

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE MOHAMED KHIDER –BISKRA-

MEMOIRE

Présenté à la faculté des sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Pour l'obtention du Diplôme de

MAGISTER

Option : Biotechnologie

Thème

**Etude de quelques propriétés des extraits de *Thymelaea
microphylla* Coss. et Dur.**

Présenté par :

M^{lle} Dehimi Khadidja

Devant le jury

Président :	Pr. HARZALLAH Daoud	Prof. Université de Sétif
Encadreur :	Dr. SERAICHE DAHAMNA Saliha	M.C. Université de Sétif
Examineurs :	Pr. BAGHIANI Abderrahmane	Prof. Université de Sétif
	Pr. KHENNOUF Seddik	Prof. Université de Sétif

2010-2011

REMERCIEMENTS

*Je tiens tous d'abord à remercier **DIEU** tout puissant, maître des cieux et de terre, qui m'a permis de mener à bien ce travail.*

Mes remerciements s'adressent :

A Mme Seraïche Dahamna Salîha pour avoir encadré et dirigé ce travail et pour le soutien et la confiance qu'elle m'accordés ;

A Monsieur le Professeur Harzallah Daoud qui m'a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire ;

Aux Messieurs : le Professeur Baghiani Abderrahmane et le Professeur Khennouf Seddik pour avoir bien voulu examiner ce travail ;

A Monsieur Laouar qui ma aidé à identifier l'espèce végétale étudiée ;

Un remerciement particulier à Mlle Marghem Mounira qui a vraiment m'aidé tout le temps et pour son support permanent ;

Je souhaite également remercier les doctorantes Djermouni Meriem et Ahlam pour leur aide et leur gentillesse ;

Merci à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

الملخص:

Thymelaea microphylla Coss. et Dur . هو نبات طبي ذو طبيعة صحراوية، ينتمي إلى الجنس *Thymelaea* المنتشر في بلدان البحر الأبيض المتوسط. تدرس الخصائص البيولوجية لهذا الصنف النباتي تقريبا لأول مرة من خلال هذا العمل.

استخلصت المواد الفعالة من أوراق و أزهار هذا النبات باستعمال مذيبين مختلفين. قدر مردود الاستخلاص بـ 10.44% للمستخلص المائي و 4.46% للمستخلص الإيثانولي. أظهر المستخلص المائي للنبتة نشاطية عالية مخفضة للسكر في الدم وذلك بعد إعطاء جرعة واحدة عن طريق الفم للجرذان والتي تقدر بـ 250 مغ/كغ من الوزن الجسمي للجرذان. قدرت نشاطية مستخلصات النبات المضادة للأكسدة بطريقتين: في اختبار بيتا-كاروتين/حمض اللينولييك، بلغت نسبة القدرة المضادة للأكسدة للمستخلص المائي 60.44%، أما بالنسبة للمستخلص الإيثانولي فقد بلغت 77.86%. أظهر اختبار DPPH بأن المستخلص المائي يمتلك نشاطية مضادة للأكسدة أعلى من المستخلص الكحولي، وذلك بتراكيز مثبطة لـ 50% من الجذر قدرت بـ 0.10 مغ/مل و 0.20 مغ/مل على الترتيب. من جهة أخرى، أظهرت هذه المستخلصات فعالية ضعيفة مضادة للبكتيريا *Klebsiella oxytoca*.

الكلمات المفتاحية: *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur ، المستخلص المائي، المستخلص الإيثانولي، النشاطية

المخفضة للسكر في الدم، بيتا-كاروتين /حمض اللينولييك، DPPH، النشاطية المضادة للبكتيريا.

Résumé :

Thymelaea microphylla Coss. et Dur. est une plante médicinale à affinité saharienne appartenant au genre méditerranéen *Thymelaea*. Les activités biologiques de cette espèce végétale sont étudiées presque pour la première fois dans ce travail. L'extraction des substances actives à partir des feuilles et des fleurs de la plante est réalisée par deux solvants différents ; Les rendements de l'extraction sont de 10.44% et de 4.46% pour l'extrait aqueux et éthanolique, respectivement. L'extrait aqueux de la plante a montré une activité hypoglycémiant élevée après une administration unique par voie orale aux rats à une dose de 250mg/Kg du poids corporel des rats. L'activité antioxydante des extraits de la plante est évaluée par deux méthodes ; Dans le test de β -carotène/acide linoléique, le pourcentage de la capacité antioxydante de l'extrait aqueux est de 60.44% et celui de l'extrait éthanolique est de 77.86%. Le test DPPH a montré que l'extrait aqueux a un pouvoir anti-radicalaire plus élevé par rapport à l'extrait alcoolique par des IC_{50} de 0.10mg/ml et de 0.20mg/ml, respectivement. D'autre part, ces extraits ont montré un faible effet antibactérien contre l'espèce *klebsiella oxytoca*.

Mots clés : *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur., Extrait aqueux, Extrait éthanolique, Activité hypoglycémiant, β -carotène/acide linoléique, DPPH, activité antibactérienne.

Abstract :

Thymelaea microphylla Coss. et Dur. is a medicinal plant with a Saharan affinity belonging to the Mediterranean genus *Thymelaea*. The biological activities of this vegetal species are studied almost for the first time in this work. The extraction of active substances from leaves and flowers of the plant is realized using two different solvents; the extraction efficiencies are about 10.44% and 4.46% for aqueous and ethanolic extracts respectively. The aqueous extract of the plant showed a high hypoglycemic activity after a single oral administration in rats with a dose of 250mg/kg of corporal weight of rats. The antioxidant activity of plant extracts is evaluated using two methods; in the test of β -carotene/linoleic acid, the percentage of the antioxidant capacity of the aqueous extract is about 60.44% and that of the ethanolic extract is about 77.86%. The test of DPPH showed that aqueous extract has a scavenging capacity higher than alcoholic extract with IC_{50} of 0.10mg/ml and 0.20mg/ml respectively. On the other hand, these extracts showed a weak antibacterial effect against *Klebsiella oxytoca*.

Keywords: *Thymeaea microphylla* Coss. et Dur., Aqueous extract, Ethanolic extract, Hypoglycemic activity, β -carotene/linoleic acid, DPPH, Antibacterial activity.

Liste des abréviations :

DID	Diabète insulino-dépendant
DNID	Diabète non insulino-dépendant
ADN	acide désoxyribonucléique
ROS	Reactive Oxygen Species
RNS	Reactive Nitrogen Species
NOS	Nitric Oxide Synthase
LDL	Low density lipoprotein
CAT	Catalase
BHT	Butylated hydroxytoluene
DPPH	2,2'-diphénylpicrylhydrazyl
DMSO	Diméthylsulfoxyde
AAR	activité antioxydante relative
IC₅₀	concentration inhibitrice de 50% du radical DPPH
CMI	concentration minimale inhibitrice
R	rendement de l'extraction
Gb	Glibenclamide
MéOH	méthanol
H₂O D	Eau distillée
Ex aq	Extrait aqueux
Ex EthOH	Extrait éthanolique
AlCl₃	trichlorure d'Aluminium
Na₂CO₃	carbonate de Sodium
NADP	Nicotinamide Adénine dinucléotide Phosphate
COX	Cyclooxygénase
LOX	Lipoxygénase
SOD	Superoxyde Dismutase

GPX

Glutathion peroxydase

GSH

Forme réduite de Glutathion

GSSG

Forme oxydée de Glutathion

Liste des figures :

Figure 1 : Structure cyclique de l'acide L-ascorbique _____	18
Figure 2: Structure chimique de la vitamine E _____	19
Figure 3: Structure de quelques caroténoïdes _____	19
Figure 4: Structure générale des flavonoïdes _____	20
Figure 5 : Feuilles et fleurs de <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. et Dur. _____	23
Figure 6 : <i>Thymelaea microphylla</i> poussant dans les sols sablonneux _____	23
Figure 7: Extraction aqueuse à partir des feuilles et fleurs de <i>Thymelaea microphylla</i> _____	25
Figure 8: Extraction éthanolique à partir des feuilles et fleurs de <i>Thymelaea microphylla</i> _____	26
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique _____	28
Figure 10 : Courbes d'étalonnage de la Quercétine et de la Rutine _____	29
Figure 11: Valeurs de la glycémie durant 6 heures après une administration unique de l'extrait aqueux de <i>Thymelaea microphylla</i> chez les rats. _____	35
Figure 12: A. Activité antioxydante des extraits aqueux et éthanolique de <i>Thymelaea microphylla</i> par rapport aux témoins par le test de β -carotène/acide linoléique durant 48h.	
B. Pourcentages d'inhibition des extraits aqueux et éthanolique et des témoins par le test de β -carotène/acide linoléique après 24h. _____	37
Figure 13 : Représentation de l'inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs de l'IC ₅₀ des extraits aqueux et éthanolique de <i>Thymelaea microphylla</i> et quelques composés phénoliques purs. _____	38
Figure 14: Antibiogramme de la souche <i>Escherichia coli</i> . _____	39

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Composition chimique des rameaux de <i>Thymelaea microphylla</i> . _____	06
Tableau 2 : Quelques exemples de plantes antidiabétiques et leurs modes d'action. _____	12
Tableau 3 : Activités biologiques des composés phénoliques. _____	22
Tableau 4 : Rendements des extractions aqueuse et éthanolique à partir des feuilles et fleurs de <i>Thymelaea microphylla</i> . _____	34
Tableau 5 : Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits de <i>Thymelaea microphylla</i> . _____	36
Tableau 6 : Diamètres des zones d'inhibition des extraits et du gentamycine en mm. _____	39

Sommaire :

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

Chapitre I : Revue bibliographique

1- La plante <i>Thymelaea microphylla</i>.....	3
---	----------

1.1- La famille des <i>Thymelaeaceae</i>	3
--	---

1.1.1- Morphologie.....	3
-------------------------	---

1.1.2- Propriétés chimiques.....	3
----------------------------------	---

1.1.3- Propriétés thérapeutiques.....	3
---------------------------------------	---

1.1.4- Toxicité.....	4
----------------------	---

1.2- Le genre <i>Thymelaea</i>	4
--------------------------------------	---

1.2.1- Morphologie.....	4
-------------------------	---

1.2.2- Les espèces algériennes du genre <i>Thymelaea</i>	5
--	---

1.3- L'espèce <i>Thymelaea microphylla</i>	5
--	---

1.3.1- Aspect botanique.....	5
------------------------------	---

1.3.2- Habitat.....	5
---------------------	---

1.3.3- Composition chimique.....	6
----------------------------------	---

1.3.4- Applications thérapeutiques.....	7
---	---

2- Le diabète et la phytothérapie.....	7
---	----------

2.1- Définition de la maladie.....	7
------------------------------------	---

2.2- Les types de diabète.....	7
--------------------------------	---

2.3-Complications lointaines du diabète.....	8
--	---

2.4- Le stress oxydatif et les complications de la maladie.....	9
---	---

2.5- Traitement du diabète.....	9
---------------------------------	---

2.6- Les plantes antidiabétiques.....	10
---------------------------------------	----

2.6.1- Utilisation et évolution scientifique.....	10
---	----

2.6.2- Mécanismes d'action.....	11
---------------------------------	----

2.6.3- Quelques exemples.....	11
-------------------------------	----

3- Les radicaux libres et les antioxydants	12
3.1- Les radicaux libres.....	12
3.1.1- Définition.....	12
3.1.2- Le stress oxydatif.....	13
3.1.3- Les principaux radicaux libres.....	13
3.1.4- Sources des ROS.....	14
3.1.5- Rôles physiologiques.....	15
3.1.6- Nocivité.....	16
3.2- Les antioxydants.....	16
3.2.1- Définition.....	16
3.2.2- Sources.....	16
3.2.3- Les types d'antioxydants.....	17
4- Les polyphénols et leurs activités biologiques	20
4.1- Les polyphénols.....	20
4.2- Activités biologiques des polyphénols.....	21

Chapitre II : Matériels et Méthodes

1- Matériels	23
1.1- Matériel végétal.....	23
1.2- Animaux.....	24
1.3- Souches bactériennes.....	24
1.4- Produits et appareillage.....	24
2- Méthodes	24
2.1- Extraction.....	24
2.1.1- Préparation de l'extrait aqueux.....	25
2.1.2- Préparation de l'extrait éthanolique.....	25
2.2- Etude de l'activité hypoglycémiante de l'extrait aqueux de <i>Thymelaea</i> <i>microphylla</i>	26

2.3- Dosage des polyphénols totaux et des flavonoides des extraits de la plante...	27
2.4- Etude de l'activité antioxydante des extraits de <i>Thymelaea microphylla</i>	29
2.4.1- Test du β -carotène/acide linoléique.....	29
2.4.2- Test DPPH.....	30
2.5- Etude de l'activité antibactérienne des extraits de <i>Thymelaea microphylla</i>	31
2.6- Analyse statistique.....	33

Chapitre III : Résultats et discussion :

1- Résultats	34
1.1- Extraction.....	34
1.2- Activité hypoglycémiant de l'extait aqueux de <i>Thymelaea microphylla</i>	34
1.3- Dosage des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits.....	35
1.4- Activité antioxydante des extraits aqueux et éthanolique de <i>Thymelaea microphylla</i>	36
1.5- Activité antibactérienne des extraits de <i>Thymelaea microphylla</i>	38
2- Discussion	40
2.1- Evaluation des techniques de l'extraction.....	40
2.2- Contenu des extraits en polyphénols et en flavonoides.....	41
2.3- Activité hypoglycémiant de la plante.....	41
2.4- Capacité antioxydante de la plante.....	42
2.5- Pouvoir antibactérien des extraits de <i>Thymelaea microphylla</i>	43
Conclusion et perspectives	45
Références bibliographiques	46

Introduction générale

Introduction:

Pendant des siècles, l'homme s'est toujours soigné par les plantes, de manière empirique, guidé par la tradition ou les coutumes. La plupart de grands médecins du passé ont été des phytothérapeutes (Goeb, 1999).

Aujourd'hui, encore la science confirme les différentes vertus des plantes médicinales et de leurs huiles essentielles et leurs extraits bruts dont les domaines d'application sont très variés et qui sont très utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs, et dans les cosmétiques, les parfumeries, les industries de savon et de détergents en volume impressionnant. Elles rentrent également dans la composition de plusieurs médicaments (Boudjemaa et Ben Guegua, 2010).

En Afrique, jusqu'à 80% de la population utilise la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins de soins de santé. De même, dans de nombreux pays asiatiques la médecine traditionnelle continue d'être largement utilisée. En Chine, l'utilisation des remèdes traditionnels représente 40% de tous les soins de santé. En même temps, pour certains pays de l'Amérique Latine, il a été rapporté que 71% de la population de Chili et 40% de la population de Colombie ont utilisé la médecine traditionnelle. Elle est également très populaire dans de nombreux pays développés parce qu'elle est fermement intégrée à des systèmes de croyance plus globaux (OMS, 2002). Ces espèces végétales d'aussi grande importance pour la santé des populations méritent alors d'être étudiées scientifiquement pour leur meilleure utilisation.

Le diabète sucré est une maladie qui a frappé l'homme depuis la plus haute antiquité, il existe probablement depuis que l'homme existe, car aussi loin que nous puissions remonter dans l'humanité, nous semblons trouver des signes de l'existence de cette maladie jusqu'au temps de l'ancienne Egypte (Khiatti, 1986). Aujourd'hui, le diabète sucré est considéré parmi les maladies les plus fréquentes de notre civilisation, il touche quelques 5 à 7% de la population mondiale (Waeber, 2000). Différents médicaments sont utilisés dans le traitement du diabète sucré, à savoir l'insuline et les antidiabétiques oraux, mais généralement ces agents hypoglycémiant causent différents effets secondaires qui varient selon la classe et la génération du médicament (Marles et Farnsworth, 1994). C'est pour cette raison que les études actuelles se dirigent vers la recherche de nouvelles substances antidiabétiques à partir des plantes.

Thymelaea microphylla est une plante utilisée traditionnellement dans le traitement du diabète sucré, mais aucune étude scientifique n'a été réalisée sur cette plante afin d'évaluer son effet hypoglycémiant.

Ce travail porte alors sur l'étude de l'activité hypoglycémiante de la plante médicinale *Thymelaea microphylla*, et aussi sur l'étude de quelques autres propriétés de la plante qui a été choisie à cause de grand manque d'études effectuées sur cette espèce végétale.

La présente étude est une contribution à :

- La préparation des extraits aqueux et éthanolique des feuilles et des fleurs de *Thymelaea microphylla*.
- L'évaluation de l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux de la plante.
- Le dosage des métabolites secondaires des extraits de la plante.
- L'évaluation de la capacité antioxydante des deux extraits.
- Et en fin, à l'étude de son activité antibactérienne.

Chapitre I: Revue bibliographique

1- La plante *Thymelaea microphylla* :

1.1- La famille des *Thymelaeaceae* (Les *Daphnoidaceae*) :

1.1.1- Morphologie :

C'est une famille voisine de celle du Laurier et des Magnolias (Fournier, 1999a). Les *Thymelaeaceae* sont des arbustes ou des plantes herbacées, dicotylédones, à feuilles alternes ou opposées souvent coriaces et persistantes. Inflorescences très variables. Fleurs hermaphrodites dioïques ou polygames, 4-5 mètres, à calice tubuleux (Quezel et Santa, 1962). Périanthe à pièces soudées à la base ; souvent d'aspect corallin plus ou moins jaune ou verdâtre. Etamines 8-10 insérées sur deux rangs. Ovaire uniloculaire en général uniovulé. Fruit sec ou drupacé monosperme (Quezel et Santa, 1963).

Cette famille comprend près de 500 espèces réparties en 44 genres, dont le plus intéressant est celui des Daphnés (Watson et Dallwitz, 1992).

1.1.2- Propriétés chimiques :

Plusieurs espèces de la famille des *Thymelaeaceae* contiennent, en diverses proportions, deux principes chimiques : la mézéréine, une substance résineuse d'un jaune brunâtre, de constitution encore inconnue, très vénéneuse, irritante, âcre, amère, drastique, vésicante et sternutatoire ; et la daphnine, un glucoside non vénéneux, à saveur amère, astringente (Fournier, 1999a).

Des études sur des espèces du genre *Daphne* ont prouvé que ces plantes sont riches en coumarines comme la daphnetine et la daphnoretine et en flavonoïdes comme la quercétine et la lutéoline (Deiana *et al.*, 2003).

1.1.3- Propriétés thérapeutiques :

L'antiquité utilisait déjà certaines propriétés médicinales des *Thymelaeaceae*. Le genre *Daphne* renferme des espèces très connues dans la phytothérapie : *D.cneorum* (La petite Thymélé), *D.gnidium* (Le Garou), *D.mezereum* (Le Bois gentil) et *D.laureola* (Lauréole).

Les fruits du Garou, si répondu dans les régions méditerranéennes, étaient utilisés comme évacuant, fondant, dépuratif, antiaphrodisiaque, purgatif, contre les douleurs ostéocopes nocturnes, contre des exostoses crâniennes extrêmement douloureuses, contre l'hydropisie, la scrofule, le rhumatisme chronique, les maladies de peau, surtout d'origine vénérienne. En

plus, le Garou est resté dans la médecine populaire le médicament par excellence des affections syphilitiques.

Comme purgatif, diurétique, sudorifique, dépuratif, résolutif, le bois gentil a été très usité au XVI^e et XVII^e siècle. L'usage thérapeutique de ces plantes exige des précautions pour atténuer leur violence (Fournier, 1999a).

D'autres espèces de cette famille contiennent des composés chimiques qui peuvent avoir une activité anticancérogène, comme La Daphnetoxine (substance trouvée exclusivement chez des membres de la famille des *Thymelaeaceae*) et la Daphnoretine (Diogo *et al.*, 2009).

1.1.4- Toxicité :

La famille des *Thymelaeaceae* contient des plantes très vénéneuses. Quelques espèces renferment des esters de diterpènes : La Daphnane et la tigiane qui sont responsables des propriétés irritantes de ces plantes (Borris *et al.*, 1988). La littérature médicale mentionne de nombreux empoisonnements dus à l'absorption de leurs fruits ou à l'emploi inconsidéré de leur écorce ou de leurs feuilles ; Il est même dangereux de tenir à la bouche un rameau fleuri, qui peut causer de graves inflammations de la bouche et de la cavité buccale. Des empoisonnements peuvent même suivre de simples applications externes, par suite de la résorption cutanée (Fournier, 1999a).

1.2- Le genre *Thymelaea* (Les Passerines):

Les passerines sont très voisines des Daphnés, contiennent comme eux des principes toxiques (Fournier, 1999b).

1.2.1- Morphologie:

Ce sont des herbes ou des arbrisseaux bas à feuilles et fleurs très petites, les premières larges de quelques millimètres, les secondes peu apparentes, jaunâtres ou verdâtres, sans corolle, à 4 sépales et 8 étamines très courtes (Fournier, 1999b).

1.2.2- Les espèces algériennes du genre *Thymelaea* :

Ce genre renferme plusieurs espèces intéressantes, mais celles qui figurent parmi les plus communes en Algérie sont : *T.hirsuta* L. , *T.microphylla* C.et D. et *T.passerina* (L.) *Langue* (Baba Aissa, 1999).

T.hirsuta (La passerine cotonneuse) est une espèce méditerranéenne, commune dans toute l'Algérie septentrionale, notamment sur le littoral. Elle est utilisée en médecine populaire comme purgatif et comme résolutif. En outre, elle est considérée comme abortive. Cette plante est signalée comme très toxique (Baba Aissa, 1999).

T.passerina (Langue de Moineau) est une plante annuelle effilée, à feuilles et fleurs espacées au long d'une tige de 20 à 50cm, qui se rencontre dans les moissons des terrains arides. Si grêle qu'elle soit, elle est assez rigide pour servir à former des Balais. Elle est assez commune en général, mais surtout en terrain calcaire. Cette plante est vénéneuse, mais il semble bien que rien n'est connu sur son principe toxique (Fournier, 1999b).

1.3- L'espèce *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. :

1.3.1- Aspect botanique :

C'est une plante vivace à feuilles très petites (1-4 mm), ovoïdes, éparses et distantes sur les rameaux. Arbrisseaux dioïques à rameaux effilés canescents. Fleurs glomérulées par 2-5 à l'aisselle des feuilles et bien plus longues qu'elles. Jaunâtres à lobes très courts (Quezel et Santa, 1963).

Le système radical est caractérisé par une réitération distale, avec des ramifications horizontales en petits nombres (Bendali *et al.*, 1990).

Nom populaire : Methnane el Abiad (Quezel et Santa, 1963).

1.3.2- Habitat :

Thymelaea microphylla est une espèce à affinité saharienne (Ben el Mostafa *et al.*, 2001), on la retrouve dans les sols sablonneux et les sols gypseux (Perry et Goodall, 1979).

Généralement cette plante occupe les glacis ensablés avec les espèces *Atractylis serratuloide*, *Lygeum spartum* ; ou occupe les steppes avec l'espèce *Salsola vermiculata* (Bouzenoune, 2003).

Elle sert de fourrage aux caprins, aux chameaux et de fourrage occasionnel aux ovins (ILCA, 1980).

1.3.3- Composition chimique :

La composition chimique de *Thymelaea microphylla* est peu étudiée, seules quelques études sont effectuées sur cette plante dans ce sens. En 1972, une simple investigation chimique a été réalisée sur les rameaux de *Thymelaea microphylla* récoltée de la Libye. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 1 (ILCA, 1980).

Une autre étude réalisée par Cheriti et Sekkoum en 1995 a révélé la présence de l'acide oléanolique, le β -sitostérol et le 3-O- β -D-glucopyranosyl- β -sitostérol, dans les parties aériennes de *Thymelaea microphylla* (Dohou *et al.*, 2003).

Tableau 1: Composition chimique des rameaux de *Thymelaea microphylla* (ILCA, 1980).

	Constituant	En Pourcentage de la matière fraîche
	Matière sèche	52
	Protéines brutes	07
	Cellulose brute	44
	Matières grasses brutes	1.5
	Extractif non azoté	41.9
	Protéines digestibles	3.2
	Cendres	5.6
Macroéléments	P	0.1
	Ca	2.5
	K	0.6
	Na	0.43

1.3.4- Applications thérapeutiques :

Les usages thérapeutiques de *Thymelaea microphylla* ont été établis à la suite d'une enquête avec des phytothérapeutes spécialistes au niveau de la Wilaya de M'sila. Selon cette enquête, la plante est utilisée principalement pour :

- Traiter le rhumatisme.
- Lutter contre les infections respiratoires.
- Atténuer la chute des cheveux.
- Diminuer le taux de glucose dans le sang.
- Enfin, cette plante peut être utilisée comme compresse naturelle (au niveau des plaies cutanées).

2- Le diabète et la phytothérapie :

2.1- Définition de la maladie :

C'est une maladie chronique, d'évolution lente, indolore dont les effets ne sont en général visibles qu'après de longues années et c'est par l'augmentation constante du taux de glucose dans le sang (hyperglycémie), est donc un problème sérieux de santé publique (Chicouri, 1983). Aujourd'hui, les recherches se poursuivent inlassablement sur les causes du diabète et on arrive à mettre en évidence l'importance des facteurs héréditaires, à vérifier l'hypothèse d'une origine virale et immunitaire possible de ses causes et de ses complications (Chicouri, 1999).

2.2- Les types de diabète :

2.2.1- Diabète insulino-dépendant (DID):

On l'appelle aussi diabète de type 1, il s'agit d'une forme de diabète sucré caractérisée par un déficit majeur de la sécrétion d'insuline, il survient avant l'âge de vingt ans parfois peu après la naissance. Il peut avoir une cause génétique virale et surtout auto-immune. Un antigène inconnu serait à l'origine d'une réaction immunitaire aboutissant à la destruction des cellules bêta du pancréas sécrétant l'insuline (Downer, 1985).

Ce type de diabète est caractérisé le plus souvent par la présence des corps cétoniques dans les urines du malade, d'où la nomination du "diabète avec acidose" (Boelen et Khellaf, 1979).

2.2.2- Diabète non insulino-dépendant (DNID) :

On l'appelle aussi diabète de type 2 ; c'est une forme de diabète sucré due à une sécrétion insuffisante d'insuline ; survenant le plus souvent chez un sujet obèse ou ayant été obèse et

généralement découverte après l'âge de 40 ans. L'insuline ne peut jouer son rôle vis-à-vis des réserves graisseuses trop importantes des adipocytes. Les récepteurs spécifiques de l'insuline font partiellement défaut. Le glucose circulant n'est pas utilisé par les cellules ; il est en excès. Cet excès entraîne une production encore accrue d'insuline, et en conséquence de glucose par le foie. Donc trop de glucose, pas assez de récepteurs insuliniques, parce que trop de cellules graisseuses (Chicouri, 1983). Notons que les mutations génétiques peuvent être identifiées chez des familles souffrant d'une forme sévère de DNID (Downer, 1985).

2.3- Complications lointaines du diabète :

L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les nerfs, les reins, le cœur et les vaisseaux (Racah, 2004).

L'œil est indiscutablement l'organe le plus touché par les complications de la maladie diabétique. Dans les pays développés, il représente la cause principale des cécités de l'adulte. Les atteintes de l'œil causées par le diabète sont : la cataracte diabétique, le glaucome et les affections de la rétine.

On englobe dans les affections nerveuses du diabète la névrite diabétique et la neuropathie diabétique.

Les vaisseaux du rein peuvent, comme ceux de l'œil et du nerf, être atteints par le mal diabétique : c'est la grave néphropathie diabétique.

Les complications vasculaires sont pratiquement les seules causes de mortalité chez tous les diabétiques :

La micro-angiopathie désigne l'atteinte des petites artères, des capillaires de certains organes particulièrement vulnérables comme l'œil, le rein et le nerf.

La macro-angiopathie désigne pour sa part l'atteinte des grosses artères, celles du cœur, du cerveau ou des membres inférieurs essentiellement (Chicouri, 1983).

2.4- Le stress oxydatif et les complications de la maladie:

Ces complications sont fortement liées à un nombre de facteurs. A coté de l'hyperglycémie chronique et la glycation non enzymatique des protéines, un facteur très important impliqué dans la genèse de ces complications est le stress oxydatif (Punitha *et al.*, 2005 ; Raccah, 2004; Guerci *et al.*, 2001).

Le métabolisme cellulaire normale de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités d'espèces oxygénées activées dont font partie les radicaux libres (O₂[·], OH[·], ...), le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet (Pincemail *et al.*, 1999 ; Huang *et al.*, 2004). Dans certaines conditions, une surproduction d'espèces oxygénées activées dûe à l'activation de diverses mécanismes biochimiques peut submerger rapidement les défenses antioxydants, c'est le stress oxydatif (Punitha *et al.*, 2005 ; Pincemail *et al.*, 1999).

Les espèces oxygénées activées sont des molécules instables, potentiellement toxique pour l'organisme car elles peuvent inactiver des protéines, induire des cassures au sein de l'ADN avec, comme conséquence, une altération du message génétique, dégrader les sucres, oxyder les lipoprotéines et initier des processus de peroxidation lipidique au sein de la membrane cellulaire en s'attaquant aux acides gras polyinsaturés (Raccah, 2004). Parfaitement, le diabète sucré provoque une augmentation de la production des ROS d'une part et d'autre part, une diminution des antioxydants, ce qui est à l'origine des micro et des macro angiopathies (Eshrat, 2002).

2.5- Traitement du diabète :

Evidemment, un bon contrôle glycémique du diabète sucré est recommandé pour retarder, voir prévenir la survenue et ralentir la progression des complications (Jaspreet *et al.*, 2003). Pour atteindre ces objectifs, plusieurs thérapeutiques sont à notre disposition. Un régime alimentaire bien équilibré en glucides, en protéines et en lipides (Gin et Regalleau, 1999) ainsi que l'exercice physique (Charbonnel et Cariou, 1997) sont des composantes essentielles du traitement de diabète sucré.

Encore, l'insulinothérapie occupe une place importante dans l'arsenal thérapeutique du diabète de type 1 (Gin et Regalleau, 1999) et du diabète de type 2 (Dirckx, 1998). Ce dernier nécessite chez la majorité des patients et surtout pendant les premiers stades, une prise en

charge médicamenteuse et cela par l'intervention des antidiabétiques oraux qui sont classés selon leur mode d'action en trois catégories :

Les sulfamides hypoglycémiantes stimulent la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas en les sensibilisant à l'action du glucose (Dey *et al.*, 2002).

Les biguanides classés en deuxième lieu n'agissent pas sur la sécrétion insulinaire, ce sont des potentialisateurs d'effets de l'insuline (Sulkin *et al.*, 1997).

Les inhibiteurs des alpha-glucosidases constituent la troisième classe des antidiabétiques oraux. Ils atténuent la glycémie postprandiale par leur action directe comme agent inhibiteur des alpha-glucosidases intestinales en ralentissant la digestion des polysaccharides (Herman, 1998).

Finalement, l'utilisation des plantes (la phytothérapie) ne peut se concevoir que dans les formes légères de DNID (Chicouri, 1983).

2.6- Les plantes antidiabétiques :

2.6.1-Utilisation et évolution scientifique :

La recherche de nouvelles substances à partir des plantes attire actuellement tous les regards et constitue une étape substantielle dans le développement de nouveaux médicaments dans le traitement du diabète.

Ardemment, plus de 1123 plantes sont utilisées traditionnellement pour traiter le diabète sucré, parmi celles-ci, l'espèce *Thymelaea microphylla*. Cependant, juste une minorité de ces plantes connaissent une évolution scientifique (Medjdoub, 2006). Au Maroc, une enquête dans un groupe de diabétiques (type 2) révèle que 25% n'utilisent que des plantes pour se soigner (Hurtel, 2003).

2.6.2- Mécanismes d'action :

Les sites et les modes d'action des principes actifs des plantes antidiabétiques diffèrent d'une plante à une autre (Medjdoub, 2006). Deux types de substances végétales semblent intéressantes:

celles qui agissent à la manière de l'insuline ou des autres médicaments hypoglycémiantes :

- en empêchant l'absorption du glucose au niveau intestinal.
- en augmentant la synthèse et la libération de l'insuline pancréatique.
- en diminuant celle du glucagon.
- En accélérant l'utilisation du glucose sanguin (absorption dans les cellules, synthèse du glycogène, des graisses ou des protéines).

D'autres, principalement des tanins :

- agissent sur le diabète lui-même au niveau cellulaire, en favorisant l'action de l'insuline (en diminuant la résistance à l'insuline)
- et sur les complications du diabète par leur pouvoir antioxydant et anti-enzymatique, neutralisant l'effet des radicaux libres et limitant la réaction inflammatoire dans les différents tissus.

Certains extraits de plantes contiennent parfois ces deux types de substances (Hurtel, 2003) (Tableau 2).

2.6.3- Quelques Exemples :

L'utilisation de certaines plantes dans le traitement de diabète connaît une évolution scientifique, citons essentiellement les espèces : *Momordica charantia*, *Catharanthus roseus*, *Trigonella foenum-greacum*, *Allium cepa* et *Allium sativum* (Medjdoub, 2006). D'autres sont utilisées seulement traditionnellement pour leurs propriétés hypoglycémiantes, comme le galéga, la bardane, la pervenche, la myrtille, la feuille d'olivier, le lampsane, la racine de scrofulaire, l'aigre moine, la feuille de noyer, le murier noir et le fenugrec (Chicouri, 1983).

Tableau 2: Quelques exemples de plantes antidiabétiques et leurs modes d'action (Medjdoub, 2006).

Plante antidiabétique	Principe actif	Mode d'action
<i>Momordica foetida</i>	Charantine	Augmente l'utilisation hépatique du glucose, inhibe la néoglucogenèse et réprime l'insulino-résistance en augmentant le taux des transporteurs membranaires de glucose.
<i>Allium cepa</i>	Allyl propyl disulfide	Ce composé semble agir par compétition avec l'insuline sur son récepteur.
<i>Panax ginseng</i>	Ginsenosides	La plante provoque une augmentation du nombre des transporteurs de glucose au niveau du foie avec stimulation de la synthèse de l'insuline.
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Trigonelline	Resensibilisation des cellules à l'action de l'insuline.

3- Les radicaux libres et les antioxydants :

3.1- Les radicaux libres :

3.1.1- Définition :

Les radicaux libres sont des atomes, ou des molécules, avec un nombre impair d'électrons sur la loge extérieure (Pelli et Lyly, 2003), ils peuvent être dérivés de l'oxygène (ROS) ou du nitrogène (RNS) (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003). Ils sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir de la stabilité (Pelli et Lyly, 2003), leur temps de vie est généralement très court (B.Roberfroid, 2002).

3.1.2- Le stress oxydatif :

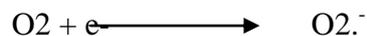
La vie aérobie se caractérise par une exposition permanente de l'organisme à l'oxygène et, en particulier, aux espèces réactives qui en sont dérivées. Ces molécules qui sont soit des radicaux libres (possédant un électron non apparié), soit des espèces non radicalaires ont en commun un caractère oxydant et une réactivité chimique importante. Pour contrecarrer les

effets des oxydants, l'organisme dispose d'un système de défense complexe constitué par des antioxydants. Toute la problématique du domaine résulte dans l'installation d'un état appelé " stress oxydatif " où l'équilibre sensé exister entre les pro-oxydants et les antioxydants est rompu en faveur de ces premiers. En raison du challenge oxydant qui semble exister de manière permanente dans de nombreux types cellulaires, il est important de préciser que les problèmes ne se posent que lorsque l'excès d'oxydants amène au développement de processus pathologiques bien caractérisés (B.Roberfroid, 2002).

3.1.3- Les principaux radicaux libres :

- Le radical superoxyde ($O_2\cdot^-$) :

Il naît de la combustion des sucres et des graisses (Causse, 2005). Une molécule d'oxygène est réduite selon la réaction suivante (Hadi, 2004):



- Le radical hydroxyle ($\cdot OH$):

Il résulte de l'action du rayonnement solaire sur la peau, il peut aussi être synthétisé par réaction du fer ou du cuivre avec la vitamine C. C'est à ce radical que l'on attribue la plupart des lésions du vieillissement (Causse, 2005). Il est produit à partir de H_2O_2 en présence des ions Fe^{2+} selon la réaction de Fenton :



Ce radical peut être aussi produit selon la réaction de Haber-Weiss (Gutteridge et Halliwell, 1992):



- Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singulet (1O_2) :

Ces deux molécules ne sont pas des radicaux libres proprement dit. Le 1O_2 est une forme excitée d'oxygène, hautement oxydative (Hadi, 2004), qui résulte du métabolisme des prostaglandines (Younes, 1999). Le H_2O_2 a aussi une capacité oxydative élevée, et peut traverser rapidement les membranes biologiques (Gutteridge et Halliwell, 1992).

- Le monoxyde d'azote (NO) :

Il est produit par l'enzyme NOS en présence de l'Arginine et l'oxygène moléculaire (Coleman, 2001):



- Le radical peroxy-nitrite (ONOO⁻):

Il est produit à partir de l'azote par les globules blancs (Causse, 2005). Il résulte de l'union de NO⁻ et O₂⁻ (Szabo, 2003).

3.1.4- Sources des ROS :

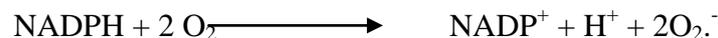
3.1.4.1- Sources internes :

A- Membranes mitochondriales :

Les ROS résultent du métabolisme cellulaire, surtout au niveau des mitochondries. Environ 90% de l'oxygène consommé durant la respiration cellulaire est réduit en eau, tandis que 5% se transforme en ROS (Becker, 2004). Il existe des enzymes au niveau des membranes mitochondriales comme la NADH déshydrogénase qui réduisent l'O₂ en O₂⁻ (Niviere et Fontecave, 1994). En outre, l'H₂O₂ est produit par ces organites suite à la dismutation de O₂⁻, et le radical OH⁻ est produit durant la réaction de Haber-Weiss (Freeman *et al.*, 1982). L'auto-oxydation de l'ubisemiquinone est la source principale des ions O₂⁻ au niveau des mitochondries (Niviere et Fontecave, 1994).

B- La NADPH oxydase :

C'est une oxydase qui se trouve au niveau des membranes plasmiques. Elle utilise l'oxygène pour produire de l'O₂⁻ selon la réaction suivante (Piotrowski et Marczak, 2000 ; Gutteridge, 1993) :



C- La xanthine oxydase:

Elle produit l'O₂⁻ par la réduction de l'hypoxanthine en xanthine et celle-ci en acide urique (Harison, 2002) où l'oxygène joue le rôle de récepteur d'électrons (Mckelvey *et al.*, 1988 ; Parks *et al.*, 1988).

D- L'enzyme NOS (Nitric Oxide Synthase):

Cette enzyme produit le radical NO⁻ qui sera ensuite oxydé pour produire d'autres types de RNS (Coleman, 2001).

E- Cyclooxygénase (COX) et Lypooxygénase (LOX):

Ces deux enzymes se trouvent au niveau des membranes plasmique et microsomique, elles produisent le radical $\text{OH}\cdot$ durant l'anabolisme des prostaglandines (Hill *et al.*, 1989).

F- L'auto-oxydation de quelques petites molécules:

C'est la source la plus importante de la production des ROS, parmi ces molécules citons : dopamine, adrénaline, flavine et hydroquinone (Younes, 1999 ; Thannickal et Fandurg, 2000), ainsi que quelques groupements : thiols, hémoprotéine et tetrahydroprotéine ; et aussi quelques ions métalliques (Younes, 1999).

3.1.4.2- Sources externes:

La production en excès des radicaux libres peut être induite suite à l'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, les métaux toxiques (Cuivre, Chrome...). Le déséquilibre peut aussi être dû à un apport insuffisant d'antioxydants par le régime alimentaire (Pelli et Lyly, 2003). La fumée de cigarette, les alcools et les médicaments sont aussi des sources de ROS (Garait, 2006 ; Hadi, 2004).

3.1.5- Rôles physiologiques:

Il est connu depuis quelques dizaines d'années que les organismes vivants utilisent les radicaux libres qu'ils produisent pour des processus physiologiques fondamentaux tels la synthèse des prostaglandines ou des hormones thyroïdiennes ou encore la défense de l'organisme par le processus de flambée respiratoire des phagocytes résultant de l'activation de la NADPH oxydase et de la NOS. L'organisme humain a indubitablement besoin de radicaux libres pour mener à bien toute une série de voies métaboliques d'importance vitale. Parmi leurs fonctions dignes d'intérêt les plus récemment élucidées, citons l'implication du NO dans le relâchement de la musculature lisse vasculaire ou la participation de l' H_2O_2 dans la transduction du signal régulant l'expression des gènes par l'intermédiaire du facteur nucléaire KB (B.Roberfroid, 2002).

3.1.6- Nocivité:

Le stress oxydatif peut entraîner des altérations moléculaires et cellulaires. Les lipides et l'ADN sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres (Goudable et Favier, 1997). Suite à une exposition aux radicaux libres, il peut se produire une prolifération (multiplication anormale) des cellules entraînant un cancer, un dysfonctionnement cellulaire

ou la mort des cellules (Pelli et Lyly, 2003). On estime à l'heure actuelle que le stress oxydatif porte une responsabilité variable dans le développement de maladies aussi importantes que les affections cardiovasculaires, les cancers ou encore les affections neurologiques dégénératives. Concernant les maladies cardiovasculaires, il semble en effet que ce soit l'oxydation des LDL liée à la peroxydation de ses acides gras, qui soit un des facteurs déterminants de l'athérogenèse. Pour la carcinogenèse, plusieurs mécanismes ont été évoqués dont l'induction directe par les dérivés oxygénés de ruptures ou de liaisons croisées de l'ADN ainsi que d'aberrations chromosomiques. Dans un autre ordre d'idées, l'oxydation des bases de l'ADN peut causer des mutations, délétions ou amplifications de gènes. Finalement, en ce qui concerne des maladies neurologiques dégénératives comme le Parkinson ou la maladie d'Alzheimer, il semble que le stress oxydatif induise la nécrose et l'apoptose des cellules neuronales (B.Roberfroid, 2002).

3.2- Les antioxydants :

3.2.1- Définition :

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres avant que les molécules vitales ne soient endommagées par ces radicaux. Chaque molécule antioxydante ne peut réagir qu'avec un seul radical libre (Pelli et Lyly, 2003).

3.2.2- Sources :

Les antioxydants peuvent être naturels ou synthétiques. Ils sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, tous les microorganismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Le groupe le plus important d'antioxydants naturels comprend la vitamine E (Tocophérol), les flavonoïdes et autres composés végétaux. Les antioxydants synthétiques sont généralement préparés en laboratoire, et principalement de composants chimiques (Pelli et Lyly, 2003).

3.2.3- Les types d'antioxydants :

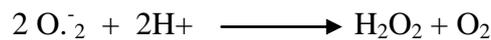
Les antioxydants forment un système de protection du corps contre les radicaux nocifs. Ce système peut être enzymatique, impliquant des enzymes telles que glutathion peroxydase, superoxyde dismutase et la catalase ; ou non enzymatique, impliquant des antioxydants obtenus à partir de l'alimentation tels que les vitamines E et C, les caroténoïdes, le sélénium,

les folates, les flavonoïdes, les phytoestrogènes et les glucosinolates (Ghanem et Ghanem, 2005).

3.2.3.1- Les enzymes antioxydantes :

A - La superoxyde dismutase (SOD) :

C'est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation d'O₂⁻ en H₂O₂ selon la réaction suivante :



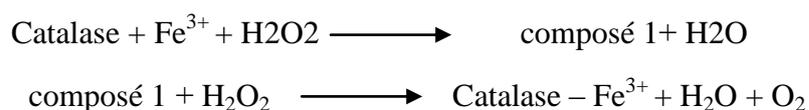
Chez les mammifères, trois isomères enzymatiques de la SOD sont trouvées. Elles se différencient par leur emplacement dans la cellule et par la nature du métal qui existe dans leur structure : La Cu/Zn-SOD se trouve dans le cytosol et le noyau, la Mn-SOD se trouve hors de la cellule et la Ec-SOD qui se trouve au niveau des mitochondries (Stéphane, 2004).

B- Glutathion peroxydase (GPX) : Elle se trouve au niveau des mitochondries et dans le cytosol. Cette enzyme peut réagir avec l'H₂O₂ et avec les hydroperoxydes qui résultent de l'oxydation du cholestérol et des acides gras (Herbette *et al.*, 2007 ; Théron et Denis, 2005). La GPX catalyse les réactions suivantes (Ganther, 1999):



C- La catalase:

Elle existe dans tous les organes du corps, mais surtout au niveau du foie, des globules rouges et des reins. Elle est formée de quatre sous-unités, chacune contient un groupement d'hème relié au site actif Fe³⁺. La CAT réagit avec le H₂O₂ et se transforme en H₂O et O₂ selon la réaction suivante (Gutteridge et Halliwell, 1992; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003) :



3.2.3.2- Les antioxydants non enzymatiques :

A- L'acide L-ascorbique :

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est un important antioxydant hydrosoluble, capable d'interagir avec plusieurs dérivés de l'oxygène comme O_2^- , H_2O_2 , 1O_2 , NO et $HO\cdot$ (B.Roberfroid, 2002) (Figure 1).

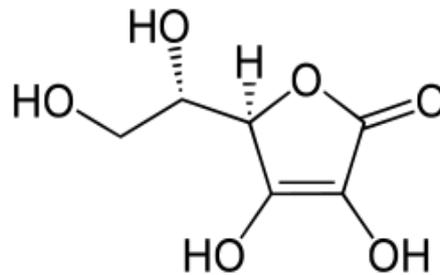


Figure 1: Structure cyclique de l'acide L-ascorbique (Hennen, 1996).

B- La vitamine E :

Le composé α -tocophérol ou vitamine E se trouve au niveau des membranes plasmiques, il a une activité antioxydante concentrée sur le phénomène de peroxydation lipidique qui touche les acides gras insaturés. En particulier, la vitamine E est capable d'arrêter les chaînes radicalaires en faisant réagir son groupement phénol avec des radicaux peroxydes lipidiques (L-OO), intermédiaires radicalaires des chaînes de peroxydation, pour les transformer en hydroperoxydes lipidiques tout en donnant naissance à un radical tocophéryle. Ce dernier est peu réactif et peut être réduit par l'ascorbate et glutathion, soit oxydé ultérieurement en quinone (B.Roberfroid, 2002) (Figure 2).

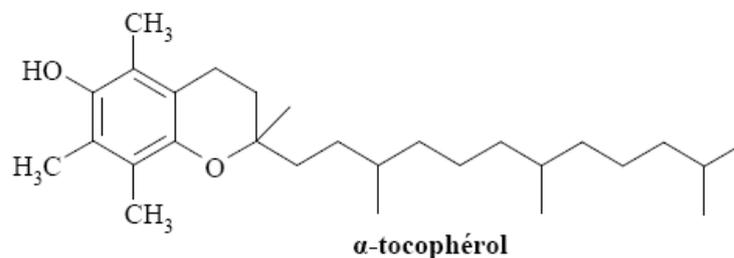


Figure 2: Structure chimique de la vitamine E (Hennebelle, 2006).

C- Les caroténoïdes :

Ce sont un groupe de plusieurs centaines de substances naturelles jouant le rôle de pigments de couleurs jaune à rouge dans beaucoup de fruits et de légumes. Deux groupes majeurs peuvent être distingués : les xanthophylles qui sont des caroténoïdes porteurs de substituants oxygénés (la lutéine, la zeaxanthine et la cryptoxanthine), et les carotènes qui ne contiennent pas d'oxygène (l' α - et le β -carotène, le lycopène) (B.Roberfroid, 2002) (Figure 3). Les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet, et protègent la peau des rayonnements UV (Cohen, 2002; Hale, 2003).

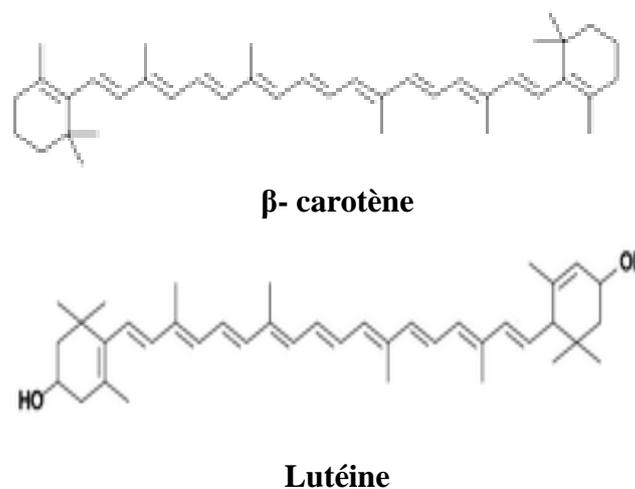


Figure 3: Structure de quelques caroténoïdes (B.Roberfroid, 2002).

D- Les flavonoïdes

Ce sont des polyphénols naturels contenus sous forme de dérivés glucosidiques dans de nombreux fruits et légumes. Il en existe de nombreuses structures (plusieurs milliers de composés dans la nature) que l'on peut classer en différents groupes selon leur structure de base et les substituants : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones et flavanols ou catéchines (B.Roberfroid, 2002) (Figure 4). Les flavonoïdes exercent leur activité antioxydante par l'inhibition des enzymes ou par la captation des restes des métaux producteurs de radicaux libres et/ou la stimulation des enzymes antioxydantes (Montoro *et al.*, 2005).

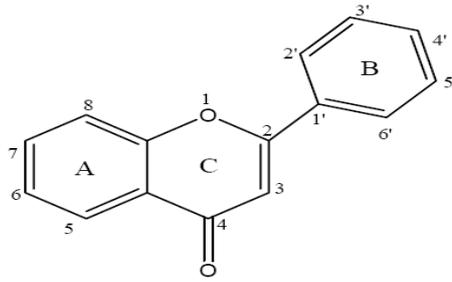


Figure 4: Structure générale des flavonoïdes (Middleton *et al.*, 2000).

4- Les polyphénols et leurs activités biologiques :

4.1- Les polyphénols :

L'appellation polyphénols ou composés phénoliques regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 atomes de carbone, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (Hennebelle *et al.*, 2004). Les principales sources alimentaires des polyphénols sont : les fruits, les légumes, les céréales, le chocolat, les boissons d'origine végétale tels que les jus de fruits, le thé et le café (Scalbert *et al.*, 2005).

Les polyphénols peuvent être divisés en 3 principaux groupes : les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins (Beta *et al.*, 2005).

Les acides phénols sont des composés solubles dans les solvants organiques polaires. Ils sont divisés en 3 groupes : les acides phénols simples qui sont rares, à l'exception des composés hydroquinones qui se trouvent au niveau de plusieurs familles végétales; les acides benzoïques qui peuvent être trouvés soit à l'état libre, soit liés à des glucides ou des esters (l'acide gallique) (Bruneton, 1999) ; le troisième groupe est représenté par les acides cinnamiques qui sont très fréquents, comme l'acide caféique et l'acide férulique (Bruneton, 1993).

Les tanins sont des polyphénols accumulés dans les racines, l'écorce, les feuilles et quelquefois dans les fruits des plantes. Ils se caractérisent par leur saveur amère et astringente (Baba Aissa, 1999). Les tanins sont divisés en 2 groupes : les tanins condensés formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères), et les tanins hydrolysables qui sont des esters des acides phénols et de glucose (Berthod *et al.*, 1999).

4.2- Activités biologiques des polyphénols :

La consommation d'aliments riches en polyphénols peut se révéler bénéfique pour inhiber l'oxydation des LDL par les macrophages qui peut conduire au bouchage des vaisseaux, ce phénomène est particulièrement dramatique lorsque ce sont les artères coronariennes qui sont concernées, provoquant alors un infarctus du myocarde. De nombreux flavonoïdes sont également impliqués dans l'inhibition de l'agrégation des plaquettes sanguines et de leur adhérence sur la paroi des vaisseaux, phénomènes qui peuvent être à l'origine de caillots responsables de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères (Macheix *et al.*, 2005).

Ils interviennent également dans la digestibilité des aliments et dans l'utilisation physiologique des protéines (avec les quelles les tanins se combinent) (Frankel *et al.*, 1995).

Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumons, peau, vessie...) à tous les stades de cancérogénèse. Au stade d'initiation, ils agissent comme agent bloquant en empêchant l'activation de pro-carcinogène. Au stade de promotion et de progression, ils agissent comme agent suppresseur de tumeurs. Les mécanismes impliqués peuvent encore être très variés: prévention du stress oxydant, inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et des réactions inflammatoires associées, inhibition de la protéine kinase C et de la prolifération cellulaire, induction de l'apoptose et inhibition de l'angiogénèse.

Les polyphénols pourraient aussi exercer des effets protecteurs contre les maladies hormono-dépendantes telles que l'ostéoporose en modulant la réponse aux œstrogènes endogènes (Scalbert et Williamson, 2000). Enfin, les composés phénoliques et en particulier, l'acide salicylique (acide hydroxybenzoïque) ont également des propriétés antiseptiques (Ribereau, 1964).

Les polyphénols sont alors doués de certaines activités résumées dans le tableau 3.

Tableau 3: Activités biologiques des composés phénoliques (Frankel *et al.*, 1995).

Polyphénols	Activités biologiques
Acides phénols	Antibactériens, Antifongiques, Antioxydants
Coumarines	Vasoprotectrices Antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales, Anticarcinogènes, Anti-inflammatoires, Hypotenseurs et diurétiques, Antioxydants
Anthocyanes	Protection des veines et capillaires
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, Antioxydants, Antitumorales, Antifongiques, Anti- inflammatoires
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydants

Chapitre II:

Matériels et méthodes

1- Matériels :

1.1- Matériel végétal :

La plante *Thymelaea microphylla* a été récoltée en Mai 2010 de la région de Draa El-Hadjja à M'sila (Figure 5,6). Après son identification par Pr. Laouar au niveau du Laboratoire de Botanique- Université de Sétif, la plante a été nettoyée et séchée à température ambiante dans un lieu sec, à l'abri de la poussière et de la lumière. Les feuilles et les fleurs ont été séparées du reste de la plante et conservées jusqu'à l'extraction.



Figure 5: Feuilles et fleurs de *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur.



Figure 6: *Thymelaea microphylla* poussant dans les sols sablonneux.

1.2- Animaux :

Dans le but d'étudier l'activité hypoglycémiant de l'extrait aqueux des feuilles et des fleurs de *Thymelaea microphylla*, une quinzaine de rats du sexe femelle de la variété *Albinos wistar* sont apportés de l'institut Pasteur à Alger. Les rats sont acclimatés aux conditions de l'animalerie durant un mois, avec des conditions standards de température et un cycle naturel de lumière/obscurité. L'accès à l'alimentation et l'eau de boisson est libre.

1.3- Souches bactériennes :

Différentes souches bactériennes ont été utilisées dans le but d'étudier l'activité antimicrobienne des extraits aqueux et éthanolique des feuilles et des fleurs de *Thymelaea microphylla*. Les bactéries choisies sont des deux Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella oxytoca*). Cette étude a été réalisée au niveau de l'hôpital d'ElZahraoui à M'sila et les souches ont été isolées des malades et identifiées au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital.

1.4- Produits et appareillage :

Ethanol 96%, Butylated hydroxytoluene (BHT), 2,2'-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), Tween 40, acide linoléique, Méthanol, Chloroforme, Glucose, Héparine (Sigma), β -carotène, Quercétine, Rutine, Acide gallique, Trichlorure d'Aluminium ($AlCl_3$), Folin-Ciocalteu, Carbonate de Sodium (Na_2CO_3), Glibenclamide, le milieu de culture Mueller-Hinton, diméthylsulfoxyde (DMSO), Gentamycine (10 μ g/disque).

Rotavapor (Büchi Switzerland), Bain Marie, Etuve, Autoclave, Centrifugeuse 3K30 (Sigma), Spectrophotomètre (TechomP UV/VIS-8500).

2- Méthodes :

2.1- Extraction :

Dans le but d'extraire les substances actives de la plante *Thymelaea microphylla*, deux solvants différents ont été utilisés : l'eau distillée et l'éthanol.

2.1.1- Préparation de l'extrait aqueux :

Vu la petite taille des feuilles et des fleurs de la plante, celles-ci ont été directement utilisées sans broyage.

100g de matériel végétal sont macérés dans 1L d'eau distillée à 70°C durant 30mn avec agitation. Le mélange est laissé durant 3 jours à température ambiante et à l'abri de la lumière, avec agitation occasionnelle. Après filtration, le filtrat est soumis à une évaporation dans un rotavapor BÜchi à 45°C. L'extrait obtenu est ensuite séché à l'étuve et conservé par congélation à -18°C (Figure 7) (Gnanaprakash *et al.*, 2010).

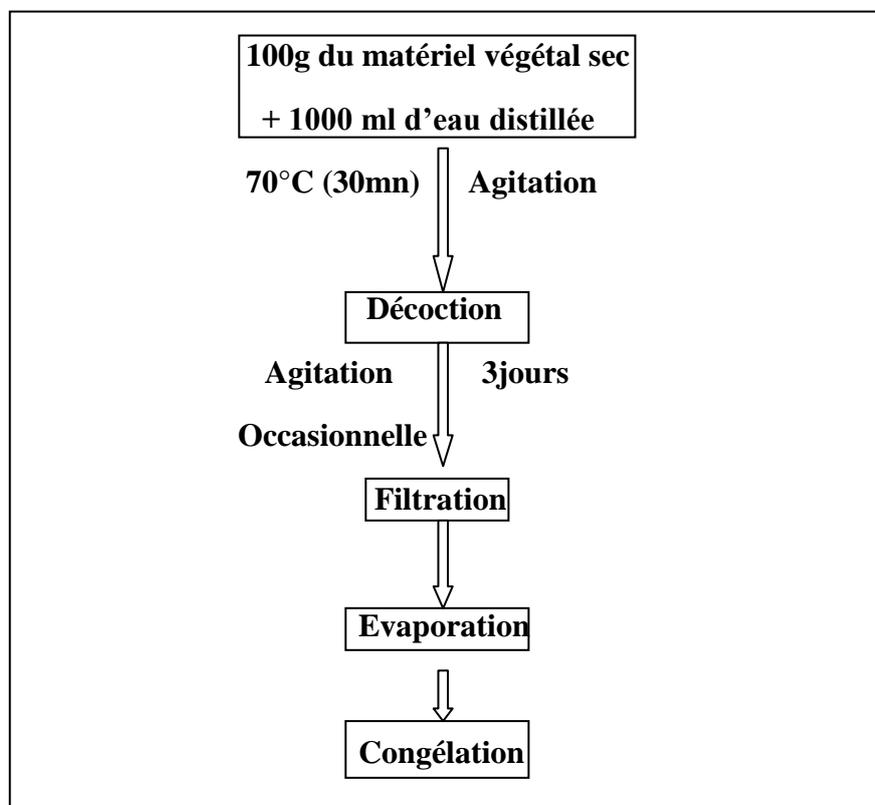


Figure 7: Extraction aqueuse à partir des feuilles et des fleurs de *Thymelaea microphylla* (Gnanaprakash *et al.*, 2010).

2.1.2- Préparation de l'extrait éthanolique :

100g de matériel végétal sont macérés dans 1L d'Ethanol 96%, le mélange est laissé 3jours à température ambiante et à l'abri de la lumière, avec agitation occasionnelle. Une filtration est effectuée avant l'évaporation par rotavapor. Le retentât issu de cette filtration est macéré une deuxième fois dans l'Ethanol (Extraction double). L'extrait obtenu après évaporation est séché et congelé (Figure 8) (Thanabhorn *et al.*, 2006).

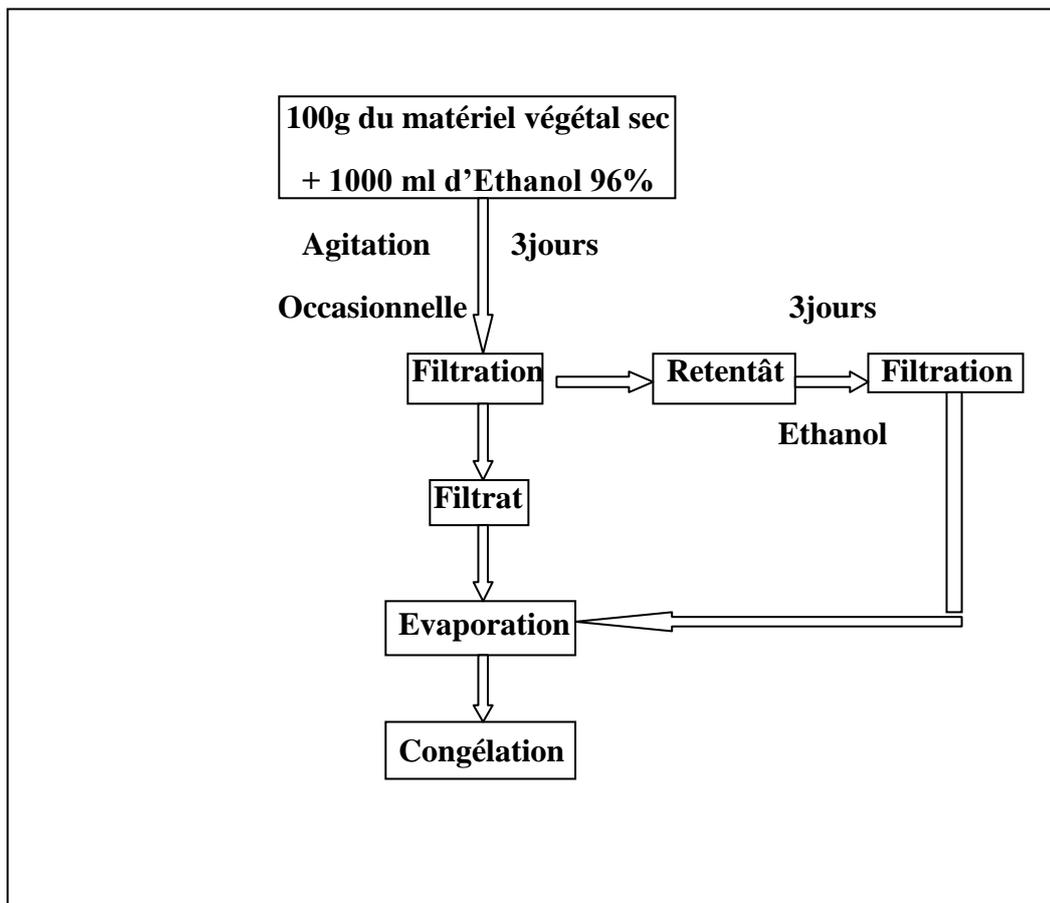


Figure 8: Extraction éthanolique à partir des feuilles et des fleurs de *Thymelaea microphylla* (Thanabhorn *et al.*, 2006).

2.2- Etude de l'activité hypoglycémiante de l'extrait aqueux de *Thymelaea microphylla* :

La plante *Thymelaea microphylla* est utilisée traditionnellement pour le traitement du diabète, mais aucune étude scientifique n'a confirmé que cette plante a une activité contre cette maladie.

Afin d'étudier l'activité hypoglycémiante de l'extrait aqueux de *Thymelaea microphylla*, 3 groupes de 5 rats femelles (171-285g) sont formés. Les rats sont maintenus à jeun durant une nuit avant l'expérimentation.

Les rats du premier groupe reçoivent de l'eau distillée (groupe témoin), ceux du deuxième groupe reçoivent du Glibenclamide (substance hypoglycémiante) à une dose de 3mg/Kg du

poids corporel des rats (contrôle positif), et les rats du troisième groupe reçoivent de l'extrait aqueux de *Thymelaea microphylla* à une dose de 250mg/Kg du poids corporel des rats, le traitement est réalisé par gavage.

Le prélèvement du sang à partir des queues des rats des trois groupes est effectué immédiatement avant gavage, 120mn, 240mn et 360mn après celui-ci (ElAmrani *et al.*, 2009). Le sang collecté est ensuite centrifugé (3000rpm) durant 15mn à 10°C et la glycémie du plasma obtenue est mesurée par la méthode de la glucose-oxydase au niveau du laboratoire de biochimie du CHU à Sétif.

2.3- Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits de la plante :

2.3.1- Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux est effectué par le test de Folin-Ciocalteu (Spagna *et al.*, 1996). A 500 µl de Folin-Ciocalteu on ajoute 450 µl d'eau distillée et 50 µl de chaque extrait dissout dans le DMSO à une concentration de 2 mg/ml (50 µl de DMSO pour le blanc). Après avoir agité durant 3mn, on ajoute 500µl de carbonate de Sodium (Na_2CO_3 à 10%) et on incube durant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière avec agitation chaque 10mn. Puis l'absorbance est mesurée à 786nm.

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est préparée par 4 concentrations différentes : 75µg/ml, 150µg/ml, 300µg/ml et 600µg/ml (Figure 9); et les concentrations de polyphénols dans les deux extraits sont calculées et exprimées en µg d'équivalent d'acide gallique/mg d'extrait (µg EAG/mgE).

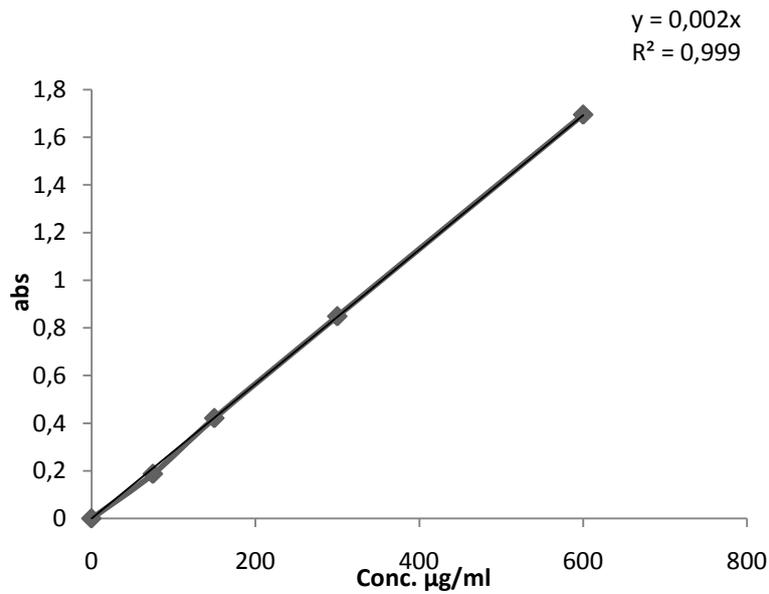
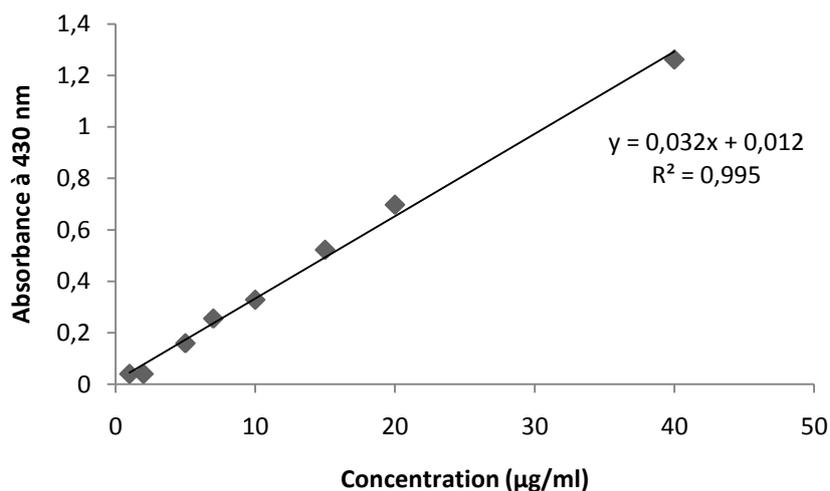


Figure 9: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

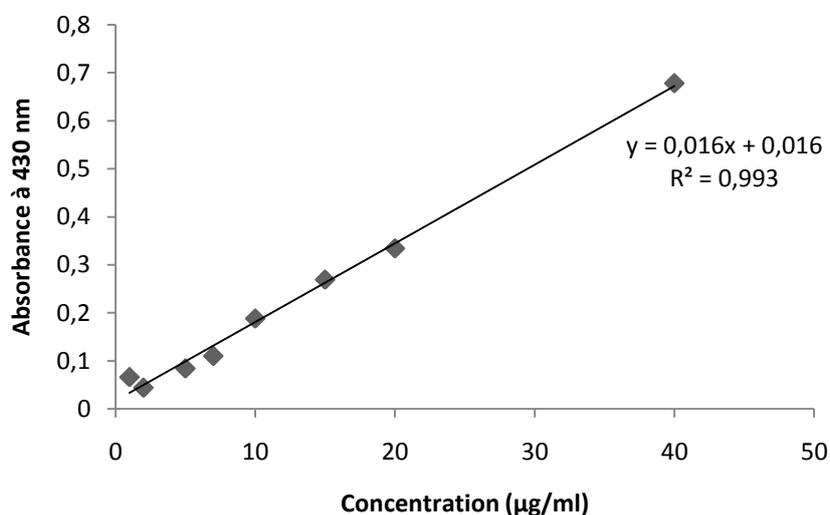
Chaque point représente la moyenne de deux répétitions.

2.3.2- Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de trichlorure d'Aluminium (AlCl_3) (Bahorun *et al.*, 1996). On ajoute 1ml d' AlCl_3 (2%) à 1 ml de chaque solution des extraits préparés à des concentrations différentes dans l'eau distillée ou le méthanol (1, 2.5 et 5 mg/ml). Après incubation à l'obscurité durant 10 mn, l'absorbance est mesurée à 430 nm. Le calcul de la concentration des flavonoïdes dans les extraits ce fait à l'aide des gammes d'étalonnage établies avec la quercétine et la rutine (1-40 µg/ml) (Figure 10) et elle est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine ou de rutine par gramme d'extrait (mg EQ/gE).



A



B

Figure 10 : Courbes d'étalonnage de la Quercétine (A) et de la Rutine (B).

Chaque point représente la moyenne de trois répétitions.

2.4- Etude de l'activité antioxydante des extraits de *Thymelaea microphylla* :

2.4.1- Test du β - carotène/acide linoléique:

Dans cette analyse la capacité antioxydante est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydro-péroxydes conjugués diène résultant de l'oxydation de l'acide linoléique.

0.5mg de β - carotène est dissoute dans 1ml de chloroforme, puis 25 μ l d'acide linoléique et 200mg de Tween 40 sont ajoutés à la solution obtenue. Après évaporation de chloroforme par rotavapor, 100ml d'eau distillée saturée en Oxygène sont ajoutées avec agitation vigoureuse. De cette nouvelle solution 2.5ml sont transférées dans des tubes et 350 μ l de chaque extrait d'une concentration de 2mg/ml (l'extrait aqueux est dissout dans l'eau distillée alors que l'extrait éthanolique est dissout dans le méthanol), ou du témoin positif BHT (butylated hydroxytoluene) d'une concentration de 2mg/ml ou des témoins négatifs (l'eau distillée et le méthanol) sont ajoutés. Chaque solution est répétée trois fois, et l'absorbance est mesurée immédiatement. Les tubes sont conservés à température ambiante à l'abri de la lumière.

Après, l'absorbance des solutions est mesurée à 490nm et à différents intervalles de temps : 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 24h et 48h.

L'activité antioxydante relative est calculée selon la relation suivante (Dapkevicius *et al.*, 1998):

$$\text{AAR}\% = (A_{\text{éch}} / A_{\text{BHT}}) \times 100$$

AAR : activité antioxydante relative.

$A_{\text{éch}}$: Absorbance de l'échantillon.

A_{BHT} : Absorbance du BHT.

2.4.2- Test DPPH :

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 diphenylpicrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 diphenylpicrylhydrazine de couleur jaune.

L'extrait aqueux est dissout dans l'eau distillée, alors que l'extrait éthanolique est dissout dans le méthanol. 50 μ l de chaque extrait (à concentrations différentes) sont ajoutées à 1250 μ l de la solution méthanolique du DPPH (0.04mg/ml) avec agitation. Le BHT est utilisé comme témoin positif et la solution méthanolique du DPPH comme témoin négatif. Chaque solution est répétée trois fois, et les tubes sont conservés à température ambiante à l'abri de la lumière. Après 30mn, l'absorbance des solutions est mesurée à 517nm.

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est calculé par la formule suivante (Brand-Williams *et al.*, 1995):

$$I\% = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{éch}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

I% : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance du témoin négatif.

$A_{\text{éch}}$: Absorbance de l'échantillon.

2.5- Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *Thymelaea microphylla* :

L'émergence de microorganismes pathogènes multirésistants, due à l'usage abusif et inapproprié des antibiotiques, pose actuellement un problème de santé publique particulièrement préoccupant. En effet, la résistance des bactéries aux antibiotiques rend quelques fois le traitement thérapeutique inefficace, et met le praticien dans des situations délicates, surtout lorsque la vie du malade est en cause. La solution de ce problème s'avère donc urgente et impose la recherche de nouveaux agents antimicrobiens.

Le recours aux plantes médicinales aux propriétés antimicrobiennes constitue alors une des plus intéressantes pistes à explorer (Chebaibi *et al.*, 2007). C'est dans cette perspective que nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antibactérienne des feuilles et des fleurs de *Thymelaea microphylla*.

Afin d'évaluer le pouvoir antibactérien des extraits aqueux et éthanolique de *Thymelaea microphylla*, on a procédé à utiliser la méthode de diffusion (Disc Diffusion Agar) décrite par Bauer et modifiée par Sharififar *et al.* (2007). Cette méthode consiste à réaliser un antibiogramme en remplaçant les disques d'antibiotiques par des disques imprégnés par les extraits de la plante. Ces disques sont déposés à la surface de la gélose cultivée, et après incubation la zone d'inhibition est mesurée.

2.5.1- Préparation des échantillons :

10 mg des deux extraits aqueux et éthanolique sont dissouts dans 1ml d'eau distillée et de diméthylsulfoxyde (DMSO) respectivement. Puis les extraits sont stérilisés par filtration en utilisant des millipores (0.45µm).

2.5.2- Evaluation de l'effet antibactérien :

Chaque souche bactérienne est incubée à 37°C durant 6 heures dans un bouillon nutritif stérile. Après, des dilutions de 10^{-1} puis de 10^{-2} sont effectuées à partir des suspensions des différentes souches en utilisant l'eau distillée stérile ; puis 5ml de la dilution 10^{-2} sont cultivés dans des boîtes de Petri (9cm) contenant le milieu de culture Muller-Hinton préparé, stérilisé et séché préalablement dans des conditions stériles. Après avoir laissé les suspensions bactériennes durant 3 mn dans les boîtes de Petri, le surplus est éliminé, et les disques stériles du papier de Wattman (6mm de diamètre) imprégnés dans les extraits (10µl/disque) sont placés à la surface du milieu. On utilise les disques de DMSO et de l'antibiotique Gentamicine (10µg/disque) comme témoins négatif et positif respectivement et dans les mêmes conditions.

Le test est réalisé en triplicata pour chaque échantillon et les boîtes sont incubées à 37°C durant 24 heures ; après, le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré en millimètres.

2.5.3- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI):

Ce test permet une estimation quantitative du pouvoir antimicrobien des extraits de la plante. Différentes dilutions sont effectuées à partir de la substance antimicrobienne testée qui peut être incorporée à un milieu de culture solide ou liquide afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice. La CMI est la plus petite concentration de l'agent antimicrobien, qui est capable d'inhiber la croissance des microorganismes in vitro (Silva *et al.*, 2005).

La CMI est déterminée pour les extraits qui ont eu dans le test précédent une activité plus de 0.6 (Activité = diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait / diamètre de la zone d'inhibition de l'antibiotique) (Rabe et Van Staden, 1997).

2.6- Analyse statistique :

Les résultats des différents essais réalisés sont exprimés comme étant la moyenne d'au moins deux répétitions ($n = 5$ pour le test de l'activité hypoglycémiant et $n = 2$ ou $n = 3$ pour les autres tests) \pm écart type.

La signification statistique entre le contrôle et les échantillons (ou les groupes d'animaux traités) est déterminée par le test t de Student et les différences sont considérées significatives au seuil de 5% ($p < 0.05$).

Les opérations statistiques et les différents graphes ont été réalisés à l'aide de deux logiciels :
GraphPad Prism 5 et OriginPro 8.

Chapitre III:

Résultats et discussion

1- Résultats :

1.1- Extraction :

Les extraits aqueux et éthanolique des feuilles et des fleurs de *Thymelaea microphylla* ont été obtenus par deux méthodes différentes d'extraction décrites par Gnanaprakash *et al.* (2010) et par Thanabhorn *et al.* (2006).

Les résultats indiquent qu'à partir de 100g du matériel végétal et 1L d'éthanol on obtient un extrait alcoolique de couleur verte foncée (présence de la chlorophylle) et sans odeur spéciale. L'extrait aqueux obtenu à partir de 100g de feuilles et de fleurs de la plante et de 1L d'eau distillée avait une couleur marron foncée (dépourvu de chlorophylle), avec une forte odeur spécifique.

Les rendements des extractions calculés sont représentés dans le tableau 4.

Tableau 4: Rendements des extractions aqueuse et éthanolique à partir des feuilles et des fleurs de *Thymelaea microphylla*.

Extrait	Rendement (%)
Aqueux	10.44
Ethanolique	4.46

1.2- Activité hypoglycémiante de l'extrait aqueux de *Thymelaea microphylla* :

Le taux de glucose sanguin chez les rats des trois groupes est mesuré, et les résultats sont représentés dans la figure 11.

Selon ces résultats, le traitement des rats par l'extrait aqueux de *Thymelaea microphylla* à une dose unique de 250 mg/Kg du poids corporel des rats a produit une diminution très significative ($p < 0,001$) de la glycémie par rapport aux rats témoins après 2h du gavage, alors qu'après 4h à 6h, la diminution du taux de glucose sanguin devient moins significative ($p < 0,01$).

On a constaté aussi une diminution significative de la glycémie après 2h, 4h et 6h de l'administration orale de la glibenclamide à une dose de 3 mg/Kg du poids corporel des rats.

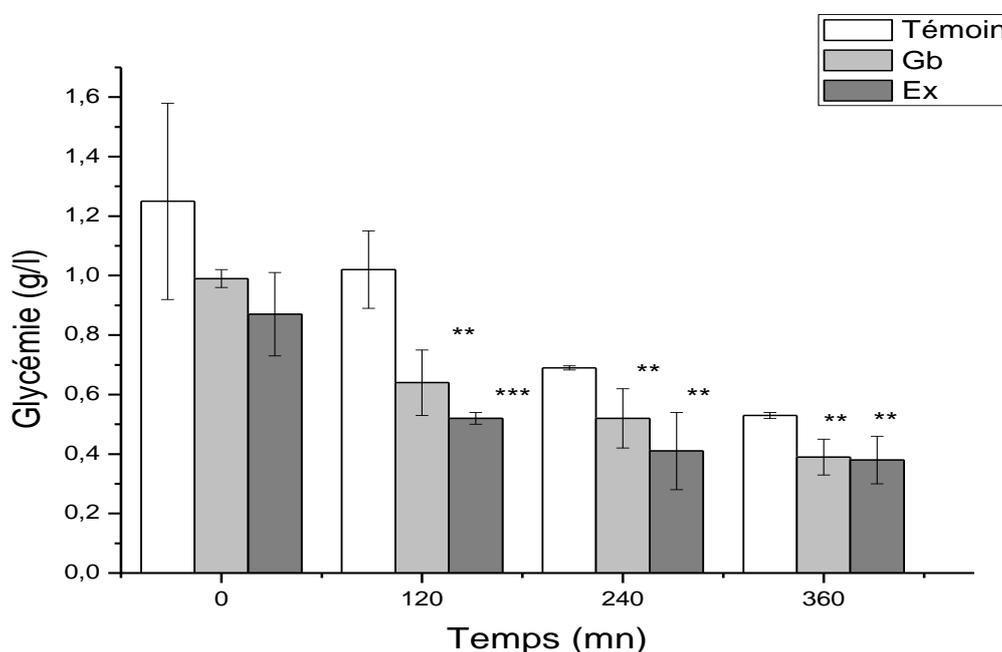


Figure 11: Valeurs de la glycémie durant 6 heures après une administration unique de l'extrait aqueux de *Thymelaea microphylla* chez les rats.

Gb : Glibenclamide, Ex : Extrait

Chaque valeur représente la moyenne de 5 répétitions \pm écart type (M \pm SD)

p < 0.01 ; *p < 0.001

1.3- Dosage des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits:

Les activités biologiques des extraits étudiés résultent essentiellement des polyphénols contenus dans ceux-ci ; Il est ainsi utile de doser ces métabolites secondaires à savoir les polyphénols et les flavonoïdes. Les résultats indiqués dans le tableau 5 représentent le contenu en polyphénols et en flavonoïdes des deux extraits de la plante.

Tableau 5 : Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits de *Thymelaea microphylla*.

Extrait	Teneur en polyphénols (µg EAG/mgE)	Teneur en flavonoïdes	
		Quercétine (µg EQ/mgE)	Rutine (µg ER/mgE)
Aqueux	59.321	2,512	4,850
Ethanolique	35.589	9,437	18,625

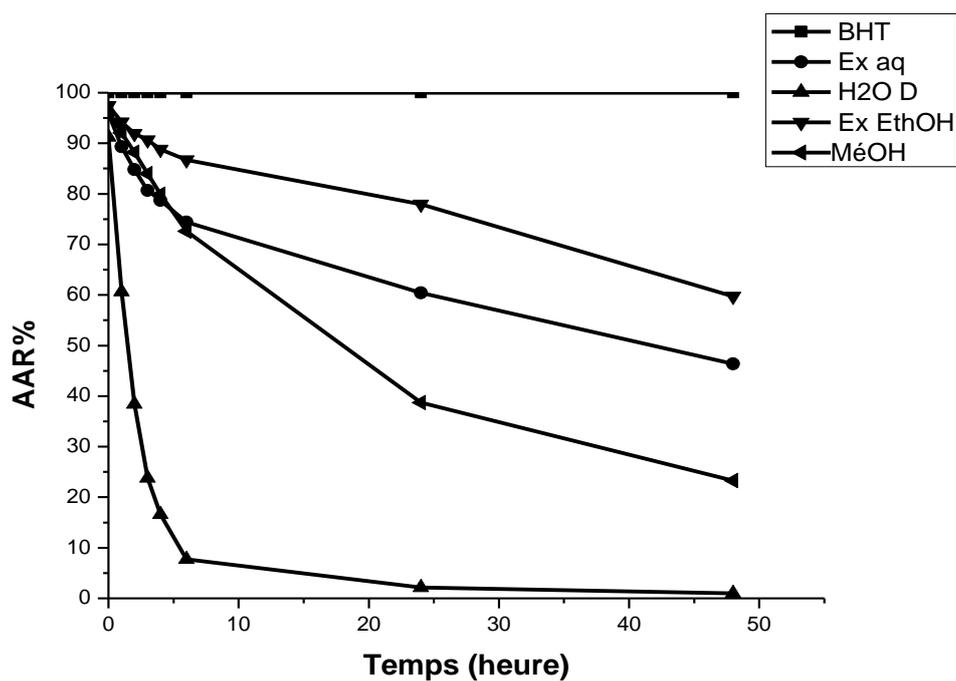
Selon le tableau 5, l'extrait aqueux est plus riche en polyphénols par rapport à l'extrait alcoolique avec des concentrations de 59.321 et de 35.589 µg EAG/mg d'extrait respectivement. Tandis que pour les flavonoïdes, l'extrait éthanolique est le plus riche avec une valeur de 9.437 µg/mg d'extrait en utilisant la quercétine comme standard et de 18.625 µg/mg d'extrait en utilisant la rutine comme standard.

1.4- Activité antioxydante des extraits aqueux et éthanolique de *Thymelaea microphylla* :

Le pouvoir anti-radicalaire des extraits des feuilles et des fleurs de *Thymelaea microphylla* a été déterminé par deux tests complémentaires.

Dans le test de β-carotène/acide linoléique, l'activité antioxydante a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la décoloration du β-carotène à 490 nm. Les résultats des pourcentages de l'activité antioxydante en fonction du temps sont représentés dans la figure 12.

(A)



(B)

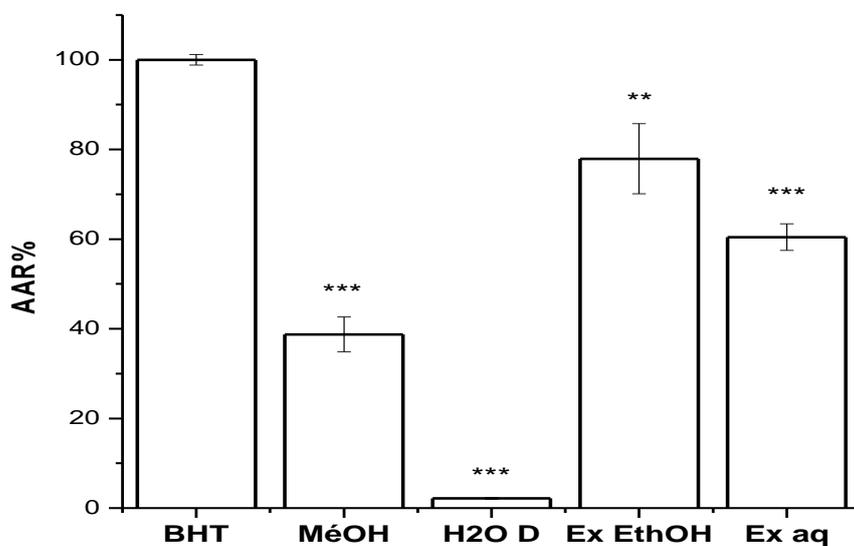


Figure 12: (A). Activité antioxydante des extraits aqueux (Ex aq) et éthanolique (Ex EthOH) de *Thymelaea microphylla* par rapport aux témoins (BHT, MéOH : Méthanol et H₂O D : eau distillée) par le test du β -carotène/acide linoléique durant 48h. (B). Pourcentages d'inhibition des extraits aqueux et éthanolique et des témoins (BHT, Méthanol et eau distillée) par le test du β -carotène/acide linoléique après 24h.

Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions \pm SD (**p < 0.01, ***p < 0,001).

Dans le test DPPH, ce radical libre est réduit par les composés antioxydants, sa couleur change du violet foncé au jaune pâle, ce qui diminue son absorbance à 517 nm (Cuendet *et al.*, 1997). Les résultats indiqués dans la figure 13 représentent les concentrations des extraits qui piègent 50% du radical DPPH (IC₅₀). Plus cette concentration est faible plus le pouvoir antioxydant est élevé (Brande-Williams *et al.*, 1995 ; Tsimogiannis et Oreopoulou, 2004 ; Atoui *et al.*, 2005).

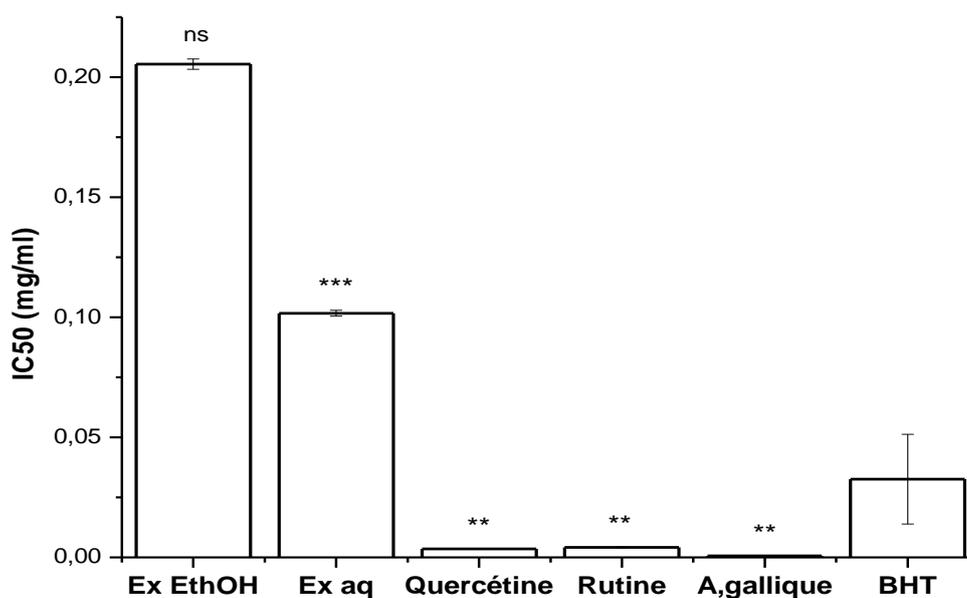


Figure 13: Représentation de l'inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs de l'IC₅₀ des extraits aqueux et éthanolique de *Thymelaea microphylla* et quelques composés phénoliques purs.

Ex EthOH :Extrait éthanolique, Ex aq : Extrait aqueux. Chaque valeur IC₅₀ représente la moyenne de 3 répétitions ± écart type (M±SD) (ns p > 0.05 , ** p < 0.01 , *** p < 0.001).

1.5- Activité antibactérienne des extraits de *Thymelaea microphylla* :

D'après l'étude du pouvoir antibactérien des extraits aqueux et éthanolique de l'espèce *Thymelaea microphylla* par la méthode des disques (100µg de chaque extrait par disque), ces deux extraits n'ont montré aucun effet sur les souches étudiées sauf une activité faible sur la bactérie *Klebsiella oxytoca* par une zone d'inhibition de 8 mm de diamètre pour l'extrait éthanolique et 7 mm pour l'extrait aqueux (Tableau 6) (Figure 14).

Sachant que le DMSO utilisé comme témoin négatif n'a eu aucun effet inhibiteur sur toutes les souches étudiées.

L'effet de la Gentamycine utilisée comme témoin positif et les diamètres des zones d'inhibition pour chaque souche sont représentés dans le tableau 6.

L'activité antimicrobienne représente le rapport du diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait sur celui de la gentamycine.

Tableau 6: Diamètres des zones d'inhibition des extraits et de la gentamycine en mm.

Souche \ Extrait	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
aqueux	6	6	7	6
Ethanolique	6	6	8	6
Gentamycine	21	19	19	27

Selon Rabe et Van Staden (1997), La CMI est déterminée pour les extraits qui montrent une activité supérieure à 0.6. D'après les résultats obtenus, aucun extrait n'a eu une activité antimicrobienne égale ou supérieure à 0.6 pour toutes les souches.

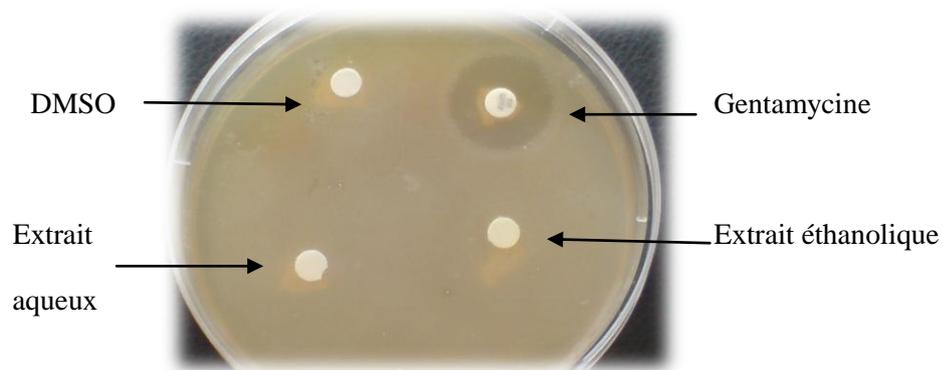


Figure 14: Antibiogramme de la souche *Escherichia coli*.

2- Discussion :

2.1- Evaluation des techniques de l'extraction:

Puisque chaque solvant est capable d'extraire des composés phytochimiques qui ne peuvent être obtenus probablement que par l'utilisation de celui-ci, et car l'activité pharmacologique d'un extrait d'une plante médicinale dépend du solvant d'extraction (Fleurentin *et al.*, 1991), on a utilisé deux solvants différents afin d'extraire le maximum de constituants chimiques de *Thymelaea microphylla*. Traditionnellement, les solvants d'extraction les plus utilisés sont surtout l'eau et l'alcool éthylique (Fleurentin *et al.*, 1991) et en plus on utilise généralement la plante en question sous forme d'une suspension dans l'eau, d'où l'utilité d'étudier son extrait aqueux.

L'eau est un solvant qui permet d'extraire préférentiellement les composés polaires comme par exemple les flavonoïdes di-, tri- et tétra-glycosylés (Jones et Kinghon, 2006). Les tanins et les terpénoïdes peuvent être aussi extraits par de l'eau chaude (King et Bott, 1993), c'est pour cette raison qu'on a chauffé le mélange du matériel végétal et d'eau à 70°C durant l'extraction aqueuse.

L'éthanol est un solvant polaire et miscible avec l'eau (king et Bott, 1993). Il permet l'extraction de composés phytochimiques polaires comme les lectines, les alcaloïdes, les quassinoides, les flavones, les polyphénols, les tannins et les saponines. Ce solvant est capable aussi de séparer les micromolécules des macromolécules (protéines et carbohydrates) (Iqbal *et al.*, 2006).

L'extraction aqueuse a donné un rendement de 10% et qui est environ deux fois plus élevé que celui de l'extraction éthanolique. Le rendement de l'extraction dépend de plusieurs facteurs à savoir la méthode d'extraction, la durée de macération du matériel végétal dans le solvant, la température, le solvant utilisé et la nature chimique de l'échantillon (Su *et al.*, 2006). La grande différence entre les deux rendements peut être alors expliquée par la nature du solvant utilisé, par l'effet de la température et/ou par la différence dans la durée de macération.

2.2- Contenu des extraits en polyphénols et en flavonoïdes :

Selon les résultats obtenus, la quantité de polyphénols contenus dans les deux extraits est supérieure à celle des flavonoïdes, ce qui est logique étant donné que les flavonoïdes représentent seulement un groupe de polyphénols. En général, on observe que l'extrait aqueux de la plante est plus riche en polyphénols par rapport à l'extrait éthanolique, alors que ce dernier est le plus riche en flavonoïdes. Les résultats obtenus sont loin de ceux trouvés par Benhammou *et al.* (2009) en étudiant l'extrait aqueux des feuilles et des rameaux de *Thymelaea microphylla* collectée du Sahara Algérien où les valeurs de contenu en polyphénols sont comprises entre 18.6 et 36.1mg/g. ça peut être expliqué par la relation qui existe entre la quantité de polyphénols contenus dans la plante et la variation des conditions climatiques, la nature du sol et aussi la partie étudiée de la plante (Boizot et Charpentier, 2006).

2.3- Activité hypoglycémiant de la plante :

D'après une enquête réalisée chez des phytothérapeutes spécialistes au niveau de la wilaya de M'sila, la plante *Thymelaea microphylla* est utilisée dans le traitement du diabète sucré de type 2. Cette plante possède alors des propriétés hypoglycémiantes, ce qui a été confirmé par l'expérimentation réalisée dans ce travail.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'administration de l'extrait aqueux des feuilles et des fleurs de *Thymelaea microphylla* à une dose de 250mg/Kg du poids corporel cause une diminution significative de la glycémie chez les rats. Durant les 6h de l'expérimentation, la diminution la plus significative de la glycémie par rapport au témoin était observée après 2h de l'administration de l'extrait aqueux. Cette action est expliquée par la présence d'un ou de plusieurs principes actifs hypoglycémiant dans l'extrait aqueux de la plante.

Comme l'extrait de la plante, la glibenclamide a causé aussi une réduction significative du taux de glucose sanguin chez les rats. Selon Patlak (2002), les sulfonylurées (les sulfamides hypoglycémiant) comme la glibenclamide agissent par l'accroissement de la libération d'insuline par les cellules bêta du pancréas et par conséquent ils causent la stimulation du transport de glucose sanguin jusqu'aux tissus ainsi que de son utilisation par ceux-ci.

D'autres espèces de la famille des *Thymelaeaceae* possèdent aussi des propriétés hypoglycémiantes et antidiabétiques, comme par exemple la plante *Thymelaea hirsuta* (connue aussi par l'appellation Methnane en Algérie), mais rien n'est connu sur la nature chimique des principes actifs responsables de ces propriétés des *Thymelaeaceae* ou sur leurs mécanismes d'action (ElAmrani *et al.*, 2009).

2.4- Capacité antioxydante de la plante :

Le test du β -carotène/acide linoléique est utilisé pour évaluer l'inhibition de l'oxydation des lipides et/ou la neutralisation des radicaux libres. Les composés organiques volatils et les hydroperoxydes à doubles liaisons conjuguées (diène conjugated hydroperoxides) résultants de l'oxydation de l'acide linoléique attaquent les molécules insaturées de β -carotène, ce qui cause la diminution de l'absorbance à 490 nm, avec décoloration du β -carotène. Les composés antioxydants neutralisent alors les radicaux libres qui se forment, ce qui bloque l'oxydation et la décoloration du β -carotène (Jayaprakasha *et al.*, 2001).

D'après les résultats, l'extrait éthanolique a montré une AAR supérieure à 70%, c'est-à-dire un pouvoir antioxydant élevé par rapport à l'extrait aqueux qui a eu une AAR égale à 60.44% après 24h. Bien que le BHT ait une AAR plus élevée que les extraits de la plante (99.99%), on peut dire toujours que l'extrait éthanolique a montré une capacité élevée à inhiber l'oxydation et à neutraliser les radicaux libres.

Ces résultats sont comparables à ceux d'Athamena *et al.* (2010) en étudiant une fraction extraite par le n-butanol de l'espèce *Cuminum cyminum* L., où la AAR était égale à 36.56%, et aux résultats de Sengul *et al.* (2009) en étudiant l'extrait méthanolique de l'espèce *Fumaria officinalis* avec une AAR de 78.93%.

Selon les résultats du test DPPH, les deux extraits aqueux et alcoolique ont montré un effet scavenger avec des IC_{50} de 0.1 et 0.2 mg/ml, respectivement (l'extrait aqueux a un pouvoir antioxydant plus actif), mais cette activité reste faible en comparaison avec celle du BHT, ce qui a été montré par Benhammou *et al.*, en 2009, qui ont étudié le pouvoir antioxydant des extraits aqueux et méthanolique de la plante *Thymelaea microphylla*. Les résultats indiquent aussi que les composés phénoliques utilisés (quercétine, rutine et acide gallique) possèdent une activité anti-radicalaire très élevée et supérieure à celle du BHT.

Ces résultats sont très proches de ceux de Turkoglu *et al.* (2006) en étudiant l'extrait éthanolique de l'espèce *Morchella conica* avec une IC₅₀ égale à 0.26mg/ml, et des résultats de Sarikurkcü *et al.* (2008) utilisant l'espèce *Marrubium globosum* où l'IC₅₀ était égale à 0.15mg/ml.

L'activité antioxydante des extraits est expliquée par la présence des polyphénols dans leur composition, dont une corrélation a été prouvée entre l'activité anti-radicalaire et le contenu en polyphénols des extraits de plantes par plusieurs chercheurs comme Jayaprakasha et Patil (2007), Abdille *et al.* (2004), Agbor *et al.* (2007), Maisuhisakul *et al.* (2007), Katalinic *et al.* (2006) et Miliuskas *et al.* (2004) ; Ainsi, l'extrait aqueux qui contient plus de polyphénols que l'extrait éthanolique a montré un pouvoir anti-radicalaire plus important dans le test au DPPH.

Alors que dans le test du β-carotène/acide linoléique, l'extrait alcoolique a été plus actif, ce qui est expliqué par le fait que l'effet antioxydant d'un extrait peut aussi différer selon la qualité des polyphénols y présents comme les flavonoïdes qui ont montré un pouvoir anti-radicalaire important (Wang et Mazza, 2002).

2.5- Pouvoir antibactérien des extraits de *Thymelaea microphylla* :

D'après les résultats obtenus, les différentes souches bactériennes utilisées ont été résistantes aux extraits aqueux et éthanolique des feuilles et des fleurs de *Thymelaea microphylla*. La seule souche qui a montré une sensibilité intermédiaire vis-à-vis des extraits de la plante est *Klebsiella oxytoca*, qui a été plus sensible à l'extrait alcoolique ; sachant que le solvant utilisé pour dissoudre les résidus secs de l'extrait éthanolique n'a donné aucune zone d'inhibition. Cette bactérie est un bacille à Gram négatif aéro-anaérobie de la famille des entérobactéries, naturellement résistant à l'ampicilline, aux céphalosporines de premières générations et à la pristinamycine ; elle est considérée habituellement comme un germe saprophyte de la flore colique (Rampal *et al.*, 2000).

La différence légère dans la sensibilité de cette souche aux extraits aqueux et alcoolique peut être expliquée par la dissimilitude dans leur composition, l'alcool permettant une meilleure extraction des composés moins polaires comme quelques dérivés terpéniques par exemple (Ali Emmanuel *et al.*, 2002). Selon Darmadji *et al.* (1994) et Shelef (1983), la majorité des composés végétaux ayant une activité antimicrobienne sont des polyphénols comme la

mangiférine qui a un effet inhibiteur sur plusieurs espèces bactériennes (Stoilova *et al.*, 2005) et les isoflavonoïdes prénylés (Dramane *et al.*, 2010).

L'activité antibactérienne due aux polyphénols pourrait être aussi liée au degré d'oxydation de ces composés, En effet, les polyphénols sont des composés très susceptibles d'auto-oxydation en présence de l'oxygène de l'air. Cette oxydation se traduit par une polymérisation des monomères tels les monomères de flavonoïdes pour donner des polymères de poids moléculaires élevés. Il a été démontré que le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes se fait soit par la privation des ions métalliques tels que le fer soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires (les adhésines) ou les enzymes. Cependant un important facteur qui régit l'activité antimicrobienne des polyphénols est leur poids moléculaire, les monomères sont trop petits pour établir assez de ponts hydrogènes tandis que les polymères de haut poids moléculaire sont trop grands pour traverser la paroi ou la membrane plasmique bactériennes, le poids moléculaire idéal serait donc celui des oligomères (Karou *et al.*, 2005).

Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives :

L'utilisation traditionnelle des plantes médicinales sous forme de suspensions dans l'eau ou localement pour lutter contre les maladies est connue depuis fort longtemps. L'importance de l'exploitation moderne de ces plantes réside dans la possibilité d'avoir à partir de leurs extraits des principes actifs qui peuvent être convertis en médicaments. *Thymelaea microphylla* est une plante de la grande famille des *Thymelaeaceae*, espèce saharienne intéressante car peu étudiée. Dans ce travail, on a essayé d'investiguer quelques activités biologiques des extraits de la plante *Thymelaea microphylla* afin d'avoir une idée sur le domaine vers lequel on doit diriger les études sur cette plante.

Cette investigation a suggéré que l'extrait aqueux de la plante étudiée a un pouvoir hypoglycémiant important lorsque testé sur les rats tandis que ni le principe actif responsable de cette activité, ni son mécanisme d'action sont connus. Le dosage des métabolites secondaires des extraits de *Thymelaea microphylla* a révélé que l'extrait aqueux de la plante est plus riche en polyphénols totaux par rapport à l'extrait éthanolique, alors que ce dernier est plus riche en flavonoïdes. L'évaluation du pouvoir anti-radicalaire de ces extraits a montré que l'extrait aqueux est plus actif par le test au DPPH alors que le pourcentage de l'activité antioxydante relative mesurée par le test de β -carotène/acide linoléique était plus élevé pour l'extrait éthanolique, ce qui a été expliqué par le fait que non seulement la quantité de polyphénols contenue dans les extraits régit leur pouvoir anti-radicalaire mais aussi la qualité de ces molécules actifs. Concernant l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Thymelaea microphylla*, et parmi les bactéries utilisées dans l'étude, seule la souche *Klebsiella oxytoca* a été sensible aux extraits de la plante.

D'autres études plus poussées, plus larges, plus approfondies et plus accomplies seront nécessaires pour préciser la nature chimique et le mécanisme d'action du principe actif présent dans l'extrait aqueux de la plante, et responsable de son pouvoir hypoglycémiant.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

Abdille, Md.H., Singh, R.P., Jayaprakasha, G.K., Jena, B.S., 2005. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. *Food. Chem.* **90**, 891–896.

Agbor, G.A., Kuate, D., Oben, J.E., 2007. Medicinal plants can be good source of antioxidants: case study in Cameroon. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* **10**, 537-544.

Ali-Emmanuel, N., Moudachirou, M., Akakpo, A.J., Quetin-Leclercq, J., 2002. Activités antibactériennes in vitro de *Cassia alata*, *Lantana camara* et *Mitracarpus scaber* sur *Dermatophilus congolensis* isolé au Bénin. *Revue Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* **55 (3)**, 183-187.

Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., Khebri, S., 2010. Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal.* **11**, 69-79.

Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P., 2005. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry.* **89**, 27-36.

Baba Aissa, F., 1999. Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb. *Ed. Librairie moderne*, Rouiba. p.203.

Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luycky, M., Gazin, M., 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneim.Forsch/Drug. Res.* **31**, 1-6.

Becker, L.B., 2004. New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovas. Res.* **61**, 461-470.

Bendali, F., Floret, C., Le Floc'h, E., Pontanier, R., 1990. The dynamics of vegetation and sand mobility in arid regions of Tunisia. *Journal of arid environments.* **18**, 21-32.

Ben El Mostafa, S., Haloui, B., Berrichi, A., 2001. Contribution à l'étude de la végétation steppique du Maroc oriental : Transect Jerrada-Figuig. *Acta Botanica Malacitana*. **26**, 295-299.

Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Coustard, J.M., 2009. Antioxidant activity of methanolic and water extracts from *Marrubium deserti* (de Noë) and *Thymelaea microphylla* from Algerian Sahara. *Advances in food sciences*. **31**, 194-201.

Berthod, A., Billardello, B., Geoffroy, S., 1999. Polyphenols in countercurrent chromatography. An example of large scale separation 1. *Analisis. EDP. Sciences. Wiley-VCH*. **27**, 750-757.

Beta, T., Nam, S., Dexter, L.E., Sapiststein, H.D., 2005. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal. chem.* **82**, 390-393.

Boelen, C., Khellaf, M., 1979. Manuel de l'équipe de santé. *Ed. Saint Paul*. p.488.

Boizot, N., Charpentier, J.P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra*. pp:79-82.

Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., Delattre, J., 2003. Radicaux libres et anti-oxydants. In Borges, F., Fernandes, E., Roleira, F., 2002. Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. *Curr. Med. Chem.* **9**, 195-217.

Borris, R.P., Blasko, G., Cordell, G.A., 1988. Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the *Thymelaeaceae*. *Journal of Ethnopharmacology*. **24**, 41-91.

Boudjemaa, N., Ben Guegua, H., 2010. L'effet antibactérien de *Nigella Sativa*. Mémoire de fin d'études. Université de Ouargla. p. 2.

Bouzenoune, A., 2003. Etude portant projet de classement du site de Oglat Ed दौरa en aire protégée. Wilaya de Naama. Direction générale des forêts. p. 32.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss-Technol.* **28**, 25–30.

Bruneton, J., 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *Ed. Lavoisier*, Paris. pp: 278-279.

Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *Ed. Tec & Doc.*, Paris. pp: 309-353.

Causse, C., 2005. Les secrets de santé des antioxydants. *Ed. Alpen.* 70-75.

Charbonnel, B., Cariou, B., 1997. Diabète non insulino-dépendant: indications thérapeutiques. *Médecine thérapeutique.* **3**, 103-111.

Chebaibi, A., Rhazi Filali, F., Lahlou Amine, I., Chahlaoui, A., L’Kassmi, H., 2007. Etude de l’activité antimicrobienne des feuilles de l’olivier (*Olea europaea* L.). Journée scientifique: *Ressources naturelles et Antibiothérapie.* Kenitra.

Chicouri, M.J., 1983. Diabète. *Ed. M.A.* p. 53.

Chicouri, M.J., 1999. Diabètes. *Ed. Lavoisier.* pp: 1-4.

Cohen, M., 2002. Stress oxydant, glycation protéique, vieillissement et maladies liées à l’âge. *La phytothérapie Européenne.* **6**, 18-26.

Coleman, J.W., 2001. Nitric oxide in immunity and inflammation. *Int. Immunopharmacol.* **1**, 1397-1406.

Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O., 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta.* **80**, 1144-1152.

Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Van Beek, T.A., Linssen, P.H., 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J Sci. Food. Agr.* **77**, 140–146.

Darmadji, P., Izuminioto, M., Kataoka, K., 1994. Antibacterial effects of spices on fermented meat. *Food Sci.* **83**, 9-15.

Deiana, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L., Dessi, M.A., 2003. Chemical composition and antioxidant activity of extracts from *Daphne gnidium* L. *Journal of the American Oil Chemists' society.* **80**, 65-70.

Dey, M.D., Anoja, S., Attele, D.S., Chun-Su Yuan M.D., 2002. Alternative therapies for type 2 diabetes. *Alternative medicine Review.* **7**, 45-58.

Diogo, C.V., Félix, L., Vilela, S., Burgeiro, A., Barbosa, I., Carvalho, M., Oliveira, P., Peixoto, F., 2009. Mitochondrial toxicity of the phytochemicals daphnetoxin and daphnoretin, relevance for possible anti-cancer application. *Toxicology in vitro.* **23**, 772- 779.

Dirckx, JH., 1998. The Honeyed Siphon: Diabetes Mellitus Past, Present and Future. *Ed. Perspectives Fall.* pp: 35-41.

Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L.M., Badoc, A., Gmira, N., 2003. Screening phytochimique d'une endémie Ibéro-Marocaine, *Thymelaea Lythroides.* *Bull. Soc. Pharm.* **142**, 61-78.

Downer, R.GH., 1985. Lipid metabolism in comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. *Pergamen press.* **10**, 75-114.

Dramane, S., Witabouna, K.M., Kagoyire, K., 2010. Evaluation of antimicrobial and free radical Scavenging activities of some bioactive Taxons from Côte D'ivoire. *European Journal of Scientific Research.* **40 (2)**, 307-317.

El Amrani, F., Rhallab, A., Alaoui, T., El Badaoui, K., Chakir, S., 2009. Hypoglycaemic effect of *Thymelaea hirsuta* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants Research.* **3(9)**, 625-629.

Eshrat, H.M., 2002. Hypoglycaemic, hypolipidemic and antioxidant properties of combination of *curcumin* from *Curcuma longa* Linn. And partially purified product from *Abroma augusta* inn. in streptozotocin induced diabetes. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. **17(2)**, 33-43.

Fleurentin, J., Cabalion, P., Mazars, G., Dos Santos, J., Younos, C., 1991. Ethnopharmacologie: Sources, Méthodes et Objectifs. *Ed. ORSTOM*. p. 201.

Fournier, P., 1999a. Les plantes médicinales et vénéneuses de France, Tome II. *Ed. Connaissance et mémoires Européennes*. pp: 47-56.

Fournier, P., 1999b. Les plantes médicinales et vénéneuses de France, Tome III. *Ed. Connaissance et mémoires Européennes*. pp: 176-177.

Frankel E.N., Water house, A.L., Teissedre, P.L., 1995. *Agric. Food. Chem.* 43, 221-235.

Freeman, B.A., James, D., Crapo, M.D., 1982. *Biology of disease: Free radicals and tissue injury. Lab. invest.* p. 412.

Ganther, H.E., 1999. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis*. 20, 1657-1666.

Garait, B., 2006. Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin. Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier. p. 196.

Ghanem, C., Ghanem, C., 2005. Tabagisme et radicaux libres de l'Oxygène. Mémoire de fin d'études. Université Libanaise. p. 2.

Gin, H., Rigalleau, V., 1999. Diabétiques et diabète. *EMC- Endocrinology nutrition*. p. 6.

Gnanaprakash, K., Madhusudhana Chetty, C., Ramkanth, S., alagusundaram, M., Tiruvengadarajan, V.S., Angala Parameswari, S., Mohamed Saleem, T.S., 2010. Aqueous extract of *Flacourtia indica* prevents Carbon Tetrachloride induced hepatotoxicity in rat. *International Journal of Biological and Life Sciences*. 6 (1), 51-55.

GOEB, Ph., 1999. *Aromathérapie pratique et familiale*. Ed, MDB. p. 5.

Goudable, J., Favier, A., 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et Métabolisme*. 11, 115-120.

Graham, H.D., 1992. Modified Prussian blue assay for total polyphenols. *J. Agric. Food. Chem.* 40, 801-805.

Grimaldi, A., Hartemann-Heurtier, A., 2009. *Guide pratique du Diabète*. Ed. MASSON. pp: 69-70.

Guerci, B., Bohme, P., Kearney-Schwartz, A., Zannad, F., Drouin, P., 2001. Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 27, 436-447.

Gutteridge, J.M., 1993. Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radical Res. Commun.* 19, 141-158.

Gutteridge, J.M., Halliwell, B., 1992. Comments on review of Free Radicals in Biology and Medicine. *Free Radical Biol. Med.* 12, 93-95.

Hadi, M., 2004. *La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro- oxydant capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques*. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur. p. 155.

Hale, A.L., 2003. Screening potato genotype for antioxidant activity, identification of the responsible compounds, and differentiating russet norkotah strains using AFLP and microsatellite marker analysis. Thèse de doctorat. Université de Texas A&M. p. 260.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1989. *Free radical in biology and medicine*. Clarendon Press. Université d'Oxford.

- Harrison, R., 2002. Structure and function of xanthine oxidoreductase: Where are we now?. *Free. Radical. Biol. Med.* 33, 774-797.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F., 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie.* 1, 3-6.
- Hennebelle, T., 2006. Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbenacées). Thèse de doctorat. Université Lille- Lille 1. p. 304.
- Hennen, G., 1996. *Biochimie humaine: Introduction biochimique à la médecine interne.* Université de De Boeck. p. 360.
- Herbette, S., Roeckel-Drevet, P., Drevet, J.R., 2007. Seleno - independent glutathione peroxidases. More than simple antioxidant scavengers. *FEBS J.* 274, 2163-2180.
- Herman, M.P., 1998. Diabète de type 2 et adaptation thérapeutique. *Louvain Med.* 118, 2-8.
- Hill, K.E., White, J.G., Rao, G.H.R., 1989. Role of glutathione and glutathione peroxydase in human platelet arachidonic acid metabolism. *Prostaglandins.* 3, 21-32.
- Huang, D.J., Lin, C.D., Chen, H.J., Lin, Y.H., 2004. Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45, 179-186.
- Hurtel, J.M., 2003. Plantes médicinales et diabète. *Phytomania.* pp: 1-9.
- ILCA, 1980. Les fourrages ligneux en Afrique, Etat actuel des connaissances. Centre International pour l'Élevage en Afrique. Addis Abeba. p. 81.
- Iqbal, A., Farrukh, A., Mohammad, O., 2006. *Modern phytomedicine : Turning medicinal plants into drugs.* Ed. WILEY-VCH. p. 10.

Jaspreet, V., Sivakami, S., Shahani, S., Sulhar, A.C., Banavalikar, M., Biyani, M.K., 2003. Antihyperglycemic effect of three extracts from *Momordica charantia*. *J. of ethnopharmacology*. 88, 107-111.

Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P., Sakariah, K.K., 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis Vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food. Chem.* 73, 285–290.

Jayaprakasha, G.K., Patil, B.S., 2007. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food. Chem.* 101, 410–418.

Jones, W.P., Kingdon, D., 2006. Extraction of plant secondary metabolites in natural products isolation. Eds. Humana Press. Totowa. pp: 334-335.

Karou, D., Dicko, M.H., Simporé, J., Yameogo, S., Sanon, S., Traoré, A.S., 2005. Activités antioxydantes et antimicrobiennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. CRSBAN, Université Ouagadougou.

Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M., 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food. Chem.* 94, 550–557.

King, M.B., Bott, T.R., 1993. Extraction of natural products using near-critical solvents. Blackie Academic and professional. p. 141.

Khiatti, M., 1986. Le diabète chez l'enfant. Ed. GEDITB. p. 111.

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. p. 151.

Maisuthisakul, P., Pongsawatmanit, R., Gordon, M.H., 2007. Assessment of phenolic content and free-radical scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food. Chem.* 100, 1409–1418.

- McKelvey, T.G., Hollwarth, M.E., Granger, D.N., Engerson, T.D., Landler, U., Jones, H.P., 1988. Mechanisms of conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase in ischemic rat liver and kidney. *Am. J. Physiol.* 254, 753-760.
- Medjdoub, H., 2006. Etude phytochimique et activités biologiques de *Zygophyllum geslini* Coss. Mémoire de Magister. Université de Tlemcen.
- Middleton, E.J.R., Kandaswami, C., Theoharidesi, T.C., 2000. The Effects of plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease and Cancer. *Pharmacol. Rev.* 52, 673-751.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.A., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food. Chem.* 85, 231-237.
- Montoro, P., Braca, A., Pizza, C., De Tommasi, N., 2005. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food. Chem.* 92, 349-355.
- Marles, R.J., Farnsworth, N.R., 1994. Plants as sources of antidiabetic agents. *Econ. Med. Plant Res.* 6, 149.
- Niviere, V., Fontecave, M., 1994. Biological sources of reduced oxygen species in Training in Free radical methodologies: production, damage, repair. Université de Grenoble. pp: 1-16.
- OMS, 2002. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005.
- Parks, D.A., Williams, T.K., Beckman, J.S., 1988. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in rat intestine: a reevaluation. *Am. J. Physiol.* 254, 768-774.
- Patlak, M., 2002. New weapons to combat an ancient disease : Treating Diabetes. *The FASEB Journal.* 16, 1853E-1853e.
- Pelli, K., Lyly, M., 2003. Les antioxydants dans l'alimentation. INRA. France. pp: 4-17.

Perry, R.A., Goodall, D.W., 1979. Arid land ecosystems : Structure, functioning and Management. p. 878.

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., Defraigne, J.O., 1999. L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* 4(5).

Piotrowski, W.J. Marczak, J. 2000. Cellular sources of oxidants in the lung. *Int.J.Occup. Med. Environ. Health.*13, 369-385.

Price, M.P., Bulter, L.G., 1977. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *J. Agr. Food. Chem.* 25, 126-1273.

Punitha, I.S.R., Rajendran, K., Shirwaikar, A., Shirwaikar, A., 2005. Alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* regulates carbohydrate metabolism and improves antioxidant status in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *eCAM.* 2 (3), 375-381.

Quezel, P., Santa, S., 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I. Ed. Centre national de la recherche scientifique. pp: 244-245.

Quezel, P., Santa, S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed. Centre national de la recherche scientifique. pp: 631-633.

Rabe, T., Van Staden, J., 1997. Antibacterial activity of south African plants used for medicinal purposes. *Journal of Ethnopharmacology.* 56(1), 81-87.

Racah, D., 2004. Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie.* 1(1), 29-42.

Rampal, P., Beaugerie, L., Marteau, P., Corthier, G., 2000. Colites infectieuses de l'adulte. *J.L. EUROTEXT.* p. 151.

Ribereau, G.P., 1964. Les composés phénoliques du raisin et du vin. *Ann. Physiol. Veg. I.N.R.A.*

Roberfroid, M., 2002. Aliments fonctionnels. Eds. TEC and DOC. Paris. pp: 282-310.

Sarikurkcü, C., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Harmandar, M., 2008. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. *Globosum* (Lamiaceae) by three different chemical assays. *Bioresour. Technol.* 99, 4239–4246.

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

Scalbert, A., Johnson, I.T., Saltmarch, M., 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 81, 215-217.

Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z., Ercisli, S., 2009. Total phenolic content, Antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pac. J. Pharm. Sci.* 22 (1), 102-106.

Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M., Khoshnoodi, M., 2007. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control.* 18, 800-805.

Shelef, L.A., 1983. Antimicrobial effects of spices. *J. Food Safety.* 6, 29-44.

Silva, M., Simas, S., Batista, T., Cardarelli, P., Tomassini, T., 2005. Studies on antimicrobial activity, in vitro, of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) fraction and physalin B bringing out the importance of assay determination. *Mem. Inst. Oswald Cruz. Rio de Janeiro.* 100 (7), 779-782.

Spagna, G., Pifferi, P.G., Rangoni, C., Mattivi, F., Nicolini, G., Palmonari, R., 1996. The stabilization of white wines by adsorption of phenolic compounds on chitin and chitosan. *Food Res. Int.* 29, 241-248.

Stéphane, S., 2004. Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone: effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3. Thèse de doctorat. Université de Claude Bernard-Lyon 1. p. 163.

Stoilova, I., Gargova, S., Stoyanova, A., Ho, L., 2005. Antimicrobial and antioxidant activity of the polyphenol mangiferin. *Herba Polonica.* 51, 38-44.

Su, X., Duan, J., Jian, Y., Shi, J., Kakuda, Y., 2006. Effect of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. *Journal of Food Composition Anal.* 19, 348-353.

Szabo, C., 2003. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicol. Lett.* 141, 105-112.

Thanabhorn, S., Jaijoy, K., Thamaree, S., Ingkaninan, K., Panthong, A., 2006. Acute and subacute toxicity study of the ethanol extract from *Lonicera japonica* Thunb. *Journal of Ethnopharmacology.* 107, 370-373.

Thannickal, V.J., Fanburg, B.L., 2000. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 279, 1005-1028.

Thérond, P., Denis, B., 2005. Cibles lipidiques des radicaux libres dérivés de l'oxygène et de l'azote : effets biologiques des produits d'oxydation du cholestérol et des phospholipides. Lavoisier Ed. TEC & DOC. Paris. pp: 114-167.

Tsimogiannis, D.I., Oreopoulou, V., 2004. Free-radical scavenging and antioxidant activity of 5,7,3',4'-hydroxy-substituted flavonoids. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* 5, 523-528.

Turkoglu, A., Kivrak, I., Mercan, N., Duru, M.E., Gezer, K., Tutkoglu, H., 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of *Morchella conica* Pers. *African Journal of Biotechnology.* 5(11), 1146-1150.

Wang, J., Mazza, G., 2002. Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor α in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4183-4189.

Watson, L., Dallwitz, M.J., 1992. *Grass Genera of the World: Descriptions, Illustrations, Identification and Information Retrieval; including Synonyms, Morphology, Anatomy, Physiology, Cytology, Classification, Pathogens. Biocollections.*

Weaber, G., 2000. Diabétologie expérimentale. *Revue médicale de la Suisse.* pp: 120, 907.

Younes, M., 1999. Free Radicals and Reactive Oxygen Species. Academic Press.
pp: 111-125.