elle M^{me} Kribi Soraya

Nous remercions les membres de jury d'avoir accepté d'examiner et de juger notre travail

M^{me} Attou. Nassrine M^{me} Belhoucine Mansouria

Nos remerciements vont à tous les enseignants du département des Sciences Biologiques. -

Nous remercions toute l'équipe de laboratoire de biochimie à l'université de Mostaganem pour leur accueil, leur sympathie ainsi que leurs idées constructives.

Nous tenons à remercier monsieur le responsable de la spécialité pharmacologie toxicologie professeur Djebli. Noureddine

A tous nos collègues de promotion pharmacologie toxicologie.

Imane

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
<i>R. alaternus</i>	<i>Rhamnus alaternus.</i>
<i>E. Coli</i>	<i>Escheriachia coli</i>
<i>P. mirabilis</i>	<i>Proteus mirabil</i>
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>A. brasiliensis</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
Ex. Br	Extrait brut
Ex. Hélix	Extrait héxanique
Ex. Chl	Extrait chloroformique
Ex. Ac	Extrait acétique
Ex. Aq	Extrait aqueux
ATCC	American Type Culture Collection
G	gramme
CI 50	Concentration inhibitrice 50
CCl4	Tétrachlorure de carbone
Mg/Kg	milligramme par kilogramme
%	pourcentage
L	litre
mg EC	milligramme équivalent
Te	témoin
Ts	test
CPG	chromatographie à phase gazeuse
CPL	chromatographie à phase liquide
SIPF	suspensions intégrales de plantes fraîches
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance
°C	Degré Celsius

CCM	Chromatographie sur couche mince
FeCl ₃	Chlorure ferrique
HCl	Acide chlorhydrique.
KI	Iodure de potassium.
ml	millilitre
h	heure
UV	minute
cm	Centimètre

Liste des tableaux

N° Tableau	Titre	Page
Tableau 1.	Nom vernaculaire nerprun.....	12
Tableau 2.	Classification botanique et phylogénétique de <i>Rhamnus alaternus</i> (Yi-ling et Pan-Kai 1982.....	13
Tableau 3.	Tests phytochimiques des racines et feuilles de <i>rhamnus alaternus</i> (Extrait aqueux par infusion et décoction.....	27
Tableau 4.	Rendement des différentes fractions flavonoïdes (Benchiha, 2016).....	35
Tableau 5.	Classement des extraits flavonoïques des feuilles de <i>R. alaternus</i> selon leurs effets antimicrobien et des souches microbiennes selon leur sensibilité (Benchiha, 2016).....	37
Tableau 6.	Concentrations minimales inhibitrices 50 (CI50) des standards phénoliques et des extraits flavonoïques des feuilles de <i>R. alaternus</i> (Benchiha ,2016).....	39
Tableau 7.	Comparaison des effets anti-hépatotoxiques de l'extrait étudié au regard du pourcentage moyen de réduction de l'hépatotoxique (Benchiha ,2016).....	41

Liste des figures

N° Figures	Titre	Page
Figure 1.	Présentation de <i>Rhamnus alaternus</i> L.....	14
Figure 2.	Les fleurs de <i>R. alaternus</i>	14
Figure 3.	Le fruit de <i>R. alaternus</i>	14
Figure 4.	<i>Rhamnus alaternus</i>	18
Figure 5.	La partie aérienne de <i>Rhamnus alaternus</i> L : (a : fraîche ; b : sèche ; c : poudre).....	19
Figure 6.	Protocole de préparation de la solution d'infusion.....	20
Figure 7.	Protocole de préparation de la solution décoction.....	20
Figure 8.	Protocole de préparation d'extrait méthanolique par macération.....	21
Figure 9.	Activation de la plaque CCM.....	23
Figure 10.	Dépôt de l'extrait au niveau de la plaque(A) et séchage (B).....	24
Figure 11.	Contact de la plaque avec l'éluant.....	24
Figure 12.	Mise en évidence des tanins par le réactif de Mayer.....	27
Figure 13.	Mise en évidence des coumarines.....	28
Figure 14.	Mise en évidence des flavonoïdes.....	28
Figure 15.	Mise en évidence des anthocyanes.....	29
Figure 16.	Mise en évidence des alcaloïdes.....	29
Figure 17.	Mise en évidence des terpénoïdes.....	30
Figure 18.	Mise en évidence des saponosides.....	30
Figure 19.	Résultat de la CCM.....	32
Figure 20.	Teneur en flavonoïdes totaux pour les 5 extraits des feuilles de <i>R. alaternus</i> (Benchiha ,2016).....	36
Figure 21.	Variation de l'inhibition de DPPH en fonction de la concentration des extraits flavonoïques des feuilles de <i>Rhamnus alaternus</i> L (Benchiha, 2016).....	38
Figure 22.	Variation de l'inhibition de DPPH en fonction de la concentration des standards (Benchiha ,2016).....	39

TABLES DES MATIERES

Résumé

Introduction générale.....1

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre I : les plantes médicinales

1. Généralité.....	4
2. plantes médicinales.....	4
2.1. La phytothérapie	4
2.2. L'aromathérapie.....	5
3. Les métabolites secondaires.....	5
3.1. Les composés phénoliques	6
3.2. Les alcaloïdes	6
3.3. Les terpénoïdes	7
4. Les extraits de plantes médicinales.....	7
4.1. Les formes des extraits de plantes médicinales.....	8
4.1.1. Les extraits aqueux.....	8
4.1.2. Extrait par solvant éthanoïques ou hydro-alcooliques.....	8
4.1.3. Extraits glycérinées.....	9
4.1.4. Autres formes galéniques des extraits.....	9
5. La phytochimie.....	9
6. La chromatographie sur couche mince.....	10
1. Généralisation.....	10
2. Les différentes méthodes chromatographiques	10
2.1. Les deux groupes principaux.....	10
2.2. Les sous-groupes.....	10
2.3. Quelques détails pratiques.....	11

Chapitre II : description de l'alatérne

« *rhamnus alaternus* »

1. Dénomination de <i>rhamnus alaternus</i>	12
2. Origine et aire répartition.....	13
3. Classification et caractère botanique.....	13
4. Description générale.....	14
5. Description de l'habitat.....	15
6. Composition chimique de <i>Rhamnus alaternus</i>	15
7. Principales utilisations.....	15
8. Toxicité de <i>Rhamnus alaternus</i>	16

Partie II

Matériel et méthodes

1. Objectifs d'étude.....	18
2. Matériels biologique.....	18
3. Matériels de laboratoire utilisés	19
4. Méthodes.....	19
4.1. Préparation de la matière végétale.....	19
4.2. Préparation de l'extrait par infusion.....	20
4.3. Préparation de l'extrait par décoction.....	20
4.4. Préparation de l'extrait par macération alcoolique.....	21
4.5. Tests phytochimiques	;.....21
5. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	22

Partie III

Résultats et interprétations

I. Résultats et interprétations des tests phytochimiques.....	27
II. Résultats de la CCM.....	32

Partie IV

*Analyse bibliographique de l'activité biologique
de *Rhamnus alaternus* L des travaux de Benchiha (2016)*

I. Introduction.....	34
II. Présentation du site d'étude.....	34
III. Extraction et dosage des flavonoïdes totaux.....	35
III.1.Résultats et interprétations	35
IV. Evaluation du pouvoir antibactérien et antifongique.....	36
IV.1. Résultats et interprétations.....	37
V. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	38
V.1.Test de piégeage du radical libre DPPH.....	38
V.2.Résultats et interprétations.....	39
VI. Evaluation de l'activité pharmacologique anti-hépatotoxique.....	40
VI.1. Préparation des extraits.....	40
VI.2. Test anti- hépatotoxique.....	40
VI. 3. Résultats et interprétations	41

Conclusion générale

Références bibliographiques

Résumé

La présente étude ayant pour objectif d'évaluer les composés naturels à intérêt thérapeutique et de connaître quelques activités biologiques d'une espèce végétale Algérienne qui est *Rhamnus alaternus* L (Famille des rhamnaceae). Cette dernière a fait l'objet d'un screening phytochimique, et d'une caractérisation des flavonoïdes et des alcaloïdes par la chromatographie sur couche mince (CCM). Les résultats ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires pour les deux extraits aqueux d'infusion (partie aérienne) et de décoction (racines) majoritairement les alcaloïdes, les tanins, les saponosides et les flavonoïdes.

L'étude bibliographique des activités biologiques a montré que *Rhamnus alaternus* L présente un remarquable effet antifongique ; une activité antibactérienne modérée ; une activité anti-oxydante importante des feuilles et de l'écorce et un effet pharmacologique anti-hépatotoxique positif

Mots clé : *Rhamnus alaternus* L ; Phytochimie ; CCM ; Analyse bibliographique ; activités biologiques



*INTRODUCTION
GENERALE*

Introduction générale

Les plantes médicinales ont été une source inépuisable de médicaments pour les tradipraticiens pour guérir certaines pathologies souvent mortelles, sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques administrées soit par friction, inhalations, cataplasmes, massages ou encore par voie orale (**Lee, 2004**). Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de future médicaments (**Maurice, 1997**). Actuellement, l'ethnopharmacologie s'emploie à recenser partout dans le monde des plantes réputées actives et dont elles appartiennent à la recherche moderne, de préciser les propriétés et valider les usages car on estime qu'environ 80% des habitants de la planète ont recours aux médicaments traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (**Fleurentin et Pelt, 1990**).

Le bassin méditerranéen est très diversifié en espèces végétale et représente un grand intérêt pour toute étude scientifique. Sa grande richesse floristique est liée à l'hétérogénéité des facteurs paléogéographiques, géologiques et écologiques (**Quezel et al., 1988**). Sur le plan biogéographique. Les travaux récents affirment que à cette richesse floristique est associée une originalité sur le plan systématique (nombreuses plantes endémiques), sur le plan phytochimique (spécificité des substances biosynthétisées) et aussi sur le plan pharmacologique. l'Algérie occupe une situation privilège qui lui confère une flore très diversifiée représentée par environ 3000 plantes vasculaires inventoriées réparties en 123 familles botaniques (**Tlili-Ait Kaki et al., 2013**).

Rhamnus alaternus L, en raison de sa distribution importante et sa représentation comme étant une espèce abondante et assez commune en Algérie, cette plante a été négligée par rapport aux autres plantes beaucoup moins fréquentes, ainsi donc ces effets sur les diverses pathologie nous ont poussé à valoriser cette espèce végétale en mettant en évidence ces composés phytochimiques et en démontrant théoriquement ces activités biologiques.

Nous avons structuré notre travail comme suit :

* Partie I : présente un résumé bibliographique sur les plantes médicinales en générale, les différents types d'extrait végétal et présentation de la plante *Rhamnus alaternus* L

* Partie II : traite le matériel et méthodes appliquées au criblage phytochimique et à la chromatographie sur couche mince

* Partie III : résume l'ensemble des résultats et discussions

* Partie IV : Vue les conditions sanitaires causées par la pandémie du COVID19, il nous a été impossible d'entamer la suite expérimentale de notre thème de mémoire de fin de cycle alors il nous a été intéressant d'enrichir notre étude par la partie IV qui traite une analyse théorique sur les travaux de recherches relatifs à l'étude de *Rhamnus alaternus* L

En fin, ce mémoire s'achève par une conclusion générale et les références bibliographiques.



Partie I
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Les plantes médicinales

1. Généralités

La connaissance rationnelle des plantes médicinales date de l'Antiquité. Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées (**Carillon, 2000**). Le savoir traditionnel ancestral, transmis de génération en génération, est devenu aujourd'hui une mine d'informations extrêmement précieuses pour les chercheurs d'industrie pharmaceutique (**Fouché et al, 2000**).

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme model pour les composés pharmaceutiquement actifs (**Decaux, 2002**).

2. Plantes médicinales

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française, comme une « drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisée à l'état frais ou sous la forme desséchée (**Fouché et al, 2000**). L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication de médicaments (**Mohammedi, 2013**).

2.1. La phytothérapie

La phytothérapie désigne la médecine fondée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels, la phytothérapie est le nom que porte la médecine par les plantes au moyen âge, ne pas confondre avec la phytopharmacie qui désigne l'ensemble des substances utilisées , pour traiter les plantes.

On peut distinguer deux types de pratiques :

- Une pratique traditionnelle par fois ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement c'est une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays.

-La pratique basée sur les avancées scientifiques et les recherches des principes actifs des plantes (phytochimie), cette phytothérapie assimilée aux médicaments (**Mathieu et Fonteneau, 2000**).

2.2. L'aromathérapie

C'est une approche de soins, assez complexe, dont les essences aromatiques des plantes constituent la base (**Shaw, 2007**). C'est est une « niche » de la phytothérapie utilisant les huiles essentielles pures tirées des plantes appréciées pour leur propriétés thérapeutiques le traitement suppose l'application des huiles essentielles sur le corps pour améliorer la santé physique, mentale ou émotionnelle de l'individu.

Les huiles essentielles sont presque toujours utilisées diluées, et de différentes façon par diffusion dans l'atmosphère, par massage, par inhalation, par voie orale (**Boyrie, 2014**)

3. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules qui ne sont pas directement impliquées dans les processus de croissance des organismes vivants, contrairement aux métabolites primaires. Ils sont plus spécifiques aux plantes, bactéries et champignons, mais on les découvre également chez certains groupes animaux. (**Gravot, 2009**) Les métabolites secondaires présentent une infinie variété de substances, dont le rôle dans la plante est encore souvent mal connu. Un grand nombre de ces métabolites secondaire présente des propriétés pharmacologique intéressantes par fois exploitées dans un but thérapeutiques, soit après extraction à partir de la plante, (morphine du pavot, quinine de quinquina...etc) soit directement, on utilise alors la plante ou une préparation simple issue de la plante (poudre, teinture, extrait...etc). (**Bénédicte, 2007**)

On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux :

* Les composés phénoliques

* Les alcaloïdes et composés azotés

* Les composés terpéniques

3.1. Les composés phénoliques

* Les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés comme l'indique le nom par la présence des plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits de métabolisme secondaires des plantes. (Tapiero et al., 2002). Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturel suscite de plus en plus d'intérêt pour prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires, et neuro-dégénératives

* Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui contribuent entre autres à colorer les fleurs et les fruits en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes sont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antibactériennes, et antivirales (Iserin, 2001)

* Les tanins

Le procédé du tannage est utilisé pour la production de cuir depuis la préhistoire,. Le terme *tanin* fut introduit à la fin du dix-huitième siècle pour définir les substances organiques présentes dans les extraits aqueux des feuilles, fleurs, tiges et fruits (Swain, 1979). Le poids moléculaire des tanins varie entre 500 et 2000 Dalton et 3000 pour les structures les plus complexes. Les tanins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones (Konig et al., 1994). Ils sont caractérisés par une saveur astringente. (Scalbert, 2000)

3.2. Les alcaloïdes

Initialement défini comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle est de distribution restreinte. Ils ont une structure complexe. Leur atome d'azote est incluse dans un système hétérocyclique. Leur détection consiste dans le cas le plus général à une précipitation qu'est due à la capacité des alcaloïdes de se combiner avec les métaux qui constituent les réactifs spécifiques utilisés. (Bruneton, 2008) Les alcaloïdes présentent généralement une intense activité pharmacologique.

La médecine les emploie le plus souvent à l'état purs et ils sont utilisés comme antalgiques majeur (morphine), antipaludéen (quinine), pour combattre l'excès d'acide urique

(colchicine), comme substance paralysante (curane, caféine), comme poisons (strychnine, nicotine), comme stupéfiants (cocaïne, mexaline), comme cholinergique (pilocarpine) ou comme anticancéreux (Taxol, vinblastine et vincristine) (**Bruneton, 2008**). A côté des bien faits de ces différentes molécules, il ne faut pas oublier que lorsqu'elles sont à un taux élevé, elles sont susceptibles de provoquer des effets indésirables, pour cela, elles sont appelées substances anti nutritionnelles. Leur présence diminue la qualité nutritionnelle des aliments auxquels elles sont associées. (**Bruneton, 2008**)

3.3. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes forment une classe de substances naturelles organiques dont beaucoup sont rencontrées quotidiennement et dont les noms traduisent souvent ce caractère familier. Elles comprennent le menthol, à l'origine de l'odeur des feuilles de menthe froissées, le cédrène, responsable de l'odeur des crayons de bois, l'acide abiétique, constituant important de la résine des pins, la bétuline, pigment blanc de l'écorce des bouleaux, le β -carotène, pigment orange des carottes et de nombreuses baies, le caoutchouc. L'extrême diversité des structures, des propriétés physiques et chimiques et des activités biologiques des terpénoïdes dissimule une unité profonde : tous sont produits par le même mécanisme biosynthétique fondamental qui est une variante des mécanismes biosynthétiques conduisant aux acides gras. En outre, dans tous les êtres vivants, des dérivés terpénoïdes sont apparemment responsables d'une même fonction indispensable au maintien de la vie. Ces dérivés sont des constituants membranaires améliorant les propriétés mécaniques de ces membranes. L'étude des structures, des réactions et des synthèses des terpénoïdes a joué un rôle extrêmement important dans le développement de la chimie organique : des concepts généraux, comme ceux de tension des petits cycles, de transposition de squelette, de synthèse stéréospécifique, d'analyse conformationnelle, de polymérisation des oléfines, etc., trouvent leur origine immédiate dans l'étude des terpénoïdes.

4. Les extraits de plantes médicinales

Les extraits de plantes sont des substances de consistance fluide, semi-solide, ou solide, résultant de l'évaporation soit d'un suc de plante, soit d'une solution extractive obtenue en traitant les matières premières végétales par un solvant approprié.

Chaque extrait est défini par son mode de préparation, la composants, la teneur éventuelle en principes actifs, la perte à la dessiccation ou le résidu sec.

Un extrait se prépare donc en deux temps :

- * La préparation du liquide extractif.
- * La concentration des solutions extractives effectuées par évaporation. (Fouché et al, 2000)

4.1. Les formes des extraits de plantes médicinales

4.1.1. Les extraits aqueux

A. Les tisanes : regroupent les infusions et les décoctions

***Infusion :** L'infusion consiste à recouvrir d'eau bouillante les parties végétales fragmentées. Elle convient aux parties de la plante les plus fragiles et à celle riches en huiles essentielles. Le temps d'infusion est variable selon les plantes (de quelques minutes à 1 heure) (Nogaret-Ehrhart, 2003).

*** La décoction :** convient aux parties ligneuses de la plante comme les tiges, les racines et l'écorce. Il s'agit ici de plonger les parties de plante sèche à froid dans de l'eau et de porter le tout à ébullition pendant 10 minutes à 1h en fonction des plantes (Potel, 2002).

B. La macération : Il s'agit d'un processus d'extraction à température ambiante (15-20°C) le liquide employé peut être l'eau, alcool, parfois le vin le temps de macération dépend des propriétés intrinsèques de la plante la macération à l'eau ne doit pas se prolonger trop longtemps pour éviter tout risque de fermentation ou de moisissure (Potel, 2002).

4.1.2. Extrait par solvant éthanoloïques ou hydro-alcooliques

A. Les teintures : Sont des préparations alcooliques résultant d'un traitement extractif exercé par alcool éthylique sur les drogues sèches. On les prépare par macération (drogue+ solvant à froid) ; par lixiviation (passage plus ou moins rapide du solvant froid ou chaud à travers la poudre végétale).

Les teintures correspondent au 1/5^e de leur poids de drogue sèche (sauf les teintures héroïques qui sont au 1/10^e). (Odile, 2011)

B. Les teintures mères : Actuellement, sont utilisés les teintures mères homéopathiques préparées à partir de drogues fraîches par macération 10 jours minimum (selon la pharmacopée européenne) dans de l'éthanol de titre différent selon les plantes (45 à 65° en général). Elles correspondent au 1/10^e de leur poids de plante sèche (il faut donc tenir compte du degré de déshydratation de la plante).

C. Les alcoolatures : Ce sont des préparations résultant de l'épuisement par l'alcool des drogues fraîches. Les proportions employées sont à parties égales en poids de plantes fraîches et d'alcool à titre élevé. Les plantes fraîches sont mises à macérer pendant huit jours avec l'alcool dans un récipient clos. Après une compression on passe à une filtration.(Fouchet et al, 2000)

D. Les suspensions intégrales de plantes fraîches (SIPF) : Sont des cryobroyats composés de drogue fraîche suspension dans une solution hydro alcoolique. Elles sont obtenues à partir de la totalité de la drogue fraîche par un procédé original qui permet le blocage des réactions enzymatiques évitant ainsi tout risque de modification, ou dégradation des principes actifs. Il est indispensable de les diluer afin de débloquent les réactions enzymatiques et de diminuer le titre alcoolique (**Fouchet et al, 2000**)

4.1.3. Extraits glycinés

La plante fraîche est cryobroyée puis les principes actifs hydrosolubles isolés par extractions successives dans l'eau et l'alcool de degré croissant. L'alcool est évaporé sous vide puis le résidu sec est mis en suspension dans le glycérol (**Bertrand, 2010**).

4.1.4. Autres formes galéniques des extraits

Selon **Cazau-Beyret Nelly (2013)** plusieurs formes de préparations d'extraits peuvent être mises en œuvre pour l'obtention d'effet thérapeutique à partir d'une plante dont parmi

A. Les extraits secs pulvérulents : Leur préparation se fait en trois phases : l'extraction des principes actifs (PA) par macération ou lixiviation dans l'eau ou l'alcool, La filtration et la concentration et en fin l'élimination du solvant par séchage

.B. La poudre de plante : Obtenue par simple broyage de la plante sèche, elle conserve le *totum* de la plante. Des gélules peuvent être fabriquées avec cette poudre

5. La phytochimie

Appelée aussi chimie des végétaux, est la science qui étudie la structure, le métabolisme et la fonction ainsi que les méthodes d'analyses de purification et d'extraction des substances naturelles issues des plantes. Elle est indissociable à d'autres disciplines telles que la pharmacognosie, traitant des matières premières et des substances à potentialité médicamenteuse d'origine biologique (**Benedicte, 2007**)

6. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est la plus simple des méthodes chromatographiques. Elle est très facile à mettre en œuvre et est une des principales utilisées dans les laboratoires. Elle présente l'avantage de ne nécessiter que peu de matériel et donner des résultats facilement interprétables mais pas toujours très reproductibles

1. Généralisation : Dans toute chromatographie (en grec chromato couleur et graphie écriture par référence à l'expérience de TSWETT où l'on détectait les composants grâce à leur couleur) on distinguera :

- une phase fixe,
- une phase mobile.

2. Les différentes méthodes chromatographiques :

2.1. Les deux groupes principaux : basés sur la nature de la phase mobile :

- si l'éluant est un gaz : Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).
- si l'éluant est un liquide : Chromatographie en Phase Liquide (CPL).

2.2. Les sous-groupes : en CPG ou en CPL on pourra distinguer des sous-groupes basés sur la nature de la phase stationnaire :

- a) phase stationnaire : solide doué de propriétés absorbantes (comme dans l'expérience de Tswett), on parle de Chromatographie d'adsorption.
- b) phase stationnaire : liquide (non miscible à l'éluant) fixé sur un solide qui sert de support inerte ; on parle de Chromatographie de partage.
- c) phase stationnaire : gel constituant un tamis : Chromatographie par perméation de gel ou d'exclusion.
- d) phase stationnaire : résine échangeuse d'ions : Chromatographie par échange d'ions.

Remarque : Polarité des phases

On peut faire de la chromatographie :

- à polarité de phase normale : la phase stationnaire est plus polaire que la phase mobile.
- à polarité de phase inverse : la phase stationnaire est moins polaire que la phase mobile. La phase stationnaire apolaire est souvent de la silice greffée avec des alcanes : SiOR avec R souvent une chaîne alkyle en C18.

Dans la très grande majorité des cas, on fait de la chromatographie en phase normale.

2.3. Quelques détails pratiques :

a) Chromatographie d'adsorption :

La phase fixe est souvent de la silice (en gel), de l'alumine, des adsorbants organiques copolymères (vinylbenzène/divinylbenzène), charbon actif....

b) Chromatographie de partage :

*Le support peut-être du gel de silice, de la poudre de cellulose, ou du "papier" (cellulose très pure), ou des polymères synthétiques.

*La phase stationnaire, un solvant polaire (eau, solutions acides ou alcalines...)

c) Mode de migration du solvant

* le solvant monte : chromatographie ascendante (exemple : Chromatographie en couche mince

* le solvant descend : chromatographie descendante (colonne ou papier).

* le solvant migre tour à tour dans 2 directions perpendiculaires avec changement d'éluant : chromatographie bidimensionnelle.

d) Révélation des constituants du mélange après séparation :

Rarement les composés sont colorés. Pour les détecter il faut souvent :

- pulvériser un réactif qui colore les taches (ninhydrine pour les aminoacides)

- opérer en lumière U.V. (voir CCM avec indicateur de fluorescence).

- opérer un comptage de radioactivité si les composés contiennent des éléments radioactifs.

e) HPLC ou CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance :

C'est une CPL sur mini-colonnes avec un solide si fin (micronisé) qu'il faut travailler sous pression (10 à 200 bars) pour que l'éluant puisse les traverser.

Chapitre II

Description de l'Alaterne « *rhamnus alaternus* L »

1. Dénomination de *Rhamnus alaternus*

Les noms vernaculaires du nerprun sont mentionnés dans le Tableau suivant :

Tableau 1. Nom vernaculaires du nerprun

Désignation	Noms (références)
Noms communs	Nerprun, Bourg-épine, épine de cerf (Bardin, 2004).
Noms targuis et kabyles	Ajrroudj, Khalis n'imidekh, Amliles (Beloued, 2001).
Noms arabes	éliles, Qaced(Beloued, 2001); (Saidet al.,2002); Oud el khir(Beloued, 2001 ; Ben Ammar et al., 2008 ; Ben Ammar et al., 2009).
Noms français	Alaterne (Beloued, 2001), Nerprun méditerranéen (Izhaki et al. 2002)
Noms anglais	Italian Buckthorn, Mediterranean Buckthorn (Akerreta, 2009).

-Les espèces du genre *Rhamnus* en Algérie

En Algérie, 9 espèces végétales appartenant à 3 genres sont répertoriées dans diverses régions et classées selon leurs caractéristiques morphologiques. On cite à titre d'exemple :

* *R. Alaternus* L : pousse dans les forêts, rocailles - |Méd./ - « Qaced». *ssp. eu-Alaternus* Maire CC: dans toute l'Algérie. *ssp. Myrtifolia* (Willk.) Maire Rochers des montagnes - AR: K1-2, Cl, ASI-2-3,O3

* *R.lycioides* L : Forêts claires, rocailles- AC : dans toute l'Algérie, jusqu'au au Sud de l'Atlas saharien : *ssp. oleoides*(L) Jah et Maire - |W.Méd

- * *R. Frangula* L : Forêts humides R R: La Calle au lac des Sebaa - |Eur. As./ «Ahmeräi».
- * *R. Cathartica* L. Rochers calcaires des hautes montagnes RR: KI: Djurdjura, K2: Tababort, AS3 : Refaa |Euras./
- * *R. alpina* L. Rochers calcaires des hautes montagnes AR : KI-2,CI,AS3-|Oro.W. Méd./ (Quezel et Santa, 1963).

2. Origine et aire de répartition

Originare d'Asie mineure et du pourtour méditerranéen (Europe et Afrique du nord). Cette plante se trouve dans les garrigues calcaires dans la zone du Chêne vert jusqu'à 1 000 mètres d'altitude. D'une grande longévité (100 ans environ), et d'une croissance lente, elle est recherchée pour être cultivé en bonsaï. *Rhamnus alaternus* se développe de façon spontanée sur les coteaux calcaires à une altitude qui varie de 0 à 1000 m. Elle a une répartition méditerranéenne. On la trouve dans les pays d'Afrique du nord, et sur le littoral de l'Europe méridionale.

3. Classification et caractère botanique

Rhamnus alaternus est un arbuste ou arbrisseau à stipules herbacées caduques à feuilles persistantes, luisantes en dessus, et glauques en dessous, très glabres possédant un calice à tube urcéolé avec des fleurs en général dioïques. Le fruit est du genre drupiforme à 2-4 noyaux.

Classification botanique

Le tableau ci-dessous nous montre la classification de *Rhamnus alaternus*.

Tableau 2. Classification botanique et phylogénétique de *Rhamnus alaternus*
(Yi-ling et Pan-Kai , 1982)

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Genre	Rhamnus
Nom binominal	<i>Rhamnus alaternus</i> L

4. Description générale

Rhamnus alaternus (Rhamnacée), localement connue sous le nom de « Imlis » en Algérie, utilisée en phytothérapie, a une taille qui varie de 1 à 5m formant un buisson épais d'un vert assez brillant. Sa croissance est lente mais sa longévité peut atteindre 100ans.

Ses feuilles sont alternes, ovales, courtement pétiolées, épaisses et coriaces (figure 1). Les fleurs sont jaunâtres, petites et unisexuées groupées en bouquets (figure 2). Elles ont cinq sépales qui sont dressées dans les fleurs femelles et rabattus dans les fleurs males, les pétales sont absents. Le fruit est une baie que l'on qualifie de drupe. Il est petit, globuleux, de la grosseur d'un petit pois. Sa surface est d'abord rouge, puis devient noire à maturité (figure 3) Ce fruit présente une pulpe de couleur brunâtre et renferme de 2 à 4 noyaux. Son odeur est nulle mais sa saveur est sucrée et acidulée. La récolte du fruit s'effectue en automne



Figure 1. Présentation de *Rhamnus alaternus* L



Figure 2 : Les fleurs de *R. alaternus*



Figure 3 : Le fruit de *R. alaternus*

5. Description de l'habitat

Rhamnus alaternus est un arbuste qui est distribué le long du bassin méditerranéen, l'Asie et Europe (Gulias et al., 2004). Il se trouve dans les pays d'Afrique du nord : en Algérie, au Maroc ou elle serait commune en Tunisie, et dans les forêts du littoral méditerranéen, en Algérie elle pousse dans les forêts, les rocailles et surtout dans les rochers des montagnes (Ait Youssef, 2006).

6. Composition chimique de *Rhamnus alaternus*

Rhamnus alaternus est caractérisé par une richesse de substances phénoliques qui est spécialement les tanins, les anthraquinones tel que l'émodin, chysophanol, alaternin et physcion qui sont les quatre anthraquinones aglycones isolés des parties aériennes de *Rhamnus alaternus* (Izhaki et al., 2002). La plante contient aussi des flavonoïdes glycosylés tel que kaempferol 3-O-Bisorhamninoside, rhamnocitrin 3-O-B-isorhamninoside et rhamnetin-3-O-B isorhamninoside (Ban Ammar et al., 2009), et des flavonoïdes aglycones comme le kaempferol, quercétine et l'apigénine (Ben Ammar et al., 2008; Ben Ammar et al., 2009). Elle est aussi riche en flavones hétérosides (Stocker et al., 2004) et coumarines (Ben Ammar et al., 2005). La pulpe de *R. alaternus* est composée principalement d'eau (68%), de minéraux, de lipides, protéines et de fibres (cellulose, hemicellulose et lignine) (Izhaki et al., 2002).

7. Principales utilisations

En médecine traditionnelle *R. alaternus* a été employé en tant que digestif, diurétique, laxatif, astringent, hypotensif et pour le traitement des complications hépatiques et dermatologiques (Bhourri et al., 2012). ainsi que les problèmes cardiovasculaires (Calvo et Cavero, 2014). Des études antérieures ont montré que l'extrait brut de *Rhamnus alaternus*, est un puissant antioxydant, antimutagène, anti-génotoxique (Ben Ammar et al 2008 ;Bhourri et al., 2011). antimicrobien (Kosalec et al., 2013). Les tiges et les feuilles de *Rhamnus alaternus* sont utilisées en Algérie, contre la jaunisse et les troubles hépatiques provoqué par le paludisme. Le fruit était utilisé en Algérie comme purgatif doux ; au Maroc- dans le Haut Atlas et le Moyen Atlas, il est toujours employé comme laxatif (Ait Youssef, 2006).

Les parties utilisées : le bois, le fruit, l'écorce ou les feuilles.

Ces parties sont utilisées contre :

- * l'anémie, la jaunisse » ictère » et autres maladies graves d'hémoglobine (écorce, feuilles)
- * Maladies des voies respiratoires. (Baies)
- * purificateur de sang (baies)

- * Femme enceinte (baies)
- * Douleurs d'articulations (feuilles)
- * Inflammation de la bouche et l'aphte. (Feuilles)
- * Traitement de la peau (feuilles)
- * Utilisé en shampooing pour fortifier les cheveux et éliminer les pellicules.
- * Pour laver les morts
- * Apaise les douleurs dentaires et toniques. (Écorce)
- * Traitement des pathologies du côlon et intestins (écorce)

8. Toxicité de *rhamnus alaternus*

Les parties toxiques de la plante sont : Les fruits murs et l'écorce. Cette plante contient des glycosides qui se transforment par hydrolyse en anthraquinones telles que l'émodine (une tri-hydroxy-méthyl-anthraquinone). Ces substances ont un effet purgatif. L'ingestion des fruits provoque des vomissements, des spasmes, des mydriases et des convulsions.

Partie II

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériels et méthodes

Notre travail a été fractionné en deux parties :

* Une partie qui traite la phytochimie (révélation par coloration) et la chromatographie sur couche mince dont le protocole expérimental a été réalisé au laboratoire de biochimie à l'université de Mostaganem

* Une partie théorique portant sur l'analyse bibliographique des études antérieures de *Rhamnus alaternus* en se basant sur une documentation relative aux thèses et publications

1. Objectifs d'étude

L'intérêt de ce travail est la valorisation d'une plante médicinale connue par la population Algérienne et qui est *Rhamnus alaternus* poussant à l'état spontané dans la région de Mostaganem. Cette valorisation vient dans le but de mettre en évidence sa richesse en métabolites secondaire et son activité biologique.

2. Matériel biologique

*Le **matériel végétal** utilisé est constitué des parties aériennes et des racines de *rhamnus alaternus* récolté dans une forêt située dans la commune de SAFSAF daïra de Souafliia, wilaya de Mostaganem, au cours du mois de fin Février début Mars.



Figure 4. *Rhamnus alaternus*

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Genre	Rhamnus
Nom binominal	<i>Rhamnus alaternus</i> L

3. Matériels de laboratoire utilisé

Les réactifs	Verreries et appareils
Méthanol- Ethanol- FeCl ₃ - Folin – CO ₃ N ₂ –HCl- Mgcl ₂ - Chloroforme- Réactif de Mayer- H ₂ cl ₂ - KI- Réactif de Wagner-I ₂ - NH ₂ OH-Andhydre acétique- H ₂ SO ₄ - Na OH-Liqueur de Fehling A et B - Eau distillée .FeCl ₃	Tubes à essai- éprouvette graduée- flacons- bécher- entonnoir-papier filtre- balance, bain marie- micropipette- agitateur, rota- vapeur – plaque chauffante-Centrifugeuse- mortiers- plaque de silice

4. Méthodes

4.1. Préparation de la matière végétale

La partie aérienne de *R. alaternus* constituée de (rameaux et feuilles) ,ainsi que les racines ont été nettoyées des impuretés, puis séchées à température ambiante et à l'ombre pendant quelques jours, jusqu'elles sont devenues sèches , ensuite broyées à l'aide d'un mortier puis dans un robot électrique pour avoir une poudre qui est stockée dans des boites fermées , placées dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à leur utilisation (figure 5 : a, b, c)

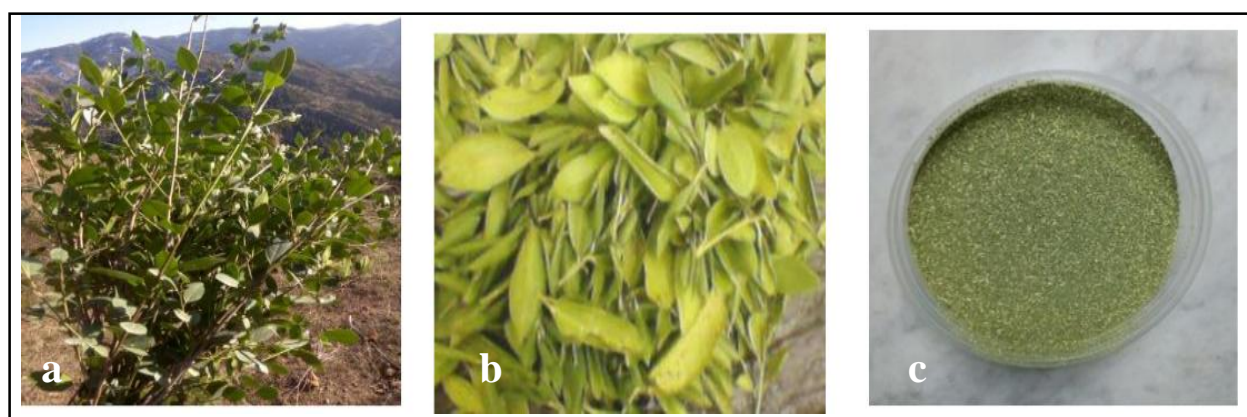


Figure 5. La partie aérienne de *Rhamnus alaternus* L : (a : fraîche ; b : sèche ; c : poudre).

4.2. Préparation de l'extrait par infusion

- Introduire 10g de poudre végétale dans 100ml de l'eau distillé bouillie
- Laisser infuser pendant 15 min ensuite filtrer la préparation et conserver dans des flacons propres au réfrigérateur

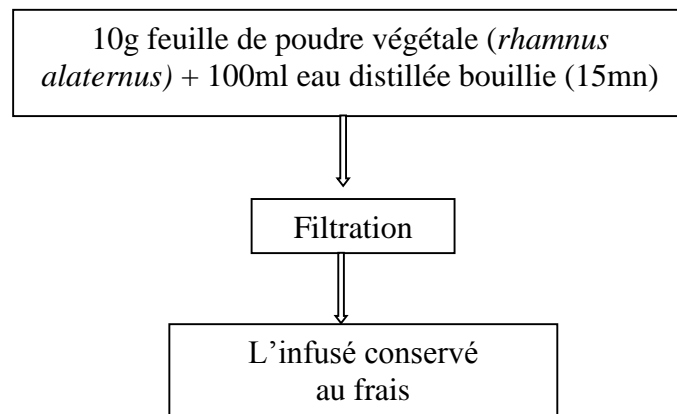


Figure 6. Protocole de préparation de la solution d'infusion

4.3. Préparation de l'extrait par décoction

- Introduire 10g de poudre végétale (racines) dans 100ml de l'eau distillé
- Chauffer à une température d'ébullition stable, pendant 1 heure, dans une plaque chauffante avec agitateur.
- ensuite filtrer la préparation et conserver dans des flacons propres au réfrigérateur

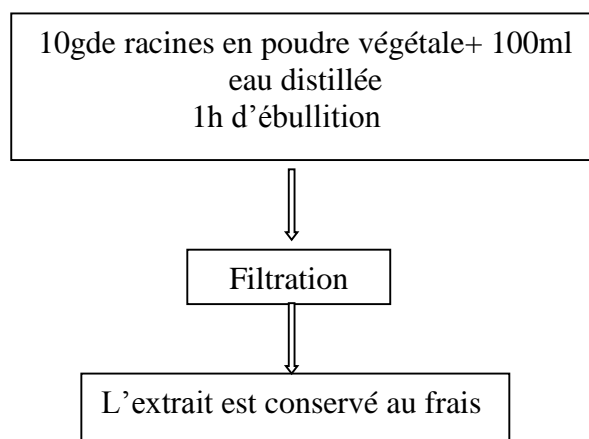


Figure 7. Protocole de préparation de la solution décoction

4.4. Préparation de l'extrait par macération alcoolique

* Préparation de la macération alcoolique avec le méthanol 96%,

-1g de la poudre végétale (*Rhamnus alaternus*) a été mis à macérer dans 10ml de méthanol à température ambiante pendant 2h, ensuite filtrer et laisser à l'air libre pour une dessiccation totale

- L'extrait brute est récupéré avec quelques gouttes d'eau distillée dans des flacons stérilisés et opaques ensuite conservé dans le réfrigérateur jusqu'au moment de l'utilisation

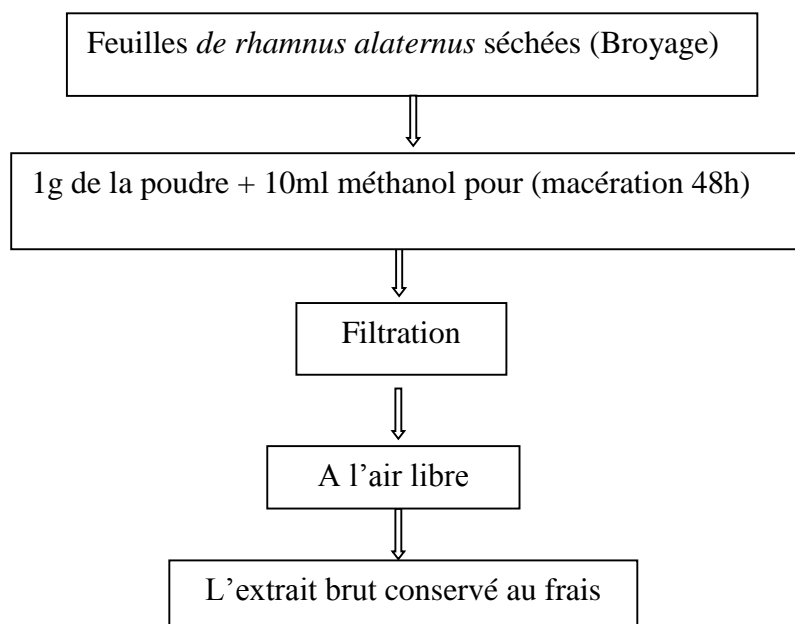


Figure 8. Protocole de préparation d'extrait méthanolique par macération

4.5. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont réalisés sur les extraits de l'infusion des feuilles et décoction de racines de *rhamnus alaternus*

A. Les tanins

Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de solution aqueuse de $FeCl_3$ à 1 %. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre

B. Les coumarines (Fluorescence UV)

Introduire 2 ml d'extrait dans un tube, ajouter 0,5ml de NH_4OH à 25 %. Mélanger et observer sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines

C. Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de solution aqueuse de FeCl_3 puis 1 ml de HCl , la coloration jaune ou orange apparaît

D. Les anthocyanes

-1ml de l'extrait est ajouté au 1ml de H_2SO_4 à 10% (agitation) 1 ml de NH_4OH à 10%.

-la présence d'anthocyanes est affirmée par une coloration bleue

E. Les alcaloïdes

2.5 ml d' HCl à 1 %, sont ajoutés à 1 ml d'extrait puis incubés au bain- marie pendant 10 min.

***Réactif de Mayer**

-Prendre 1,4ml de H_2Cl_2 dans 60 ml d'eau distillé puis ajouter à 5g de KI 10ml d'eau distillé.

Mélanger les deux préparations et ajuster le volume total à 100ml.

-Ajoute le réactif de Mayer à la solution

L'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes

F. Les terpénoïdes

-Mélanger 1 ml de chloroforme et 1.5 ml de H_2SO_4 avec 2.5 ml d'extrait .La présence des terpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron en interphase.

G. Les saponines

- Ajouter 1 ml d'eau distillée à 2 ml de solution d'extrait

- Agitation pendant 1 minute

L'apparition d'une mousse qui persiste durant 15 minutes et dont l'épaisseur égale ou dépasse 1 cm. indique la présence des saponines

5. Chromatographie sur couche mince (CCM)

L'étape de chromatographie nous a été intéressante pour séparer la composante des flavonoïdes et des alcaloïdes. Nous avons procédé les étapes suivantes :

Préparation de l'extrait méthanolique

- 1g de feuille de *R. alaternus* a été mis à macérer dans 10ml de méthanol pendant 2h

Activation de la plaque CCM

- 2 plaques de CCM ont été mises à l'étuve réglée à 35° pendant 20 mn dans le but d'activer la silice (Figure 9)



Figure 9. Activation de la plaque CCM

Préparation de la cuve chromatographique

- Introduire l'éluant ou le mélange de solvants dans la cuve. L'éluant est un solvant présentant la phase mobile, il est préparé à base de 4v/4v/2v (méthanol éthanol et l'eau distillé), le niveau est ajusté à environ 1cm du fond de la cuve.
- Garnir l'intérieure de la cuve d'un papier filtre imprégné d'éluant et plaqué contre les parois, une ouverture est ménagée dans le filtre pour observer le développement du chromatogramme.
- Fermer le récipient (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant)

Dépôt de l'échantillon sur la plaque

Déposer environ 0.5ml de la solution en un point situé à 1cm de l'extrémité inférieure de la plaque (Figure 10, A) ; le diamètre de la tache doit être d'environ 2mm pour la disposition de plusieurs produits, ensuite sécher à l'aide d'un séchoir (Figure 10,B) ; éventuellement faire de nouvelles applications

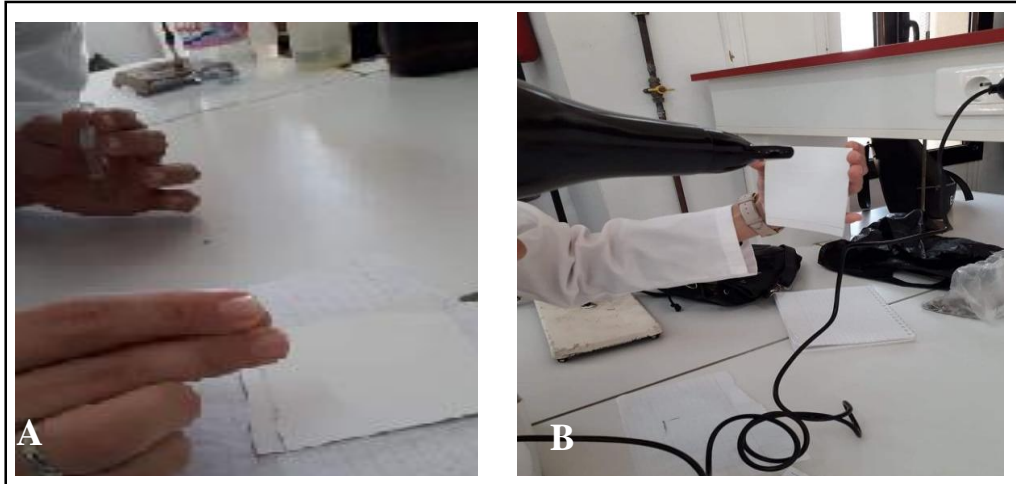


Figure 10 : Dépôt de l'extract au niveau de la plaque(A) et séchage (B)

Développement du chromatogramme

- Placer la plaque dans la cuve en position verticale (Figure 11)- Refermer le récipient qui ne doit plus être déplacé.

Lorsque le front du solvant se trouve à environ 1cm de l'extrémité supérieure de la plaque, la retirer et marquer cette position. (Le trait peut être tracé à l'avance et servir de repère pour arrêter l'élution



Figure 11. Contact de la plaque avec l'éluant

Révélation

- Sécher la plaque à l'aide d'un séchoir.
- révéler les flavonoïdes en pulvérisant la première plaque par le FeCl_3 les alcaloïdes pour la deuxième par le dragondrof
- Cercler les taches et pointer leur centre.
- Calculer les R_f (R_f : retarding factor ou rapport frontal $R_f = d_i/d_s$)



Partie III
RESULTATS ET DISCUSSIONS

Résultats et discussions

I. Résultats et interprétations des tests photochimiques

Dans le but de mettre en évidence la composante phytochimique de *Rhamnus alaternus*, des tests phytochimiques ont été effectués sur les extraits aqueux de décoction (racine) et d'infusion (feuilles). Le tableau (3) et les figures numérotées du chiffre 12, jusqu'au 18 regroupent l'ensemble de ces résultats ; Les légendes **Te** et **Ts** correspondent respectivement au témoin et aux tests. Il est à noter que la décoction est utilisée pour les racines et l'infusion pour la partie aérienne

Tableau 3 : Tests phytochimiques des racines et feuilles de *rhamnus alaternus*
(Extrait aqueux par infusion et décoction)

Métabolites secondaires	Décoction	Infusion
Tanins	+++	+++
coumarines	—	+++
Flavonoïdes	+++	+++
anthocyanes	—	—
alcaloïdes	+++	+++
Terpénoïdes	++	+++
Saponines	+++	+++

+++ : Fortement positif ; — : Négatif ++ : Moyennement positif

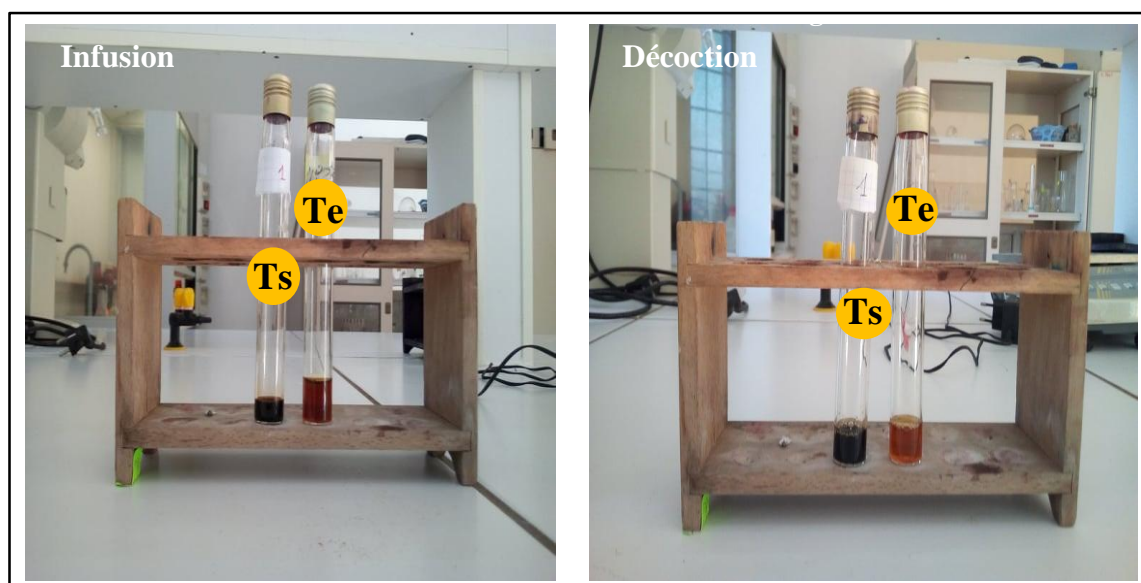


Figure 12 : Mise en évidence des tanins par le réactif de Mayer

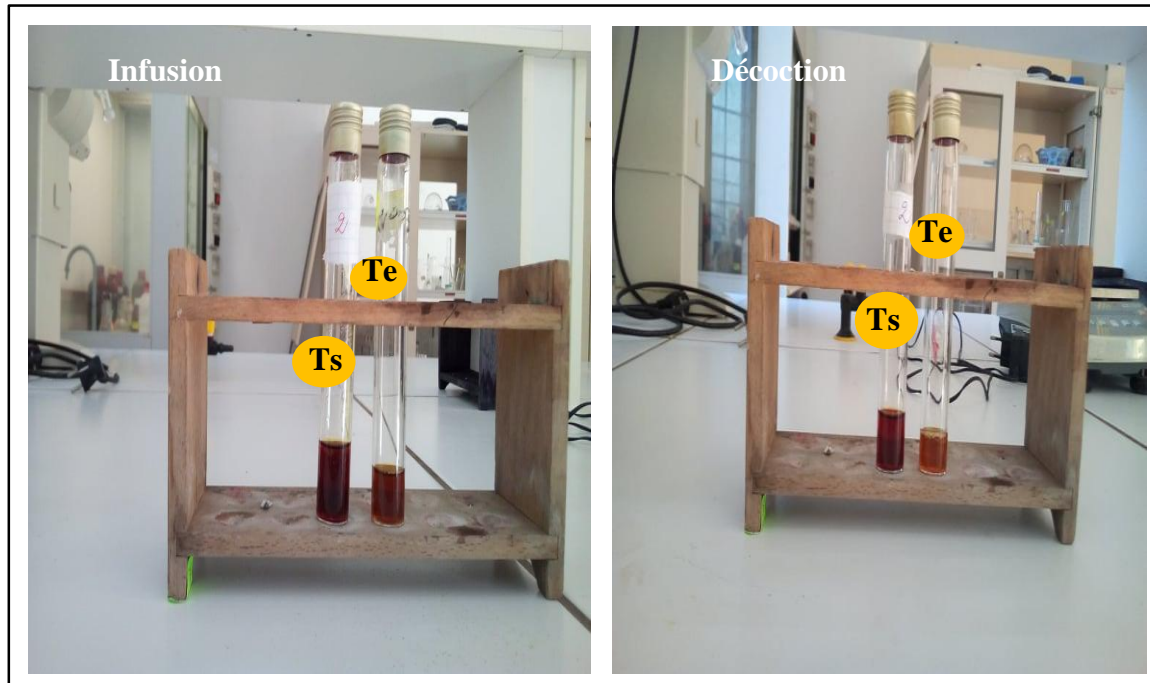


Figure 13. Mise en évidence des coumarines

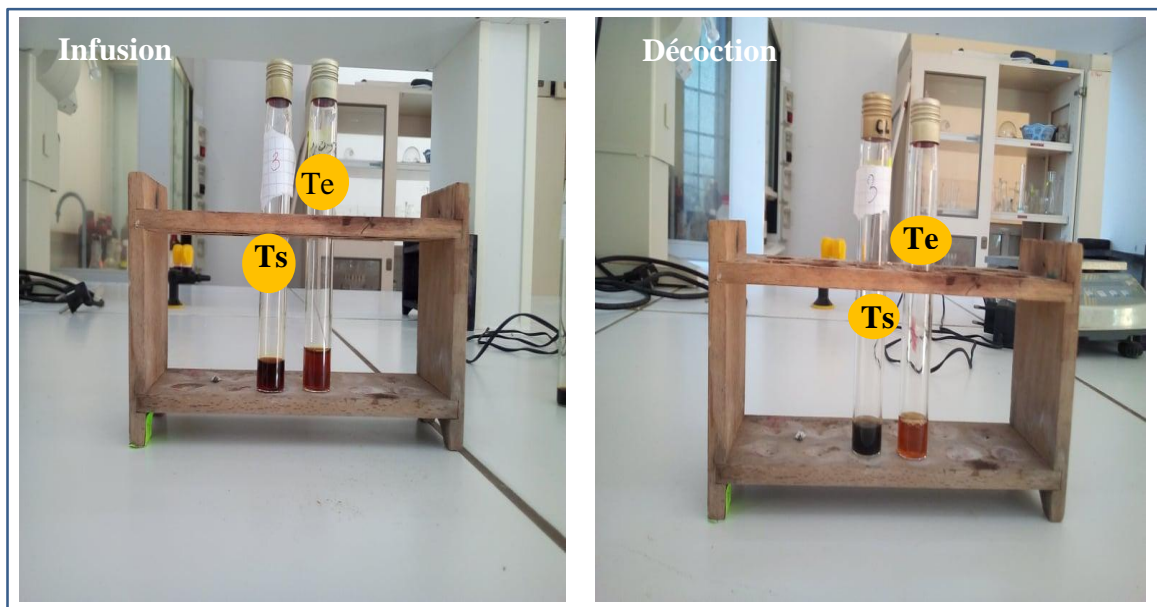


Figure 14. Mise en évidence des flavonoïdes

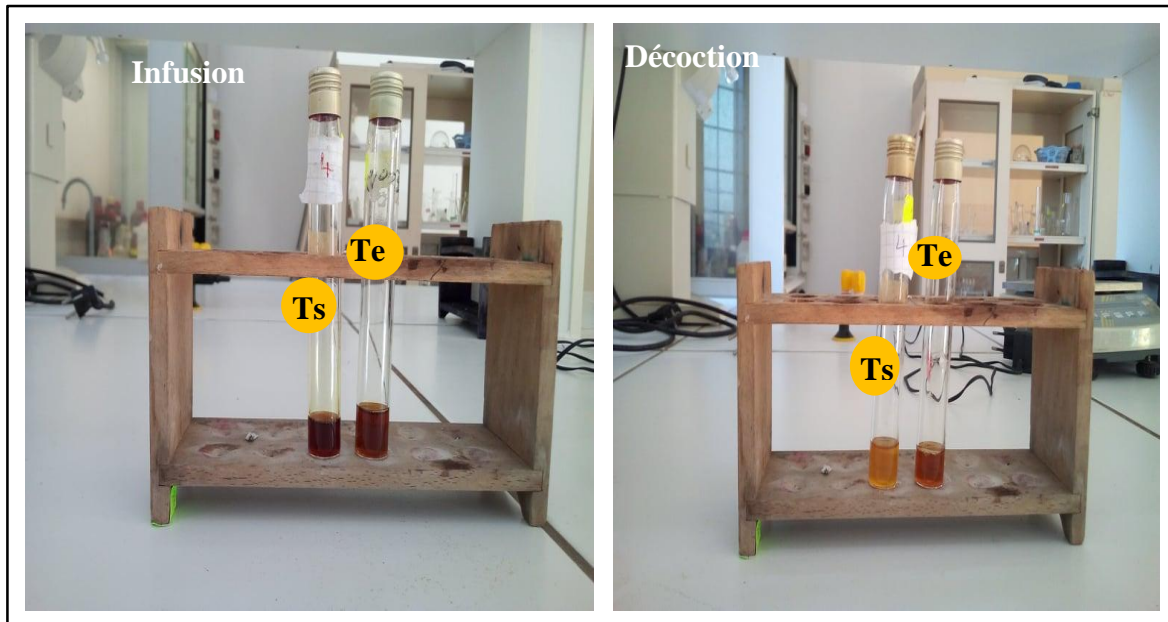


Figure15. Mise en évidence des anthocyanes

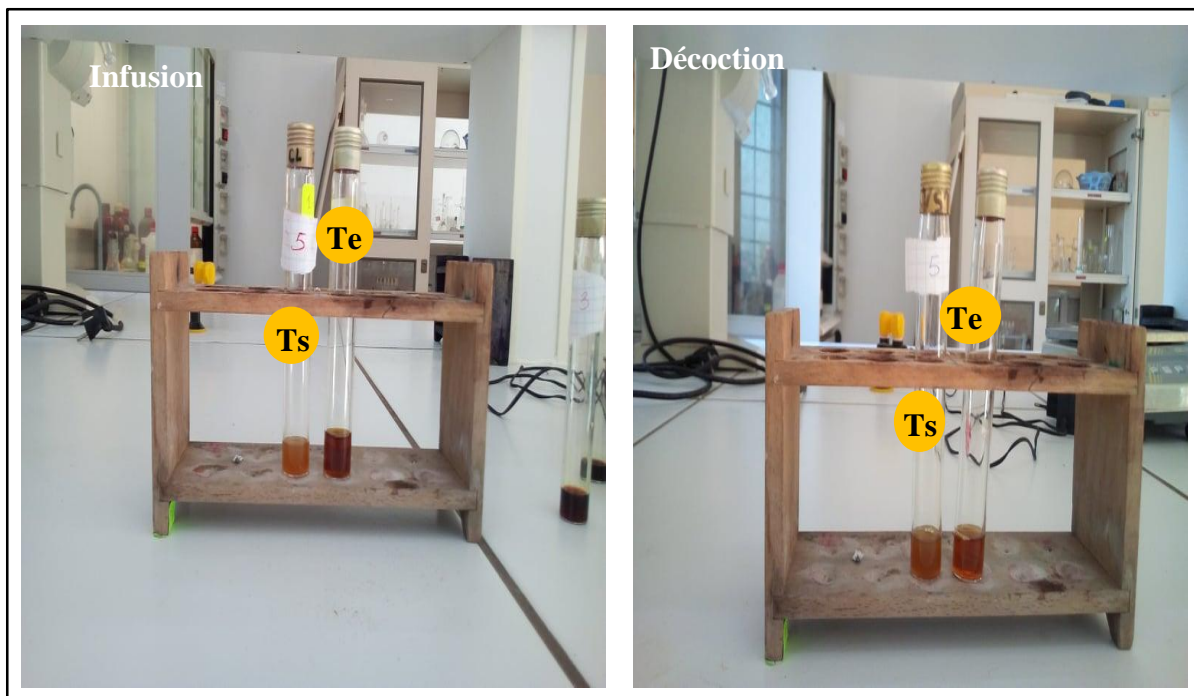


Figure16. Mise en évidence des alcaloïdes

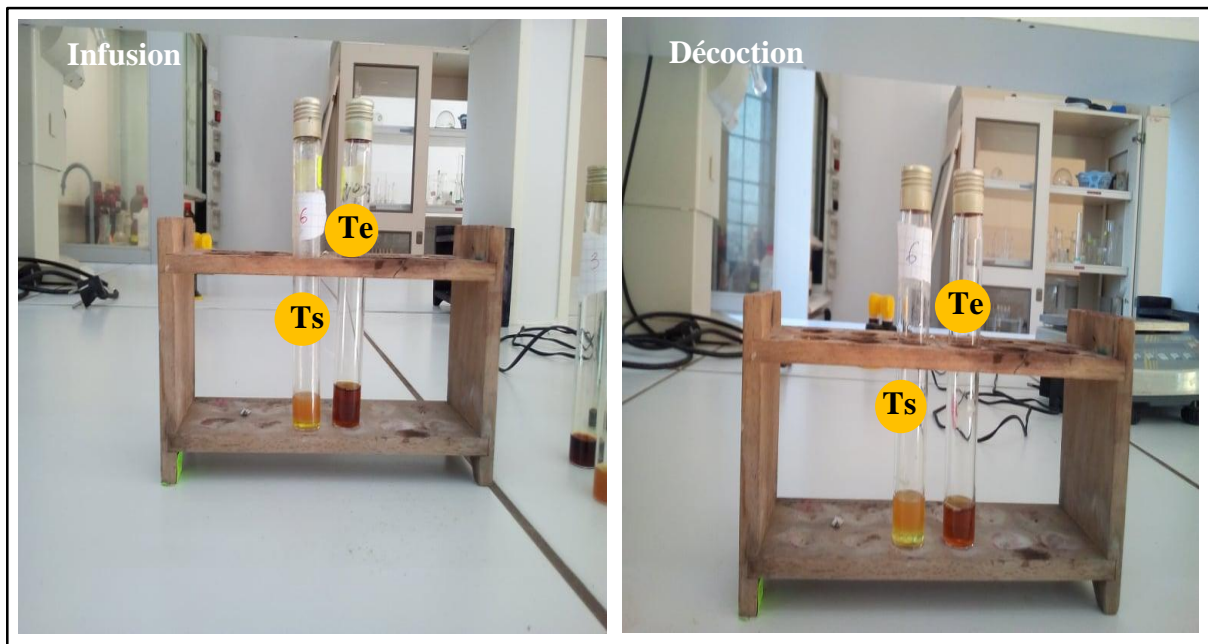


Figure 17. Mise en évidence des terpénoïdes

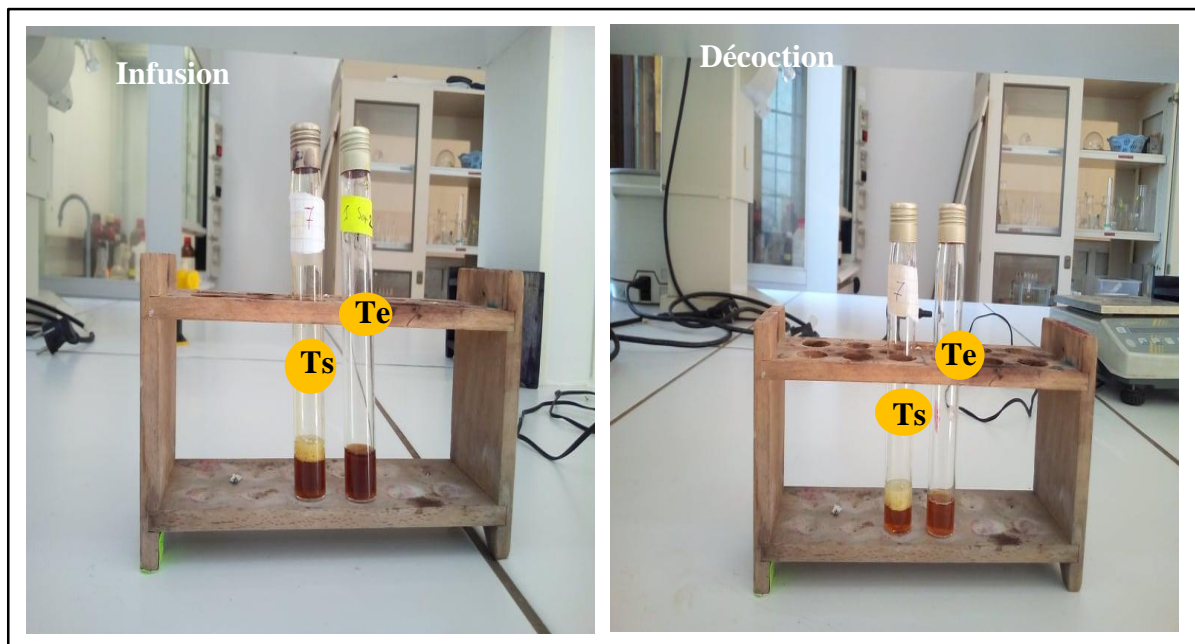


Figure 18. Mise en évidence des saponosides

Interprétation

➤ D'après les résultats obtenus des tests phytochimiques des parties aériennes et des racines de *rhamnus alaternus* (tableau3), (figure12 jusqu'au 18), nous avons remarqué que la majorité des métabolites secondaires testés ont été révélés positivement pour les deux extraits aqueux d'infusion (partie aérienne) et de décoction (racines) nous citons : les alcaloïdes, les tanins, les saponosides et les flavonoïdes

➤ Nous avons remarqué que les terpénoïdes sont présents plus positivement dans l'extraits aqueux par infusion par rapport à la décoction (tableau 3), cela indique leur abondance au niveau des parties aériennes. Cette abondance des terpénoïdes reste à vérifier par des tests quantitatifs. Concernant les anthocyanes ils sont absents pour les deux types d'extraits. Par contre la présence des saponosides est très importante au niveau des organes végétatifs testés de *Rhamnus* (tableau 3), (figure 18) .Pour les coumarines ils sont révélés seulement au niveau de l'infusion. Ces résultats sont basés sur la révélation de l'intensité de la coloration pour chaque test vis à vis des extraits utilisés (figure 12 jusqu'au 18).

II. Discussion

Nos résultats s'accordent avec ceux enregistrés des travaux antérieurs (**Hamiani, 2018 ; Ben Ammar, 2008 ; Beloued, 2005**). Ces auteurs ont confirmé la richesse des extraits des parties aériennes et racinaires en flavonoïdes, alcaloïdes et en tanins.

Trois types de flavonoïdes ont été isolés à partir des feuilles *R. alaternus* dans les travaux de **Bhourri et al (2011)** et **Ammar et al (2009)** et qui sont : Kaempferol 3-O-b-isorhamninoside ; rhamnocitrin 3-O-b-isorhamninoside et rhamnocitrin3-O-b iso-rhamninoside. Ces types de flavonoïdes protège contre les dommages de l'ADN dans les cellules lymphoblastoïdes humaine et améliore l'activité anti-oxydante selon les mêmes auteurs

II. Résultats de la CCM

La figure (19) présente les résultats de chromatographie sur couche mince appliquée sur l'extrait de macération méthanolique

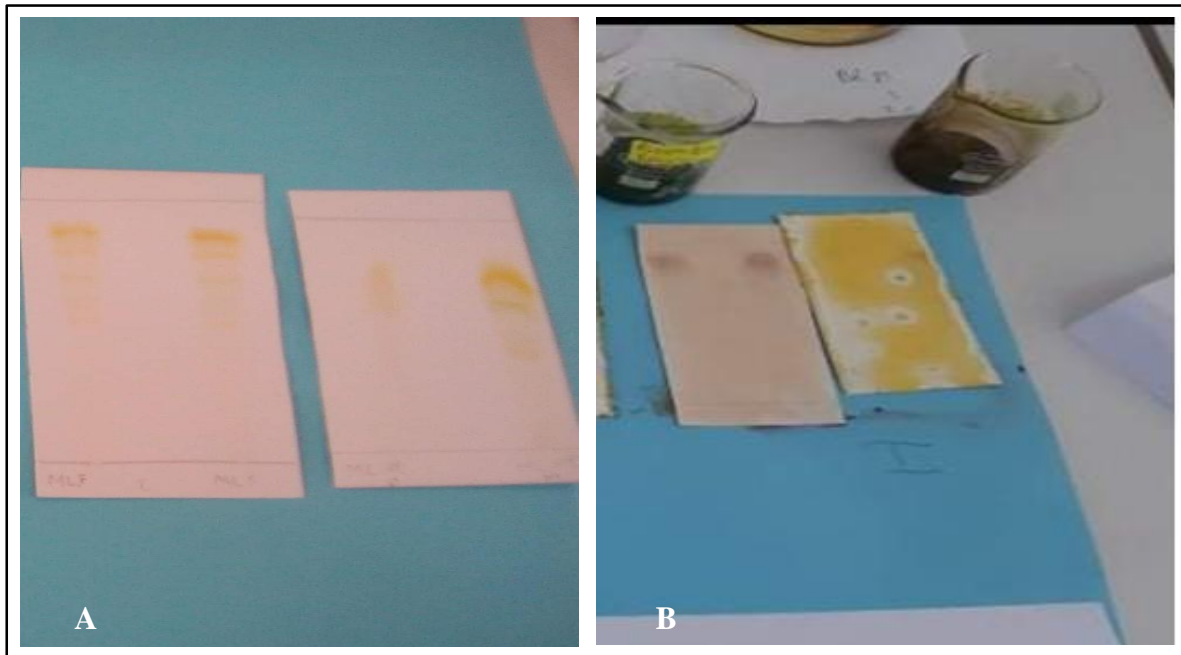


Figure 19. Résultat de la CCM. A : avant révélation B : après révélation

Après pulvérisation des plaques de CCM, le réactif $FeCl_3$ a révélé la présence des flavonoïdes sous forme de tache colorée en bleu violacée (figure 19, B) et les alcaloïdes sont mis en évidence par le réactif de Dragendorff sous forme de tache coloré en orange (figure 19, B)

Le nombre des spots ne sont pas très visibles cela est peut être lié à la qualité du révélateur

Partie IV

*ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE
DE L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE
DE R. ALATERNUS*

Partie IV

Analyse bibliographique de l'activité biologique de Rhamnus alaternus L des travaux de Benchiha (2016)

I. Introduction

Rhamnus alaternus L est une espèce végétale vivace qui pousse presque dans toute la région méditerranéenne (Quezel et santa 1963). Cette plante est traditionnellement utilisée dans nombreux pays du monde. En Algérie le fruit est utilisé comme purgatif, les feuilles sont employées également en gargarisme contre les maux de gorge. L'écorce permet de soulager la constipation.

Dans cette étude analytique, il nous a été intéressant de présenter un travail de thèse de doctorat en Sciences réalisé par **Benchiha (2016)** et qui porte sur l'activité biologique de *Rhamnus alaternus* en générale dont le thème est :

**« Phyto-écologie et étude biochimique des composants phénoliques
(traitement in vivo contre hépatite) de *rhamnus alaternus* des monts de
Tessala wilaya de sidi Belabbes »**

Dans cette étude l'auteur a mis en évidence le pouvoir antibactérien et antifongique des extraits flavonoïques des feuilles et des écorces ainsi que l'activité anti-oxydante. L'action pharmacologique anti-hépatotoxique des extraits phénolique a été aussi évaluée.

II. Présentation du site d'étude

L'auteur a présenté une étude phytoécologique en se basant sur les caractéristiques édaphiques et floristiques de la station d'échantonnage (Monts de Tassala) où il prospère *R. alaternus*. Les résultats ont fait ressortir que cette espèce est caractéristique des garrigues

III. Extraction et dosage des flavonoïdes totaux

- L'extraction des flavonoïdes par des différents solvants à partir des feuilles et des écorces de *R. alaternus* a été effectuée selon les étapes suivantes :

-Macération dans un mélange méthanol/eau. (7/3 : V/V) sous agitation de 24h à température ambiante

- Filtration sous vide et obtenir de l'extrait brut (Ex.Br) puis détermination du rendement d'extraction à partir de lyophilisation

- Préparation de l'extrait hexanique (Ex .Hex) à partir de l'extrait brute

- Extraction de la phase aqueuse plusieurs fois par le chloroforme puis à l'acétate d'éthyle pour avoir l'extrait chloroformique (Ex. Cl) et l'extrait Acétique (Ext .Ac)

Les rendements de l'ensemble des extraits ont été calculés à base d'une congélation et lyophilisation.

Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes a été effectuée à l'aide du trichlorure d'Aluminium et la soude. La teneur est exprimée en mg équivalent de la catéchine par gramme d'extrait.

La lecture des absorbances a été faite à partir du spectrophotomètre UV. Visible à 430nm

III.1.Résultats et interprétations

Tableau 4 : Rendement des différentes fractions flavonoïdes (**Benchiha, 2016**)

Extrait Flavonoïques	Rendement % (au broyat)	Rendement% (à Ex.Br)
Ex. Br	36.6	100
Ex. Hex	4.88	13.33
Ex. Ch	5.68	15.52
Ex. AC	7.2	19.67
Ex. aq	13.8	37

Ex.Br : extrait brut Ex. Hex ; extrait hexanique Ex.Ch : extrait chloroformique
 Ex. AC : extrait d'acétate Ex.aq : extrait aqueux

Les rendements ont été déterminés par rapport au poids total de matière végétale réduite en poudre et par rapport à l'extrait méthanolique (l'extrait brut) (tableau 4), l'extrait brut présente le maximum de rendement (36.6 %) du poids de matière sèche des feuilles. Par rapport à l'extrait brut, l'extrait aqueux présente le rendement le plus élevé (37%) (tableau 4)

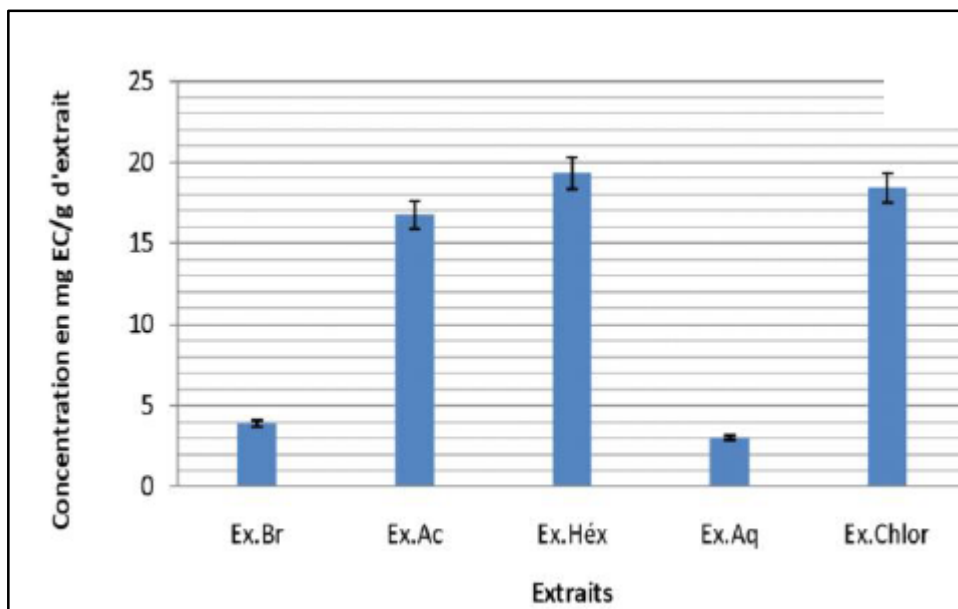


Figure 20 : Teneur en flavonoïdes totaux pour les 5 extraits des feuilles de *R. alaternus* (Benchiha, 2016)

Les concentrations des flavonoïdes sont relativement importantes dans l'ensemble des extraits, la valeur la plus élevée est enregistrée au niveau de l'extrait hexanique (Ex. Hex) (19.33mg EC/G d'extrait) (figure 20)

IV. Evaluation du pouvoir antibactérien et antifongique

Le pouvoir antibactérien et antifongique des extraits flavonoïques obtenus à partir des feuilles et des écorces a été réalisé sur trois souches bactériennes (*Escherichia coli* ATTC 25922, *Bacillus cereus* ATTC 10876, *Proteus mirabilis* ATTC 35659) et deux souches fongiques (*Candida albicans* ATTC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATTC 16404) en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé

IV.1. Résultats et interprétations

Tableau 5 : Classement des extraits flavonoïques des feuilles de *R. alaternus* selon leurs effets antimicrobien et des souches microbiennes selon leur sensibilité (Benchaha, 2016)

Type de test et de souches		Extraits		Sensibilités							
				Résistante (-)		Intermédiaire (±)		Sensible (+)		Totaux	
				N	%	N	%	N	%	N	%
Test antibactérien	Ex.Br	12	80	3	20	0	0	15	100		
	Ex.Héx	8	53	4	26	3	20	15	100		
	Ex.Chl	8	53	4	26	3	20	15	100		
	Ex.Ac	9	60	4	26	2	20	15	100		
	Ex.Aq	11	73	4	26	0	0	15	100		
Test antifongique	Ex.Br	1	10	2	20	7	70	10	100		
	Ex.Héx	2	20	1	10	7	70	10	100		
	Ex.Chl	0	0	3	30	7	70	10	100		
	Ex.Ac	3	30	0	0	7	70	10	100		
	Ex.Aq	1	10	1	10	8	80	10	100		
		Souches microbienne									
Bactéries	<i>Bacillus cereus</i>	6	24	11	44	8	32	25	100		
	<i>Escherichia coli</i>	19	76	6	24	0	0	25	100		
	<i>Proteus mirabilis</i>	23	92	1	4	1	4	25	100		
Champignons	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	0	0	0	0	25	100	25	100		
	<i>Candida albicans</i>	7	28	6	24	12	48	25	100		

N : nombre de test

➤ Les extraits flavonoïdes ont révélés des activités antibactériennes et antifongiques variables vis-à-vis des souches microbiennes testées en fonction du type d'extrait, l'organe végétatif et ainsi que la sensibilité de la souche microbienne. (tableau5). Cependant l'activité antifongique est plus remarquable par rapport à l'activité bactérienne. l'activité antibactérienne la plus remarquable est enregistrée pour les extraits bruts des feuilles de *rhamnus alaternus*. (tableau5)

➤ Tous les extraits flavonoïques sont révélés un bon fongistatique

➤ Les souches bactériennes ont été classées selon leurs sensibilités comme suite :

P. mirabilis est plus résistante 92% > *E. coli* 76 % > *B. cereus* 24%

V. Evaluation du pouvoir antioxydant

V.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 515 nm. En présence de composants anti-radicalaire le DPPH est réduit en changeant de couleur et en virant vers le jaune. Les absorbances mesurées à 515 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH qui est proportionnellement au pouvoir radical de l'échantillon.

La méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait est mesuré par la procédure décrite par **Benhamou et al (2006)**. Les valeurs sont comparées aux standards phénoliques.

Le calcul des pourcentages de l'activité anti-oxydante est effectué par la formule suivante :

$$AA \% = \left(\frac{Ac - At}{Ac} \right) 100$$

AA : activité anti-radicalaire

Ac : absorbance du control négatif (méthanol + solution méthanolique DPPH)

At : absorbance de l'extrait végétal

V.2. Résultats et interprétations

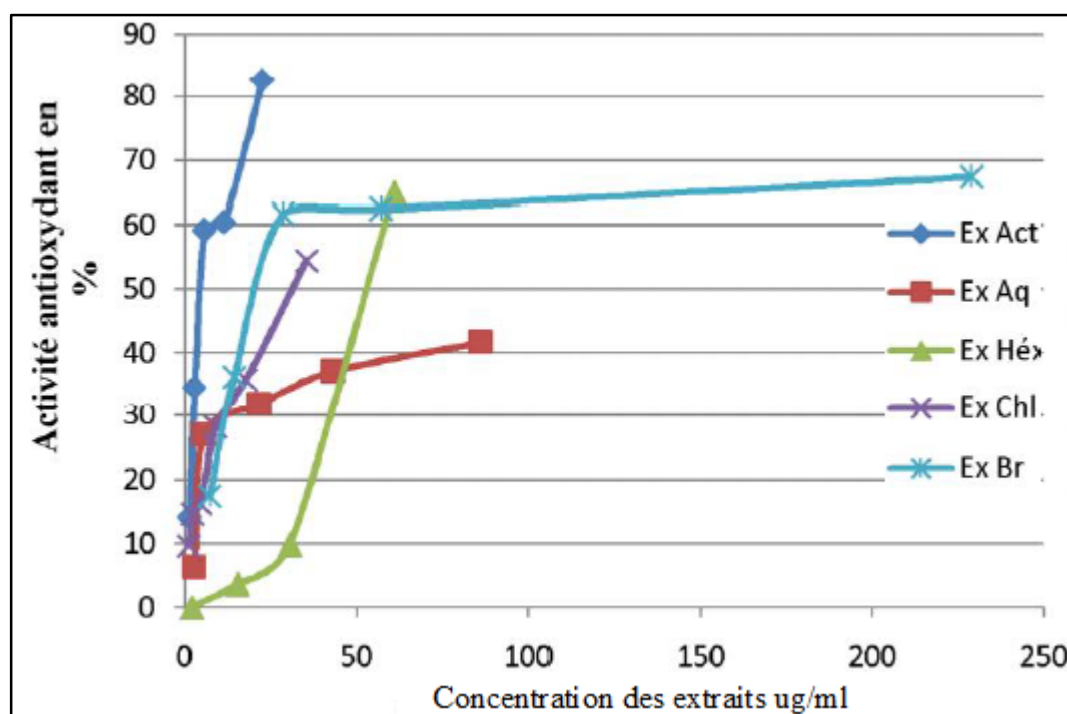


Figure 21 : Variation de l'inhibition de DPPH en fonction de la concentration des extraits flavonoïques des feuilles de *Rhamnus alaternus* L (Benchih, 2016)

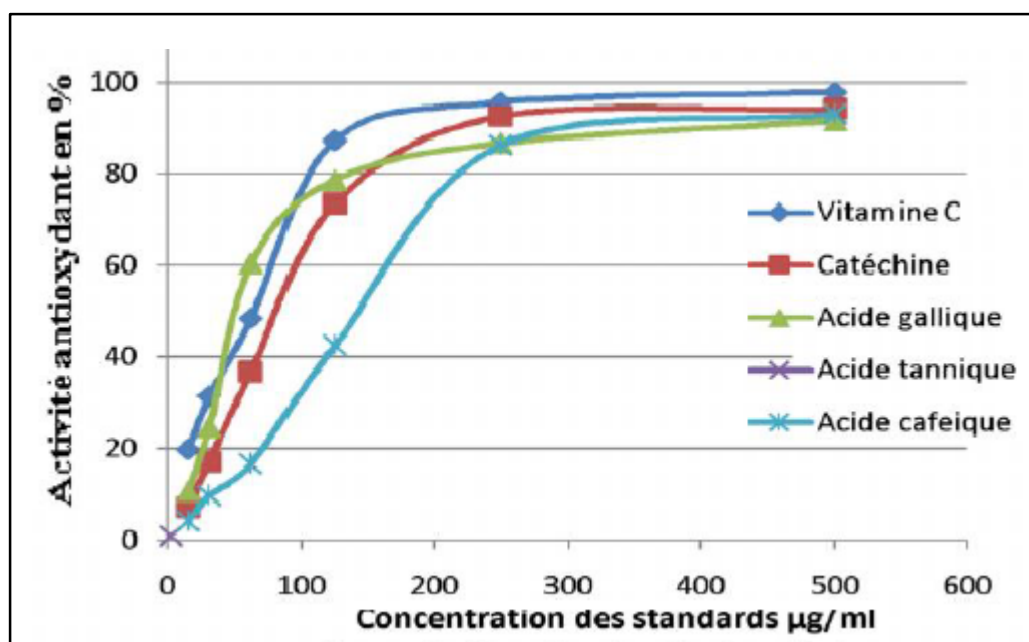


Figure 22 : Variation de l'inhibition de DPPH en fonction de la concentration des standards
(Benchihha ,2016)

Les valeurs enregistrées par le spectrophotomètre ont montré que quel que soit l'extrait flavonoïque ou le standard phénolique testé, les pourcentages d'inhibition du radical stable (DPPH) augmente toujours avec l'augmentation des concentrations. (Figures 21 et 22). Les pourcentages d'inhibition les plus élevés sont obtenus avec les plus fortes concentrations (500ug/ml pour les standards et 250ug/ml pour les extraits). (Figures 21 et 22).

Tableau 6 : Concentrations minimales inhibitrices 50 (CI50) des standards phénoliques et des extraits flavonoïques des feuilles de *R. alaternus* (Benchihha ,2016)

Standards	CI50 ug/ml	Extraits flavonoïques	CI50 ug/ml
Vitamine C	74.56	Ex.Br	8.64
Acide gallique	101.78	Ex. Hex	9.98
Catéchine	143.78	Ex.Ch	154.08
Acide tannique	205.41	Ex. Ac	30.49
Acide caféique	201	Ex. Aq	74.16

L'activité anti-radicalaire des extraits est exprimée par les concentrations minimales 50 (CI50) qui est inversement liée à la capacité anti-oxydante de l'extrait testé (quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50%). Plus la valeur de la CI50 est faible plus l'activité anti-oxydante est forte.

Selon les résultats (tableau 6), l'activité anti-oxydante la plus remarquable est enregistrée pour les extraits bruts des feuilles de *rhamnus alaternus* (8.64ug/ml), pour les standards la valeur est pour l'acide ascorbique (74.56 ug/ml) (tableau 6)

VI. Evaluation de l'activité pharmacologique anti-hépatotoxique

VI.1. Préparation des extraits

Pour être proche de la forme galénique traditionnelle d'utilisation de la drogue telle que préconisée par les thérapeutes traditionnels, l'auteur a procédé à une décoction et macération aqueuse pour l'obtention des extraits d'étude.

* **décoction lyophilisée** : 500g de poudre de feuilles de *R. alaternus* / 2l d'eau distillée pendant 2h, le filtrat passé à la lyophilisation

* **Macération aqueuse lyophilisée** : Il a été obtenu dans les mêmes conditions que le lyophilisat du décocté mais la macération était à froid sans aucune opération de chauffage.

VI.2. Test anti-hépatotoxique

Pour déterminer les propriétés hépato-protectrices, l'auteur a suivi la démarche de **Rao et Mishra (1997)**.

5 groupes de 06 rats ont été réparties comme suit :

- Gr 1 : témoin normal (administration quotidienne par voie orale de solution de gomme arabique pendant 09 jours)
- Gr 2 : témoin normal intoxiqué (même procédé que le Gr 1 mais durant tout le temps que dure l'expérience)
- Gr 3 : administration de la sylimarine
- Gr 4 et 5 : groupes tests (administration 1fois par jour durant le temps que les essais respectivement, le décocté aqueux lyophilisé (Gr 4) et le macéré aqueux lyophilisé (Gr 5))
- Au 7eme jour tous les rats des différents groupes à l'exception de ceux du Gr 1 ont reçu le tétrachlorure de Carbone CCL₄ (0.5 mg/kg)
- Au 10 ème jour de l'épreuve tous les rats ont été sacrifiés
- Le prélèvement du sang par ponction cardiaque est destiné à l'estimation des marqueurs

biochimiques de l'intoxication hépatique (la transamine, la phosphatase alcaline, la bilirine)

VI. 3. Résultats et interprétations

Tableau 7 : Comparaison des effets anti-hépatotoxiques de l'extrait étudié au regard du pourcentage moyen de réduction de l'hépatotoxique (CCL₄, 0.5mg/kg) (Benchiha ,2016)

Extraits testés	Doses (mg/kg)	Pourcentage moyen de réduction/ensemble des 4 paramètres biochimiques
Silymarine	100	44,68 %
Décocté	250	76,28 %
lyophilisé		
Macéré	250	74,16 %
lyophilisé		

L'administration des extraits végétaux aux rats des groupes testés provoque une restauration des marqueurs biochimiques vers une évolution à la normale comme celle du traitement par silymarine. Ceci illustre à la capacité des extraits à assurer une protection de l'intégrité des membranes des hépatocytes contre l'intoxication organochlorée CCL₄ (tableau7).

Conclusion générale

Rhamnus alaternus L (Rhamnaceae) est une espèce abondante en région méditerranéenne, commune en Algérie. Cette plante a été négligée par rapport aux autres plantes beaucoup moins fréquente, ainsi donc ses effets sur les diverses pathologies nous ont poussé à valoriser cette espèce en mettant en évidence ces composés phytochimiques et en démontrant théoriquement ces activités biologiques

Notre travail a été divisé en deux volets :

✚ Dans le premier volet nous avons procédé à l'extraction des molécules bioactives par la méthode d'extraction méthanolique, par infusion des feuilles et par décoction des racines ainsi que la révélation du criblage phytochimique de *R.alaternus* récolté dans la commune de SAFSAF (wilaya de Mostaganem)

✚ Dans un deuxième volet, nous avons analysé bibliographiquement quelques propriétés d'activités biologiques de cette plante à savoir, l'activité anti-microbiologique anti-oxydante.et anti hépatotoxique

✚ Les résultats des tests phytochimique ont mis en évidence une richesse de métabolites secondaires pour les deux types d'extraits aqueux notamment les alcaloïdes, les tanins, les saponosides et les flavonoïdes. La caractérisation des flavonoïdes et des alcaloïdes par la chromatographie sur couche mince appliquée sur l'extrait méthanolique n'a pas donné des résultats satisfaisants (un seul spot pour les alcaloïdes et flavonoïdes colorés respectivement en orange et bleu violacée)

✚ l'étude analytique des travaux réalisés par **Benchina (2016)**, relatifs à l'espèce *Rhamnus alaternus*, nous a été utile pour mieux comprendre les démarches que l'auteur a suivies pour réaliser son projet d'étude à savoir, les protocoles expérimentaux de l'extraction des flavonoïdes par des différents solvants organiques à partir des feuilles et des écorces ; la méthode de diffusion en milieu gélosé sur trois souches bactériennes et deux souches fongiques pour l'activité antimicrobienne et la méthode appliquée sur le test de piégeage du radical libre DPPH pour l'activité anti-oxydante.

Concernant l'activité anti-hépatotoxique l'auteur a appliqué le Test anti- hépatotoxique in vivo (les rats) des extraits préparés de *R. alaternus*. Le prélèvement du sang par ponction cardiaque

est destiné à l'estimation des marqueurs biochimiques de l'intoxication hépatique (la transamine, la phosphatase alcaline, la bilirine)

✚ Les résultats de ces activités biologiques ont montré que :

➤ L'activité antibactérienne la plus remarquable est enregistrée pour les extraits bruts des feuilles et tous les extraits flavonoïques sont révélés un bon fongistatique

➤ Les pourcentages d'inhibition du radical stable (DPPH) les plus élevés sont obtenus avec les plus fortes concentrations des extraits.

➤ l'administration des extraits végétaux aux rats des groupes testés provoque une restauration des marqueurs biochimiques vers une évolution à la normale comme celle du traitement par la sylimarine donc *R. alaternus* possède un effet contre l'hépto-toxicité.

Au terme de ce travail et conformément à l'importance des résultats notés, il ressort que cette plante mérite d'être valoriser et nous souhaitons l'approfondir sur tous les plans en particulier :

- Aspect biochimique en utilisant les méthodes d'analyse plus récentes et plus performantes

- Elargir le spectre des études antimicrobiennes et antifongiques sur d'autres bactéries que l'auteur a utilisées

- Développer l'axe de recherche de l'hépto-toxicité avec d'autres marqueurs biochimiques à base enzymatique.

- Projeter d'autres métabolites secondaires impliqués dans le domaine pharmaceutique Chez cette espèce

.

Références bibliographiques

A

Ait Youssef M. (2006) : Plantes médicinales de Kabylie. *Edition Ibis Press*. ISBN: 978 9961-57-259-7 Paris.18.

Akerreta S. (2009). Etnobotánica farmacéutica en Navarra: del uso tradicional de las plantas medicinales a su evidencia científica (Ph.D.thesis).Faculty of Science, University of Navarra, p. 831, Pamplona, Spain.

Ammar R.B., Sghaier M.B., Boabaker J., Bhourri W., Nffeti A., Skandrani I., Boulel I., Kilani S., Ghedira K., and Chekir-Ghedira. (2009). Antioxidant activity and inhibition of aflatoxin B1- nifuroxazid, and sodium azide – induced mutagenicity by extracts from *Rhamnus alaternus*L.Chem- Biol, Inter 174: pp.1-10;

B

Bardin J.M. (2004). Dictionnaire illustré des plantes médicinales. Ed. Lodi, France.

Bas J.M., Gomez C. & Pons P. (2005). Fruit production and predispersal seed fall and predation in *Rhamnus alaternus* (Rhamnaceae). *Journal of Acta Oecol*27,115-123.

Beloued A. (2001). *Les plantes médicinales d'Algérie*. Ben Aknoun, Alger: Ed. OPU.

Benchiha. W. (2016) Phyto-écologie et étude biochimique des composants phénoliques (traitement in vivo contre hépatite) de *rhamnus alaternus* des monts de Tessala wilaya de sidi Belabbes » Thèse de Doctorat en Science . Université de Djillali Liabess. Algérie

Benedicte P. (2007)-Recherche bioguide de molécules antipaludiques d'une plante guyanaise *Piper hostmannianum*.Université Paul Sabatier, Toulouse. Spécialité : chimie biologie santé : 22 p.

Ben Ammar R., Kilani S., Bouhlel I., Ezzi L., Skandrani I., Boubaker J., Ben Sghaier M., Naffeti A., Mahmoud A., Chekir-Ghedira L. & Ghedira K. (2008). Anti-proliferative, Antioxidant, and Antimutagenic Activities of Flavonoid-Enriched Extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* L: Combination with the Phytochemical Composition. *Drug, Journal of Chemical and Toxicology*31, 61-80

Bertrand B. (2010) -Les secrets de l'Ortie.- 7ème édition. Editions de Terran (Collection Le Compagnon Végétal ; N : 01) : 12 p.

Ben Ammar R., Bhourri W., Ben Sghaier M., Boubaker J., Skandrani I., Neffati A., Bouhlel I. Kilani, S., Mariotte A.M., Chekir-Ghedira L., Dijoux-Franca M.G. & Ghedira K. (2009) Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): a structure-activity relationship study. *Journal of Food Chemical* **116**, 258–264.

Benhamou N., Bekkara F.A., &, Panovska T.K (2006)- Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *C.R chimie*, 12, 1259- 1266; Masson, Paris 486p

Bhourri W., Ben Sghaier M., Kilani S., Bouhlel I., Dijoux-Franca M- G., Ghedira K. Chekir L (2011). Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity two flavonoids from *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae) Kaempferol 3-O-b-isorhamninoside and rhamnocitrin3-O-bisorhamninoside. *Food and Chemecal Toxicology* 49 :pp. 1167-1173

Boyrie ,f . (2014), Les plantes médicinales.Ed Sylvie Désormière : 48 p.

Bruneton, J. (2008). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*.4^{ème} ed. Paris : Tec et Doc Lavoisier

C

Calvo M.I. & Caverro R.Y. (2014). Medicinal plants used for cardiovascular diseases in Navarra and their validation from Official sources. *Journal of Ethnopharmacology***157**, 268- 273.

Carillon A. (2000)-Enseignement de physiologie intégrative et de phytothérapie clinique. Société Internationale de Médecine Endo-biogénique et de Physiologie Intégrative

Cazau-Beyre N, (2013). Prise en charges des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie, pp.195.

Chekir Ghedira L. (2011). Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity of two flavonoïdes from *Rhamnus alaternus* L.(*Rhamnaceae*):Kaempferol 3-O-β-isorhamninoside and rhamnocitrin 3-O-β isorhamninoside. *Journal of Foodand Chemical Toxicology* **49**, 1167–1173.

D

Decaux I. (2002) - Phytothérapie : mode d'emploi. Ed Le Bien Public : 6-7 p.

F

Fleurentin, J., & Pelt, J.M. (1990). Les plantes médicinales. *La recherche*, 21 (222), 811-818.

Fouché J.G, Marquet A, Hambuckers. (2000) - Les plantes au médicament observation du monde des plantes .Sart-Tiliman.

G

Gulias J., Traveset A., Riera N. & Mus M. (2004). Critical Stages in the Recruitment Process of *Rhamnus alaternus* L. *Journal of Annals of Botany* **93**, 723-731.

Gravot. (2009). Support de cours sur le métabolisme secondaire (Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV) Université de Rennes 1 – L2 UE PHR .

H

Hamiani A. (2018) . L'étude chimique et pharmacologique de quelques familles de plantes médicinales Algériennes. Thèse de Doctorats en Sciences. Université d'Oran. 154p

I

Iserin, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2^{ème} Ed., Paris : 14,275.

Izhaki I., Tsahar E., Irena P. & Jacob F. (2002). Within population variation and interrelationships between morphology, nutritional content, and secondary compounds of *Rhamnus alaternus* fruits. *Journal of New Phytologist*, **156**, 217-223.

K

Konig, S., Schellenberg, A., Neef, H. et Schneider G. (1994)-Specificity of coenzyme binding in thiamin diphosphate-dependent enzymes. Crystal structures of yeast trans-ketolase in complex with analogs of thiamin diphosphate. *J Bio lChem* 269(14): 10879-10882.

Kosalec I., Kremer D., Locatelli M., Epifano F., Genovese S., Carlucci G., Randic M & Zovko Končić M.(2013). Anthraquinone profile, antioxidant and antimicrobial activity of bark extracts of *Rhamnus alaternus*, *R. fallax*, *R. intermedia* and *R. pumila*. *Journal of Food Chemistry***136**, 335–341.

L

Lee, K.H. (2004). Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product leads. *J. of Nat. Prod.*, 67: 273-283.

M

Mathieu Marie-José, Fonteneau Jean-Marie. (2008). Le manuel porphyre du préparateur en pharmacie. Published by Porphyre, Used / Soft cover / Quantity Available :0 From Li Books (Carling, France)

Maurice, N. (1997). *L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle* .Ed. Lavoisier, Paris. 12-14p.

Mohammedi Z. (2013) - Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat en Biologie. Tlemcen : 170 p.

N

Nogaret-Ehrhart A.S. (2003)- La phytothérapie Se soigner par les plantes. Edition Eyrolles : 19-36 p

O

Odile M, 2004. Biosynthèse des isoprénoides: synthèse d'analogues du 1-désoxy-Dxylulose 5-Phosphate, inhibiteurs potentiels de la voie du méthylérythritol phosphate ;Thèse de Doctorat ;Univ. Louis Pasteur, pp.17-22.

P

Potel A M . (2002)- Les plantes médicinales au Sénégal (commune de Nguékokh, zone de la Petite Côte) Extraits du rapport du stage, sciences naturelles, effectué à Nguékokh : 22 p.

Q

Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales*. Tome II. Edition : CNRS, Paris. France. 605p.

Quezel, P., Barbero, M., Benabid, A. Loisel, R. Rivas Martinez, S. (1988). Contribution à l'étude des groupements pré-forestières et des matorrals Rifains. *Ecologia Mediterranea* 1(2), 76-122.

R

Rao K.S., Mishra S.H, (1997) -Hepathoprotectrice activity of Inula racemosa root. *Fitoterapia* 68 (6): 50-514

S

Scalbert, A., Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols *.J.Nutr.*, 130, 2073-2085

Shaw N. (2007)-Phytothérapie. Édition Véga, coll. Guide illustré du bien-être, N.Y :129-134 p.

Stocker P. Yousfi M. Djerridane O. Perrier J. Amziani R. El Boustani S.Moulin (2004) - Effect of flavonoids from various Mediterranean plants on enzymatic activity of intestinal carboxyl-esterase. *Biochimie*. 86: 919–925.

Swain, T. (1979): *Tannins and lignings. Herbivorts, their interaction with secondary plant metabolites* .(éd. par Rosenthal G.A et jansen D.H).New York :Academic Press,pp.637-682.

T

Tapiero H, Tew KD, Nguyen BG, and Mathé G. (2002)- Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed. pharmacother*. **56**: 200-207 p.

Tlili-Ait Kaki, Y., Bennadja, S., & Chefrour, A. (2013).Revalorisation d'une essence endémique : le sapin de Numidie (*Abies numidica*). *Fl. Medit.*, 23, 123-129

Y.

Yi-ling C and Pan-Kai C. (1982). Rhamnaceae. In: Chen Yi-ling, ed., *Fl. Reipubl. Popularis Sin.* **48** (1):1-169.