

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU



FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE

En vue de l'obtention du Diplôme Master Académique en
Biologie

Option: Microbiologie Appliquée

THEME

**Etude de Certaines Propriétés Biologiques et Pharmacologiques
d'une Plante Médicinale locale *Anacyclus clavatus* : Etude in vivo**

Présenté par :

M^{elle} AHMED SAID Amel et M^{elle} MEDJBER Lynda

Encadré par : M^{elle} BENAHMED DJILALI Adiba Maître de Conférences (A) (UMMTO)

Devant le jury:

M^{me} ZEROUKI Nacira **Présidente** Professeur à l'UMMTO

M^r AMROUCH Taher **Examineur** Maître de Conférences (A) (UMMTO)

M^{me} HELLAL Zohra **Examinatrice** Maitre assistante à l'UMMTO

M^{me} BENALI Yasmina **Co-promotrice** Docteur à l'Institut Pasteur Alger

Soutenu le 03/07/2016

..Remerciements

- Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant, Le miséricordieux, pour nous avoir donnée la force, la patience et le pouvoir de raisonner.
- Nos profonds remerciements s'adressent en premier lieu à notre promotrice Melle Ben ahmed djillali Adiba, maître de conférence A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Tizi-Ouzou Mouloud Mammeri, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire. Pour tout cela, nous tenons à vous exprimer toute notre gratitude.
- Avec tout nos respects nous tenons à remercier Mme Zerouki N, Professeur au département de Biologie, Université Mouloud Mammeri- Tizi-Ouzou-, d'avoir accepté de présider le jury.
- Nos sincères remerciements vont à Mme Hellal Z, maître assistante A au département de biologie, Université Mouloud Mammeri-Tizi-Ouzou-, d'avoir accepté d'examiner ce travail.
- Nos profonds remerciements s'adressent également à Mr Amrouche T , Maitre de conférence A au département d'agronomie Université Mouloud Mammeri-Tizi-Ouzou-, d'avoir accepté d'examiner ce travail.
- Avec tout nos respect nous tenons à remercier Dr Ben ali Y, Médecin vétérinaire au niveau de l'institut Pasteur d'Alger au laboratoire d'Anatomie et de cytologie pathologiques vétérinaires.
- Nos sincères remerciements vont à Dr Aboune , responsable du laboratoire de Microbiologie vétérinaire à l'institut Pasteur d'Alger (RUISSEAU).
- Docteur Issaad chef de service à l'institut Pasteur d'Alger, nous tenons à vous remercier chaleureusement, nous vous exprimons notre sincère reconnaissance pour avoir accepté de réaliser notre stage au sein de votre établissement.
- Nos profonds remerciements s'adressent également à tout le personnel de l'institut Pasteur d'Alger (KOUBA) pour leurs aides et gentillesse.
- Nous tenons à remercier également tous qui ont participé à la réalisation de ce modeste travail de près ou de loin et surtout aux membres du laboratoire physico-chimie et microbiologie de l'université Mouloud Mammeri.

Je dédie ce travail à :

Celle qui ne pense qu' à moi : ma très chère mère ;

Celui qui n'a jamais cessé de m'aider avec son indéfectible soutien ;

mon cher père

Tous mes amis ;sans exception ;

A toute ma famille, proche ou éloignée ;

A tous ceux qui me sont chère et que je n'ai pas pu citer ;

A l'ensemble de tous les étudiants et étudiantes de ma promotion.

Amel

Dédicace

Je dédie ce travail à:

- ❖ **Mes très chers parents, sans votre affection, vos conseils, vos sacrifices, vos encouragements, vos prières et vos efforts, que vous avez déployés durant toute ma vie, ce travail n'aurait jamais pu être réalisé. Je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, je vous aime énormément.**
- ❖ **Mon grand frère Sofiane qui m'a toujours soutenue et encouragé, ainsi que ma sœur Lamia, j'espère que dieu vous garde et vous protège et nous laisse toujours unis.**
- ❖ **Mon fiançait Hiche m, celui qui illumine ma vie et a qui je dois mon immense bonheur, merci de faire partie de ma vie, je t'aime.**
- ❖ **Mon oncle (Baba Hamid) et sa très chère femme (Mouni) que je remercie énormément et à qui je souhaite une longue vie pleine de bonheur et de prospérité**
- ❖ **Mes tantes que j'adore énormément (Lila, Badra, Soraya et Ourida).**
- ❖ **Toute la famille Medjber et Nekachtali.**
- ❖ **Mes amies : Mélissa, Amira, Cylia et Imene .**
- ❖ **Une pensée à Tonton Laaziz, Tonton Hamid , Tata Zohra , Tata Nadia, Tata Fazia , et Tata Malika qui sont plus la mais qui sont toujours présents dans nos cœur .**

Lynda

Liste des tableaux

Tableau I :Les souches utilisées dans notre étude microbiologique.....	17
Tableau II : Répartition des lots des rats testés et leurs quantités administrés.....	31
Tableau III : Composition des formulations de sirops élaborés.....	36
Tableau IV : Résultats des tests phytochimiques effectués sur la poudre <i>d'Anacyclus clavatus</i>	43
Tableau V :Composition minérale de la poudre d' <i>Anacyclus clavatus</i>	44
Tableau VI : Résultat du dosage des polyphénols d'extraits des feuilles, tiges <i>d'Anacyclus clavatus</i>	46
Tableau VII : Résultats des paramètres physico-chimiques de la plante étudiée.....	47
Tableau VIII : valeurs des volumes moyens d'eau et d'extrait de la plante épuisés par les 3 lots de rats (n=6).....	48
Tableau IX : Résultat de la consommation de l'aliment par les trois lots durant 1 mois.....	49
Tableau X :Variations des poids corporels moyens (g) des trois lots durant 1 mois.....	50
Tableau XI :Variation de la glycémie des lots des rats étudiés durant un mois.....	51
Tableau XII : résultats des coupes histologiques des organes analysés.....	54
Tableau XIII : Résultats physico-chimiques du sirop de la meilleure formulation.....	59

Listes des figures

Figure 01 : Photographie montrant l'aspect morphologie de la plante <i>Anacyclus clavatus</i>	11
Figure 02 : Plantule d' <i>Anacyclus clavatus</i>	12
Figure 03 : Plante(s) adulte(s)d' <i>Anacyclus clavatus</i>	12
Figure04 : Aspect des feuilles d' <i>A. clavatus</i> lors de l'opération de séchage a l'air libre.....	19
Figure 05 :Poudre d' <i>Anacyclus clavatus</i> conditionnée	19
Figure06 : Protocole d'extraction des polyphénols totaux.....	24
Figure 07 :Etapas de dosage des polyphénols.....	25
Figure 08 : Photo d'un rat de type <i>Rattus norvegicus</i>	29
Figure09 : Répartition de rats selon les lots.....	30
Figure10 :La prise de poids des rats.....	32
Figure11 : Prélèvement du sang au niveau du sinus rétro-orbital de l'œil.....	32
Figure12 :les différentes étapes de la dessiccation.....	33
Figure13 :Utilisations d' <i>Anacyclus clavatus</i> selon l'âge de la population enquêtée.....	38
Figure 14 :Utilisations de la plante selon le sexe.....	39
Figure15 :Pourcentages d'utilisations de différentes parties d' <i>Anacyclus clavatus</i>	40
Figure16 :Modes de préparations d' <i>Anacyclus clavatus</i>	40
Figure 17 : Maladies traitées par <i>Anacyclus clavatus</i>	41
Figure 18 :Evaluation des volumes moyens d'eau et l'extrait de la plante épuisés par les trois lots étudiés.....	48
Figure 19 :Evaluation de la consommation de l'aliment par les trois lots de rats.....	49
Figure 20 :Évolution des poids corporels moyens (g) chez les rats durant un mois d'expérimentation.....	50

Figure 21 :Variation de Triglycérides des rats en fonction du temps.....	51
Figure 22 :Variation de Triglycérides des rats en fonction du temps.....	52
Figure 23 : Variation de l' Hdl des rats en fonction du temps.....	53
Figure 24 : Variation de cholestérol des rats en fonction du temps.....	53
Figure 25 : Classement des formulations des sirops selon le gout.....	57
Figure 26 : Classement des formulations de sirops selon la couleur.....	57
Figure 27 : Classement des formulations des sirops selon l'odeur.....	58
Figure 28 : Sirop anti-inflammatoire à base de la plante <i>Anacyclus clavatus</i>	58

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR : Association Française de Normalisation

BHIB: Brain Heart Infusion Broth

DO : Densité optique

HCl : Chlorure d'hydrogène

HDL: High density lipoprotein

HE: Huile essentielle

K Da : Kilo dalton

MH: Muller Hintone.

N: 1 Normal

NaOH : La soude (hydroxyde de sodium)

nm : Nanomètre

PPT : Polyphénols Totaux

S : Solution

V/V : Volume a volume

μ : Micromètre

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales

Introduction3

1.1. Généralités sur les substances actives4

1.2. Préparations et modes d'utilisation des plantes médicinales7

Chapitre II: Généralités sur *Anacyclus Clavatus*

2.1 Présentation des astéracées (composées).....9

2. 2Présentation du genre *Anacyclus*9

2.3. Caractérisation et présentation d'*Anacyclus clavatus*.....9

2.4. Caractéristiques10

2.5. Habitat et répartition10

2.6. Systématique et nomenclature de la plante *Anacyclus clavatus*11

2.7. Description botanique11

2.8. Caractères écologiques13

2.9. Usage traditionnel.....14

2.10. Propriétés biologiques14

2.11. Travaux scientifiques réalisés sur *Anacyclus clavatus*15

Chapitre III: Matériels et Méthodes

3.1 Cadre de l'étude	16
3.2. Matériels	16
3. 3 Matériel végétal	18
3.4 Méthodes	20
3.4.1 .Etude ethnobotanique	20
3.5 Analyse phytochimique	21
3.6 Détermination de la teneur en polyphénols totaux	23
3.6.1 Extraction de polyphénols	23
3.6.2 Dosage des polyphénols totaux	24
3.6.3 Préparation de la droite d'étalonnage	25
3.7 Caractérisation physico-chimique de la poudre de la plante	26
3.7.1 Le pH	26
3.7.2 Détermination de l'acidité titrable	26
3.7.3 Teneur en cendres	26
3.7.4 Humidité	27
3.8 Activité antimicrobienne	28
3.9. Etude de l'activité anti-inflammatoire (test in vivo)	29
3.9.1 Les animaux testés	29
3.9.2 Répartition des rats	30
3.9.3 Protocole expérimental	31
3.10. Essai d'élaboration d'un sirop anti-inflammatoire	36
3.10.1. Analyse sensorielle des sirops	37
3.10.2. Analyses portant sur la meilleure formulation	37

Chapitre IV : résultats et discussion

4.1 Résultats d'étude ethnobotanique	38
4.1.1 Utilisation de la plante selon l'âge	38
4.1.2. Utilisations de la plante selon le sexe	38
4.1.3. Utilisations thérapeutiques	39
4.2. Résultats d'analyses phytochimiques	42
4.2.1. Composition en minéraux de la poudre d'<i>Anacyclus clavatus</i>	44
4.3 Extraction et dosage des polyphénols	44
4.4. Résultats des paramètres physico-chimiques des matières premières	46
4.5. Résultats de l'activité antimicrobienne	46
4.6. Résultats de l'étude in vivo	46
4.6.1. Résultat de suivi de la consommation de l'extrait de la plante et l'eau	47
4.6.2. Résultat de suivi de la consommation de l'aliment.....	48
4.6.3. Résultat de suivi du poids corporel	49
4.6.4. Résultat de suivi de la glycémie	50
4.6.5. Les résultats du suivi du profil lipidique	51
4.7. Résultats des coupes histologiques	53
4.7.1. Interprétation des résultats des coupes histologiques	55
4.8. Résultats de l'analyse sensorielle des sirops.....	56
4.9. Analyses portant sur la meilleure formulation	57
4.9.1Caractérisation physico-chimique	57
4.10. Résultats du test de stabilité	58

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires.

Ces derniers présentent une grande diversité de structures chimiques possédantes un très large éventail d'activités biologiques. Ainsi, l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études.

En effet, le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plus riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles sont utilisées dans la médecine traditionnelle.

Malgré la nature hétérogène de cette biodiversité, il y a peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques à base de ces plantes en particulier dans notre pays l'Algérie. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier une plante endémique qui est méconnue mais a fait l'objet de timides études scientifiques.

Il s'agit d'*Anacyclus clavatus* très fréquemment employée dans le pourtour méditerranéen pour ses effets anti-inflammatoires, antibactériens et antifongiques. Cependant, selon notre recherche bibliographique, peu de travaux scientifiques sont effectués sur ladite espèce.

A cet effet, cela nous a incité à réaliser cette étude en vue d'une meilleure valorisation de cette plante médicinale utilisée dans certaines contrées d'Algérie dans le traitement des troubles gastriques.

Cependant, l'objectif essentiel de ce travail demeure l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des parties aériennes (feuilles et tiges) d'*Anacyclus clavatus*.

Par conséquent, nous avons suivi le plan suivant :

- Chapitre I : Il est consacré à l'étude bibliographique dans laquelle nous présentons un aperçu général sur les plantes médicinales, leurs principes actifs ainsi que leurs méthodes d'utilisation et de préparations.
- Chapitre II : nous présentons l'aspect botanique et les utilisations thérapeutiques de notre plante ainsi que les travaux antérieurs réalisés sur l'espèce en question.
- Chapitre III : présente partie matériels et les méthodes utilisées dans cette étude :

Pour cette partie nous nous sommes axés sur les points suivants :

- L'enquête ethnobotanique sur la plante ;

- Le screening phytochimique de la plante étudiée;
 - Caractérisation physico-chimique de la plante ;
 - Extraction et évaluation de la teneur en polyphénols des extraits de la plante étudiée ;
 - Etude de l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques élaborés ;
 - Elaboration d'un sirop de propriété anti-inflammatoire à base de la plante étudiée ;
 - Etude in-vivo sur les rats (mise en évidence de l'activité antiinflammatoire de l'extrait aqueux de cette plante).
- Chapitre IV : est consacré aux résultats et discussion concernant les analyses effectuées au cours de notre étude.
- Chapitre V : présente la conclusion du travail réalisé avec des perspectives.

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales représentent une source de revenu non négligeable pour de nombreuses populations. Ces plantes sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies (Schauenberg et Paris, 2005).

Elles sont à la fois comme un produit fini destiné à la consommation et notamment une matière première pour l'obtention de substances actives. Ces dernières possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques et biologiques.

La branche de médecine qui utilise les plantes médicinales est appelée phytothérapie. Ladite discipline a pour objectif de prévenir et de traiter certains troubles fonctionnels et /ou certains états pathologiques au moyen de préparations à base de plantes ou de leurs parties (fleurs, feuilles, racines et tiges) (Wichtl et Anton, 2003).

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

Ces dernières années, les traitements à base de ces plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et les résistent de plus en plus.

Toutefois, la phytothérapie s'appuie à la fois sur cette sagesse traditionnelle et sur les découvertes de la médecine moderne. La rencontre relativement récente des deux mondes et la carence en normes qui régissent ce domaine fait en sorte que la pratique et la formation sont encore très disparates.

Pour contrer ce problème, plusieurs méthodes d'investigations scientifiques ont été encouragées afin d'isoler et d'identifier ces principes actifs ambitionnant la classification de diverses propriétés des plantes à effets similaires et aussi de choisir les plus efficaces.

D'autres, se base davantage sur les connaissances biochimiques et se préoccupent plutôt des symptômes des maladies et de l'action des principes actifs des plantes (Wichtl et Anton, 2003). A titre d'exemple, la recherche pharmaceutique a décrypté la composition chimique de nombreuses plantes médicinales.

De plus, a réussi de reproduire chimiquement un grand nombre de ces substances actives, ainsi que le développement de nouvelles combinaisons (Kunkele et Lobmeyer, 2007).

Dans le présent chapitre, on avancera un aperçu général sur les différentes substances phytochimiques issues des plantes médicinales, leurs intérêts en phytothérapie et leurs différentes utilisations.

1.1. Généralités sur les substances actives

Une plante médicinale, toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines de ces plantes contenant toute une gamme de matières efficaces peuvent avoir des actions très différentes suivant leurs préparations (Schauenberg et Paris, 2005).

Toutefois, la notion de drogue se limite à toute substance d'origine végétale, animale ou chimique vendue à l'état naturel. Elle est utilisée comme matière première et servant à réaliser des médicaments.

Parmi les principaux principes actifs les plus courants des plantes médicinales, on peut nommer les flavonoïdes, les terpènes, les stéroïdes et les alcaloïdes.....etc.

1.1.1. Les flavonoïdes

Présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques, qui contribuent entre autres à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ces composés ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Leurs principales fonctions se limitent dans le maintien de la circulation sanguine et le renforcement du système immunitaire (Chevalier, 2014).

Les flavonoïdes constituent un groupe de substances très importantes qui présentent un grand intérêt dans beaucoup de domaines. Leurs propriétés anti-oxydante, inhibitrice, antivirale, antibactérienne,... les prédestinent à des utilisations dans les industries pharmaceutiques, agroalimentaires, cosmétiques, etc. (Harborne *et al.*, 2000).

Les flavonoïdes sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse ; leurs actions se situent au niveau des petites veines ou des capillaires provoquant une diminution de la perméabilité et augmentation de la résistance des capillaires. Ce sont des toniques veineux et des protecteurs capillaires (Diallo, 2003).

1.1.2 Les tanins

Le terme tanin vient de mot tannage des peaux d'animaux en cuir. Le poids moléculaire des tanins varie entre 500 et 2000 K Da. Ce sont des polymères phénoliques, hydrosolubles et aromatiques qui ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités (Hagerman et Butler, 1981).

Leurs intérêts médicinales résident essentiellement dans leurs caractères astringent, leurs propriétés de coaguler les albumines des muqueuses et des tissus, en créant ainsi une couche de coagulation isolante et protectrice, ayant pour effet de réduire l'irritabilité et la douleur, et d'arrêter les petits saignements.

Généralement, sont employées le plus souvent contre les inflammations de la cavité buccale, la bronchite, les hémorragies locales, sur les brûlures et les plaies et les inflammations dermiques (Peekinget *al.*, 1987).

1.1.3 Les anthocyanes

Les anthocyanes sont issus de l'hydrolyse des anthocyanidines (flavonoïdes proches des flavones), qui donnent aux fleurs et aux fruits différentes couleurs bleue, rouge ou pourpre. Ce sont de puissants antioxydants, nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux (Chevalier, 2014).

Les anthocyanes sont également utilisés dans les troubles de la fragilité capillaire, mais aussi comme diurétiques, voire même antiseptiques urinaires. Leur plus grande spécificité reste cependant leurs propriétés d'améliorer la vision nocturne en facilitant la régénération du pourpre rétinien (Hennebelle et *al.*, 2004).

1.1.4 Les coumarines

Les coumarines ont été isolées pour la première fois en 1820 (Bruneton, 1999), elles sont présentes en quantités plus faibles dans plusieurs plantes comme le mélilot, la sauge et la lavande. Ce sont des composés phénoliques des végétaux, portant un noyau benzopyrone dans leurs structures (Alignan, 2006).

Les coumarines simples contribuent généralement à fluidifier le sang par leur activités veinotonique et vasculoprotecteur, pour le traitement des spasmes néphrétiques, et les affections dermatologiques (Barnard et *al.*, 2002).

1.1.5 Les saponines

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycolyses comme ils peuvent aussi se trouver sous forme aglycones, ils ont un goût amer.

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales. Ces substances sont responsables de la production de la mousse une fois mélangées avec de l'eau.

Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoides. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (œstrogène, cortisone). De nombreuses plantes qu'en contiennent ont un effet sur l'activité hormonale (Hopkins, 2003).

Il semble que les saponosides jouent un rôle dans le système de défense du végétal contre les pathogènes microbiens. Les interactions mises en jeu avec les stérols de la membrane ont pour conséquence des propriétés hémolytiques et une activité spermicide de certaines molécules.

Généralement, se sont toxiques pour les animaux à sang froid et en particulier pour les poissons et les mollusques.

Certaines drogues à saponosides sont utilisées pour leurs propriétés antitussives (rhizome de la réglisse), mais aussi anti-œdémateuses (cotylédons de la graine de Marronnier d'Inde) ou encore analgésiques (Sophie et Eherhart, 2003).

1.1.6 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes forment un groupe diversifié de substances organiques azotées d'origine végétale (Jorcin, 2007), à caractère alcalin, de faibles poids moléculaires et présentant des structures complexes.

Comme métabolites secondaires, les alcaloïdes sont supposés jouer un rôle défensif dans la plante contre les prédateurs (herbivores et carnivores) et a un degré moindre contre les bactéries, les champignons et les virus, aussi employés pour traiter certains types de cancer.

En raison de leurs activités physiologiques et pharmacologiques remarquables, bon nombre des quelques 12000 alcaloïdes connus, ont été exploités en tant que produits pharmaceutiques, stimulants, narcotiques et comme poisons (Bazzi et al.2002).

1.1.7 Les glucosides

Les glucosides sont constitués de glucose et d'une substance non sucrée appelée génine qui peut être un acide, un alcool, ou un autre composé organique.

Les glucosides se répartissent en plusieurs catégories, et certains plus dangereux que d'autres, ne doivent pas être utilisés qu'en usage externe uniquement (Ali-Delille, 2010).

1.2. Préparations et modes d'utilisation des plantes médicinales

Il existe deux modes d'utilisation des plantes médicinales (fraîches et sèches). Le premier regroupe les méthodes de préparations suivantes : infusion, décoction, macération, élaboration des teintures et des sirops; et le deuxième est axé sur les formulations de compresses et de pommades.

Une meilleure libération des principes actifs est souvent liée à l'utilisation des plantes fraîches par infusion ou sous forme d'un jus. Néanmoins, les effets thérapeutiques s'exercent aussi bien sous forme de sirops, de teintures, de produits pour le bain, de cataplasmes ou par inhalation (Kunkele et Lobmeyer, 2007).

Les méthodes de préparation changent, citant ainsi quelques modes de préparations :

1.2.1. L'infusion

L'infusion est la forme la plus simple ; on l'applique généralement aux organes délicats de la plante : fleurs, feuilles aromatiques, sommités. Cette forme permet d'assurer une diffusion optimale des substances volatiles : essences, résines, huiles... (Baba,1999).

L'infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes, il s'agit d'un procédé semblable à la préparation d'un thé commun dans une théière. On emploie, en général, comme pour la décoction, un produit végétal pour dix parts d'eau (So fowora., 2010).

1.2.2 Les tisanes

Ce sont des préparations aqueuses de plantes médicinales, entières, fragmentées, ou en sachets-doses obtenues par infusion, décoction, macération ou digestion, dans des récipients ouverts. La préparation doit être réalisée au moment de l'emploi. Une meilleure extraction est obtenue en utilisant une plante fragmentée (Botineau, 2011).

1.2.3. La décoction

Cette préparation s'opère en faisant bouillir les plantes, le plus souvent dans de l'eau, parfois dans du vin (alcool). Elle convient surtout aux différentes parties de la plante (écorces, racines, tiges et fruits) (Djabou, 2006). Le processus d'extraction par décoction consiste à faire bouillir, une partie ou la totalité de la plante, pendant un temps déterminé (10 à 30 mn), de la laisser ensuite macérer pendant un autre laps de temps et procéder enfin la clarification à l'aide d'un papier spécial ou d'une toile à trame fine (Chiej, 1982).

On prend, généralement, 10g d'eau pour un gramme de produit végétal (Volak , 1983)

1.2.4. La macération

Cette méthode de préparation généralement concerne les plantes ayant des substances actives thermosensibles par ébullition. Elle est définie comme étant infusion froide de longue durée (de plusieurs jours) (Baba, 1999).

Cette préparation s'obtient en mettant les plantes, en contact avec un liquide quelconque (vin, alcool, eau ou huile) à froid à raison d'une part de plante pour vingt parts de liquide (Sopfi et Eherhart, 2003).

Le temps de contact est parfois très long, pour les plantes aromatiques ou amères devront macérer entre deux et douze heures.

Il est connu que la macération des plantes dans l'eau est plus rarement employée car elle cause des fermentations sous l'effet la longue durée de trempage. De toute manière, il ne faut pas excéder une dizaine d'heures.

1.2.5. Préparation de sirops

Globalement, les sirops sont préparés à base d'un extrait des plantes et un sirop de sucre refroidi de concentration de 15 à 20% MS (Kunkele et Lobmeyer, 2007).

Dans la présente étude nous nous sommes intéressés à ce dernier mode de préparation en vue de mettre sur le marché un sirop anti-inflammatoire à base de notre espèce.

Dans ce chapitre on présentera une plante médicinale locale, appartenant à la famille des astéracées (composées) en l'occurrence l'*Anacyclus clavatus*. Ladite espèce est une plante vivace commune utilisée en médecine traditionnelle par la population locale pour traiter diverses pathologies.

2.1 Présentation des astéracées (composées)

Le nom Astéracée a été donné par Martinov en 1820 et composite par Giseke en 1792.

La famille des astéracées regroupe des plantes vivaces et des herbacés. Il s'agit de la plus vaste famille de phanérogames, avec 1530 genres et plus de 23 000 espèces. C'est aussi l'une des plus perfectionnées. Ses espèces sont particulièrement diversifiées dans les régions sèches, comme le Bassin méditerranéen, l'Afrique australe, le Mexique et le sud – ouest des états –unis (Botineau, 2010).

2.2 Présentation du genre *Anacyclus*

Le genre *Anacyclus* regroupe des espèces à capitules composés en principe de fleurs extérieures ligulées et de fleurs intérieures tubulées (Lloyd, *et al.* 1911). La principale particularité du genre est la présence d'ailes aplaties entourant les fruits et faisant penser à des paires d'oreilles, Ce sont des plantes annuelles, à feuilles alternes embarrassantes, profondément divisées.

La tige portant le capitule s'épaissit en dessous de celui-ci. L'involucre est formé de bractées inégales, se recouvrant en partie, ne portant pas d'appendice terminal.

Le taxon *Anacyclus*, tel que défini à l'origine par Linné (voir classification), En Algérie le genre *Anacyclus* est représenté par deux espèces, à savoir *Anacyclus pyrethrum* (L.) Link et *Anacyclus clavatus* (Pers) (Julien, 1894).

Le genre *Anacyclus* a fait l'objet de quelques investigations chimiques, signalant la présence de nombreux types de métabolites secondaires, incluant des triterpènes, des stéroïdes, des coumarines, des lignanes, des polyacétylènes (alkamides) et des flavonoïdes.

2.3. Caractérisation et présentation d'*Anacyclus clavatus*

Le nom *Anacyclus* vient du grec ana et kyklos qui signifient sans et cercle : les ligules (pétales en forme de langue) normalement disposées en cercle périphérique sont absentes chez certaines espèces.

Cette espèce méditerranéenne est très commune dans toute l'Algérie. Elle est utilisée dans la médecine traditionnelle contre les douleurs d'estomac. Certains la confondent avec la camomille et l'utilisent, à tort, à sa place.

L'inflorescence ressemble à celle d'une camomille : des fleurs périphériques blanches par le long pédoncule qui porte les fleurs de langue entourant des fleurs fertiles jaunes en forme de tube. Les feuilles sont découpées plus largement que celles de la camomille.

Cette espèce se distingue par le long pédoncule qui porte les fleurs (Guide illustré de la flore Algérienne, 2012).

2.4. Caractéristiques (Julve, 2015)

2.4.1 Organes reproducteurs

- Type d'inflorescence : capitule simple.
- Répartition des sexes : hermaphrodite.
- Type de pollinisation : entomogame.
- Période de floraison : de juin à juillet.
- Couleur de la fleur : blanc, jaune.

2.4.2. La graine

- Type de fruit : akène.
- Mode de dissémination : anémochore.

2.5 Habitat et répartition

Elle pousse au bord des routes, des terres enlevées, les prairies sèches nitrophiles, jusqu'à 1.600 mètres au-dessus la mer.

Elle est abondante dans toute la Méditerranée, presque dans tout le territoire.

2.6. Systématique et nomenclature de la plante *Anacyclus clavatus*

L'espèce *Anacyclus clavatus* (Figure 1) est classée selon Cronquist (1981) comme suit :

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Anacyclus*

Nom binominal : *Anacyclus clavatus* (Desf.) Pers., 1807.

Nom commun : Anacycle en massue / Anacycle tomenteux

Nom scientifique : *Anacyclus clavatus*

Nom vernaculaire : Bechibchou, Reliana.



Figure 1 : Photographie montrant l'aspect morphologique d'*Anacyclus clavatus*.

2.7. Description botanique

2.7.1. La plantule

Les cotylédons sont petits, 5-7 x 3-5 mm, ovales, arrondis à base large, sessiles et glabres. Les deux premières feuilles vraies sont dressées, courtes et divisées en un lobe terminal et 3 à 5 lobes latéraux étroits, opposés ou non. Les feuilles ultérieures, toutes pétiolées, sont irrégulièrement divisées 2-3 fois en segments étroits et mucronés.

L'axe hypocotylé est court, 5 à 10 mm, et souvent violacé. La plantule, disposée en rosette lâche, est vert foncé et velue (Caremeet *al.*, 1990).



Figure 2 : la plantule d'*Anacyclus clavatus*.

2.7.2. La plante au stade adulte

Au stade adulte (Figure 3) la plante a 20 à 60 cm de longueur, à tiges dressées ou ascendantes, ramifiées, plus ou moins velues. Ses feuilles sont bipennatiséquées à segments linéaires. De capitules terminaux de 25 à 30 mm, à fleurs en tube de couleur jaune, et à fleurs ligulées blanches ou parfois sans ligule.

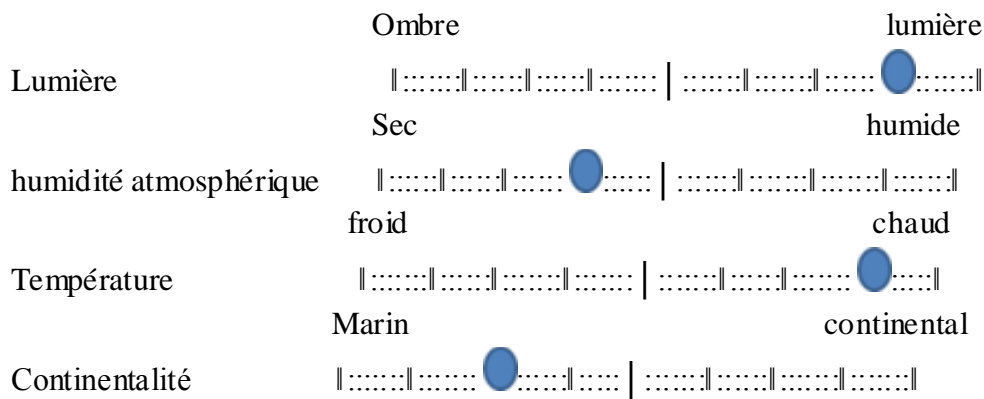
Ses pédoncules sont élargis avec de paillettes après la floraison. En ce qui concerne, les akènes externes sont petits, aplatis, entourés d'une aile fibreuse blanchâtre à sommet arrondi, ceux du centre non ailés. Floraison: mars-juin (Caremeetal.,1990).



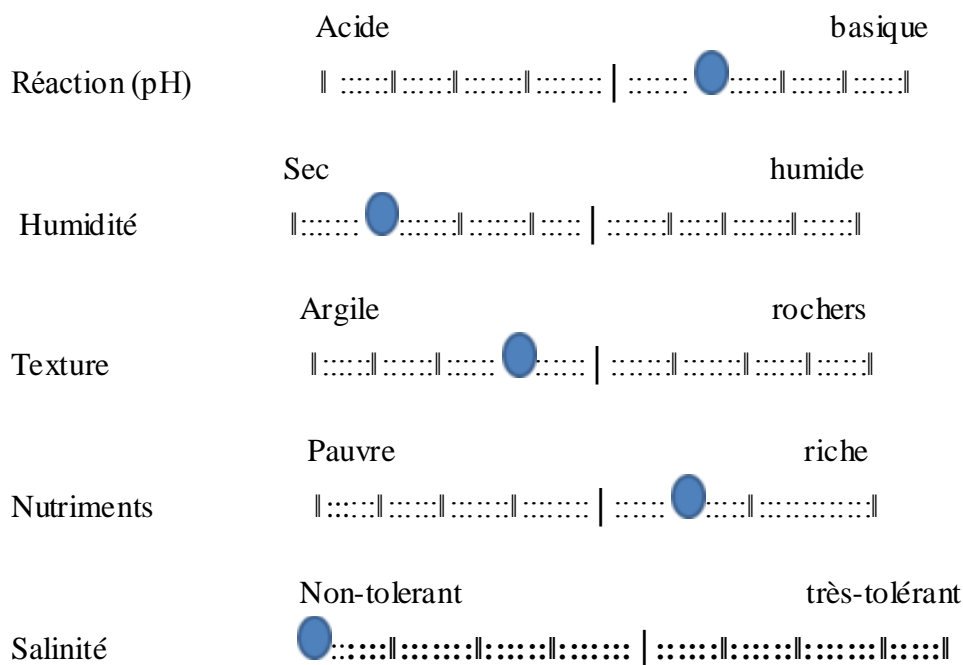
Figure 3 : Aspect de la plante au stade adulte.

2.8. Caractères écologiques (Julve, 2015)

2.8.1 Caractéristiques climatiques



2.8.2 Caractéristiques du sol



Généralement, l'espèce *Anacyclus clavatus* pousse spontanément dans des régions côtières et chaudes à l'image du bassin méditerranéen où l'ensoleillement est constant, elle se contente d'un sol argileux riche en nutriments où le pH est basique et le taux d'humidité relativement inférieur à 35°C qui correspond à un air plus au moins sec.

2.9. Usage traditionnel

Selon nos recherches l'*Anacyclus clavatus* est utilisée comme remède traditionnel dans quelques régions d'Algérie. Ainsi, en Kabylie cette plante connaît plusieurs appellations « walmam » dans la région de Bouira, « chib el hart » du côté des Ouadias et « tazdelt » à Larebaa nath irathen.

Au niveau de ces contrées l'*Anacyclus clavatus* est conseillée pour les problèmes gastriques, elle traite les hémorroïdes de même qu'elle est employée comme plante comestible dans la préparation des plats traditionnels (couscous, salade, tisanes digestives, compote) et comme aliment végétal destiné au bétail.

A Oum El Bouaghi et Djelfa, elle est connue sous le nom de « Kraa el djaja ». Dans ces régions de l'Algérie, les fleurs d'*Anacyclus clavatus* préparées en infusion sont préconisées contre l'anxiété, alors que les tiges sont destinées à apaiser les crises d'ulcère et d'estomac.

Elle est également utilisée sous forme de plâtre anti-inflammatoire (Pardo de Santayana et Morales, 2010). De même, les racines sont utilisées pour traiter diverses pathologies, elles sont particulièrement efficaces contre les infections de la peau, notamment les maladies fongiques.

2.10. Propriétés biologiques

Des activités antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antidiabétique ainsi qu'insecticide ont été signalées pour l'*Anacyclus pyrethrum*, une espèce du même genre que l'*Anacyclus clavatus*.

Les études de Hammamiet *al.* (2012) ont montré que les huiles essentielles d'*Anacyclus clavatus* possèdent une activité antibactérienne vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*, et une activité antifongique plus importante contre *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* et *Candida parapsilosis*. Les extraits méthanoliques de feuilles et des tiges et l'extrait cétonique des fleurs ont montré une activité anti-radicalaire très élevée contre les radicaux DPPH (Aliboudhar *et al.* 2013).

Les huiles essentielles de cette espèce possèdent plusieurs composés à effets thérapeutiques, en particulier l' α -cadinol qui a un effet toxique sélectif contre les cellules humaines d'adénocarcinome du côlon (Sylvestre, 2006) et le β -élémane a été utilisé comme médicament anti-tumoral (Yi-Qun, 2008).

Ainsi, d'autres composés tels que le 1,8-cinéole, terpinène-4-ol et l' α -terpinène ayant une grande activité insecticide (Lee, 2004).

Rimbau *et al.* (1999), ont évalué l'activité anti-inflammatoire des extraits d'*Anacyclus clavatus* contre la synthèse des cytokines.

2.11. Travaux scientifiques réalisés sur *Anacyclus clavatus*

La composition des huiles essentielles de la partie aérienne (feuilles + tiges et fleurs) d'*Anacyclus clavatus* a été identifiée par Aliboudhar *et al.*(2013). Elles sont composées plus de 106 composés volatils dont la Germacrène D (16,84%) constitue la principale composante de l'huile essentielle extraite des feuilles et des tiges tandis que le β -thuyone (11,16%) est le principal constituant de l'extrait de fleur.

Une autre étude porte toujours sur la composition chimique des huiles essentielles des différentes parties d'*Anacyclus clavatus* montre que, la fraction volatile des parties aériennes de cette plante d'origine tunisienne contient 46 composés dont le chrysanthenyl (81,2%), l'acétate (12,3%), le thujone (9,8%) et le chrysanthenone (8,2%) étaient les composés majoritaires. Tandis que, les huiles essentielles extraites des tiges, des fleurs et des feuilles d'*Anacyclus clavatus* d'origine algérienne possèdent 98 et 106 composés (Aliboudhar *et al.*2013).

Il est à signaler que, selon notre recherche et contrairement à la chimie des autres espèces du même genre, *Anacyclus clavatus* reste insuffisamment étudiée.

3.1 Cadre de l'étude

La présente étude rentre dans le cadre de projet de recherche de notre promotrice Melle BENAHMED DJILALI adiba visant à la valorisation de certaines plantes médicinales locales afin de découvrir de nouveaux principes actifs à intérêt pharmacologique.

Pour cela, nous nous sommes intéressées à étudier l'espèce *Anacyclus clavatus* afin d'évaluer certaines propriétés biologiques (activités antimicrobienne et antifongique de ses extraits phénoliques) et pharmacologiques visant une formulation sous forme d'un sirop à effet thérapeutique (propriété anti-inflammatoire consenti par une étude in vivo sur les rats).

Notre partie expérimental a été réalisée au niveau du laboratoire commun (Physico-chimie) et le laboratoire de Microbiologie de l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou tout au long du mois de mars et avril, la partie in vivo a été effectuée au niveau de l'institut Pasteur d'Alger .

3.2 Matériels

3.2.1 Appareillage

L'ensemble des appareillages et verreries utilisés pour réaliser cette étude sont cités ci-dessous:

- Balance de précision 0,001 g (KERN 770);
- Spectrophotomètre (EV 9200) ;
- pH mètre préciser (INOLAB) ;
- Bain marie(MAMMERT) ;
- Agitateur ;
- Four à moufle (NABERTHERM) ;
- Autoclave (WEBECO) ;
- Etuve (MEMMERT) ;
- Dessiccateur ;
- Réfrigérateur ;
- Bec bunsen.

3.2.2 Verrerie

- Tubes à essais.
- Pipettes et micropipettes ;
- Béchers ;

- Fioles ;
- Erlenmeyers ;
- Entonnoirs ;
- Capsules en porcelaine ;
- Flacons en verre ;
- Papier filtre Wattman ;
- Papier aluminium ;
- Once Pasteur stérile
- Disques stériles.

3.2.3 Produits et réactifs utilisés

- Différents agents solvants (eau distillée, méthanol, éthanol, propanol...) ;
- Acide chlorhydrique ;
- Sels (acétate de sodium, ammoniacque, carbonate de sodium) ;
- Réactifs (Follin-Ciocalteu, Dragendroff).

3.2.4 Milieux de culture utilisés

- Géloses (Muller Hinton, nutritive et Sabouraud,);
- Milieux (Brain Heart Infusion Broth(BHIB)).

3.2.5 Matériels biologiques

➤ Souches microbiennes utilisées

Les souches utilisées dans notre étude font parties de deux groupes de micro-organismes, qui sont des pathogènes et des contaminants (tableau I) provenant du Laboratoire de microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Tableau I : Souches microbiennes utilisées.

Nom de la souche	Nature	Type	Famille
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérie	Gram -	Pseudomonadaceae
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie	Gram+	Micrococcaceae
<i>Candida albicans</i>	Levure	/	

3.3 Matériel végétal

3.3.1 Echantillonnage de la plante

Plusieurs éléments interviennent lors de l'opération d'échantillonnage: l'âge, l'époque, le climat, et les parties récolées. Quel que soit la partie de la plante à cueillir, et quel que soit la saison, le meilleur moment pour procéder à la récolte est le matin (Nogaret-Ehrhat, 2008).

La plante étudiée est récoltée à la fin du mois de février et début mois de mars dans la région de Beni Yanni de la wilaya de Tizi-Ouzou.

3.3.2 Conservation

La plante étudiée possède une humidité initiale élevée de l'ordre de 87%. Cette teneur en eau est un facteur essentiel de développement de différentes altérations (chimiques et biologiques). Pour éviter toute altération et conserver les principes actifs et par conséquent les propriétés thérapeutiques des plantes, le séchage doux à l'air libre a été préconisé par plusieurs auteurs.

Dans d'autres études ultérieures faites par Hamrouni *et al.*, (2010), appuient sur l'effet de séchage à l'air libre sur le rendement d'extraction d'huile essentielle de laurier noble ont montré un rendement important en cette huile.

Par ailleurs, d'autres auteurs ont signalé aucune perte de substances volatiles n'a été constatée en séchant l'herbe à l'air libre (Consuelo., *et al.*, 2002 ; Yourtlu., *et al.*, 2010).

Dans notre cas, les parties aériennes (feuilles et tiges) ont été séchées immédiatement après la cueillette à l'air libre. Avant de lancer le séchage, celles-ci sont rincées à l'eau afin de débarrasser les débris, par la suite étalées sur une surface ensuite laissées sécher à l'ombre, et à l'abri de la poussière dans des endroits bien aérés, la température est de l'ordre de 37°C (Figure 4).

Le temps de séchage varie d'une semaine jusqu'à 15 jours. A la fin du séchage la matière séchée est broyée et tamisée à l'aide d'un tamis de taille de mailles de 500µm.



Figure 4 : Aspect des parties aériennes (feuilles et tiges) d'*Anacyclus clavatus*
a) : au moment de la récolte ; *b)* : après 15 jours de séchage à l'air libre

La poudre ainsi obtenue (Figure 5) a été conservée dans des flacons en verre fermés hermétiquement à température ambiante et stockée à l'abri de lumière et d'humidité.



Figure 5: Poudre d'*Anacyclus clavatus* conditionnée.

3.4 Méthodes

L'analyse d'une plante à potentialités thérapeutiques passe inévitablement par deux études différentes. La première consiste en une enquête ethnobotanique préalable pour cibler une activité biologique quelconque. Les résultats de cette enquête avec les indications éventuelles des guérisseurs traditionnels orienteront les méthodes d'extraction et les études chimiques ultérieures.

Contrairement, la deuxième est plus classique, qui consiste à réaliser un criblage des principales familles chimiques présentes dans la plante, et à réaliser les tests biologiques sur la plante étudiée.

3.4.1 .Etude ethnobotanique

3.4.1.1 Définition

L'ethnobotanique est une discipline récente. Ce terme a été utilisé dès 1895 par Harsherberger, il désigne l'étude des vestiges botaniques trouvés dans les sites archéologiques.

En 1940 ce terme a été élargi à l'étude des relations qui existent entre l'homme et le milieu végétal environnant. Ensuite, en 1954, Conklin a considéré l'ethnobotanique comme l'une des catégories de l'ethno science, ou de la science de peuples (Martin, 1971). En effet, cette enquête étudie aussi la classification des plantes en fonction des systèmes culturels (Ramade, 1993; Spichiger *et al*, 2004).

3.4.1.2 Intérêts

L'étude ethnobotanique permet de valoriser le savoir-faire des populations locales et de leurs relations avec les plantes médicinales. De plus, elle propose des solutions pour la conservation, la domestication et la restitution des connaissances dans l'optique de développement.

Cette étude apporte des compléments d'informations ethnographiques comme les noms vernaculaires, la culture, la récolte, les utilisations possibles et les modes de préparation des plantes (Spichiger *et al.*, 2004).

3.4.1.3 Zone d'étude

L'enquête a été réalisée dans le site de Beni Yanni (en tamazight : Ath Yanni) est une commune rurale située dans le massif de la Kabylie à 35 km au sud-est de la wilaya de Tizi Ouzou, dont le relief est constitué d'une succession de collines au piémont de la chaîne du Djurdjura qui en constitue la limite septentrionale. Les villages sont bâtis au sommet des crêtes de montagne à une altitude de 800 à 900 mètres.

La ville s'étend sur une superficie de 3425 hectares soit 34,25 km². 34,3 km² et compte 5 737 habitants depuis le dernier recensement de la population. La densité de population est de 167,5 habitants par km² sur la ville. Entourée par Ouacif, Aït Aggouacha et Aït Toudert, Beni Yanni est située à 5 km au nord-ouest d'Ouacif la plus grande ville des environs.

La région d'étude se caractérise par un climat méditerranéen avec un été chaud, Ait Yanni est située à 833 mètres d'altitude, dont les coordonnées géographiques sont : La latitude est de : 36° 34' 31" nord, alors que la longitude est de : 4° 12' 28" East (Wikipédia).

3.4.1.4 Méthodologie

Il s'agit d'une enquête réalisée sur terrain qui consiste à collecter des données en relation avec l'*Anacyclus clavatus* auprès des praticiens traditionnels de la région d'étude.

Une fiche d'information (voir annexe 1) a été utilisée pour rassembler les différents renseignements et les informations recherchées concernant les parties utilisées, les maladies traitées par cette plante, ainsi que leurs modes d'utilisation et d'administration.

Au début de cette étude, l'identification botanique de cette espèce a été réalisée au niveau du laboratoire de département d'écologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou avec l'aide de Mr Benghanem Nabil enseignant de la même Université.

3.4.1.5 Population enquêtée

Cette enquête a été réalisée durant les mois de Février et Mars de l'année 2016. La population enquêtée compte 50 personnes de différents sexes (25 hommes et 25 femmes) à âges et niveaux intellectuels différents.

3.5 Analyse phytochimique

Cette analyse a pour objectif d'identifier les différentes familles de composés existants dans la partie aérienne (feuilles et tiges) d'*Anacyclus clavatus* au moyen des réactions de précipitation et /ou de coloration spécifiques à chaque famille de composés.

Il s'agit principalement des alcaloïdes, des flavonoïdes, des hétérosides, des quinones, des saponines et des tanins.

Ce screening chimique a été effectué soit sur la poudre de la partie étudiée ou bien sur son extrait (infusé).

3.5.1 Préparation de l'infusé

Dans un erlenmeyer de 250 ml, macérer 20g de poudre végétale dans 100 ml d'eau distillée bouillante. Laisser infuser pendant 15 mn puis filtrer sur papier filtre.

L'infusé obtenu est ajusté à 100 ml d'eau distillée et conservé pour la recherche des différents composés chimiques constituant cette plante.

3.5.2 Recherches des composés chimiques

➤ *Recherche des flavonoïdes*

A 5 ml de l'infusé, on ajoute 5 ml d'HCl, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool iso butanol. La réaction est positive lorsque la coloration est rouge orangé.

➤ *Recherche des alcaloïdes*

On ajoute 20 ml d'ammoniaque (1/2) à 5 g de poudre végétale, plus 50 ml d'un mélange éther-chloroforme (3/1). Le filtrat est épuisé par HCl (2N).

L'identification des alcaloïdes a été réalisée grâce au réactif de Dragendorff qui donne un précipité rouge.

➤ *Recherche des tanins*

Introduire dans un tube à essai 5 ml de l'infusé, ajouter goutte à goutte la solution aqueuse FeCl_3 à 5% ,en présence des tanins, une coloration verdâtre se développe.

➤ *Recherche des tanins galliques*

On sature le filtrat par l'acétate de sodium, puis on lui ajoute quelques gouttes de FeCl_3 . La réaction est dite positive lorsque la coloration bleue noirâtre apparaît.

➤ *Recherche des anthocyanes*

Introduire dans un Erlenmeyer 5ml d'infusé, ajouter quelques gouttes d'HCl. La réaction positive est déterminée par une coloration rouge.

➤ *Recherche des leuco-anthocyanes*

A 2g de poudre, on ajoute 20ml (propanol /acide chlorhydrique) (v/v). On porte le mélange au bain marie bouillant pendant quelques minutes. Les leuco-anthocyanes sont détectés grâce à une coloration rouge de la solution.

➤ **Recherche des quinones libres**

On ajoute 2ml d' HCl (1N) à 2g de poudre végétale, plus 20ml de chloroforme puis on laisse le mélange reposer pendant 3h. Après on filtre et on ajoute au filtrat 5ml d'ammoniaque (1 /2).

La réaction positive est déterminée par l'apparition d'une couleur rouge-violette.

➤ **Recherche des saponosides**

Dans deux tubes à essais fermés, on met dans l'un 5ml d'HCl à 0,1N, dans l'autre 5ml de NaOH 0,1N. On introduit dans chaque un 2 à 3 gouttes d'infusé. Ensuite bien agiter verticalement pendant 30s et laisser reposer pendant 15min.

Une réaction positive est déterminée par la présence d'une mousse persistante. On distingue deux cas :

1er cas : en présence des saponines stéroïdiennes, on obtient dans les deux tubes le même volume de la mousse ;

2ème cas : si la plante contient des saponines triterpéniques, en milieu basique il y'aura formation d'une mousse quelque fois plus grande par stabilité et par volume.

➤ **Recherche des glucosides**

Quelques gouttes d'H₂SO₄ ont été ajoutées à 2g de poudre végétale. Une coloration rouge brique ensuite violette se manifeste en présence des glucosides.

3.6 Détermination de la teneur en polyphénols totaux

3.6.1 Extraction de polyphénols

Deux extraits phénoliques ont été préparés en utilisant deux solvants (l'eau et l'éthanol). Afin d'éviter l'oxydation des composés phénoliques, l'extraction a été effectuée à l'abri de la lumière en recouvrant toute la verrerie avec du papier aluminium; et les extraits sont conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation (Chan *et al.*2009).

➤ **Protocole d'extraction**

10g de matériel végétal finement broyé est soumis à l'extraction par macération dans une solution aqueuse et éthanoïque pendant 5jours, avec agitation de temps en temps une température ambiante. Les extrais sont filtrés à l'aide d'un papier filtre Wattman.

Les différentes étapes respectées pour extraire les polyphénols des feuilles et des tiges de notre plante sont présentées dans le diagramme suivant :

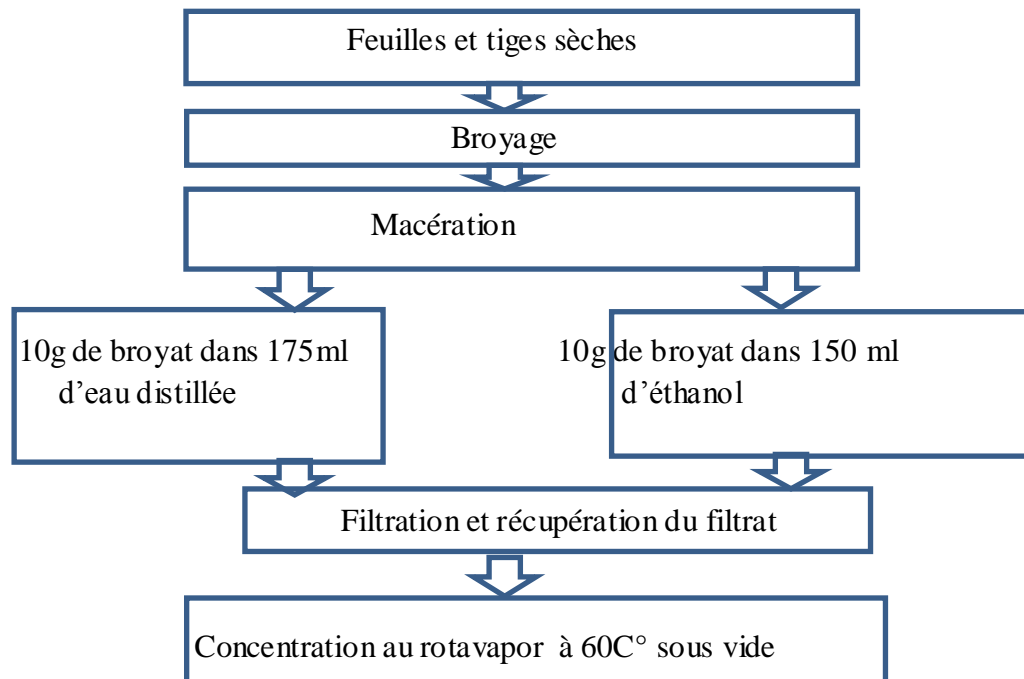


Figure 6 : Protocole d'extraction des polyphénols totaux (légèrement modifié)
(Chan *et al.* 2009).

3.6.2 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.* 1999).

➤ Principe

Lorsque les polyphénols sont oxydés, réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène.

L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux des composés phénoliques oxydés absorbant à un maximum d'absorption à 760 nm (Boizot et charpentier, 2006).

➤ Mode opératoire

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode décrite par Juntachote *et al.* (2006). Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits de la plante *Anacyclus clavatus* est représenté par l'organigramme suivant :

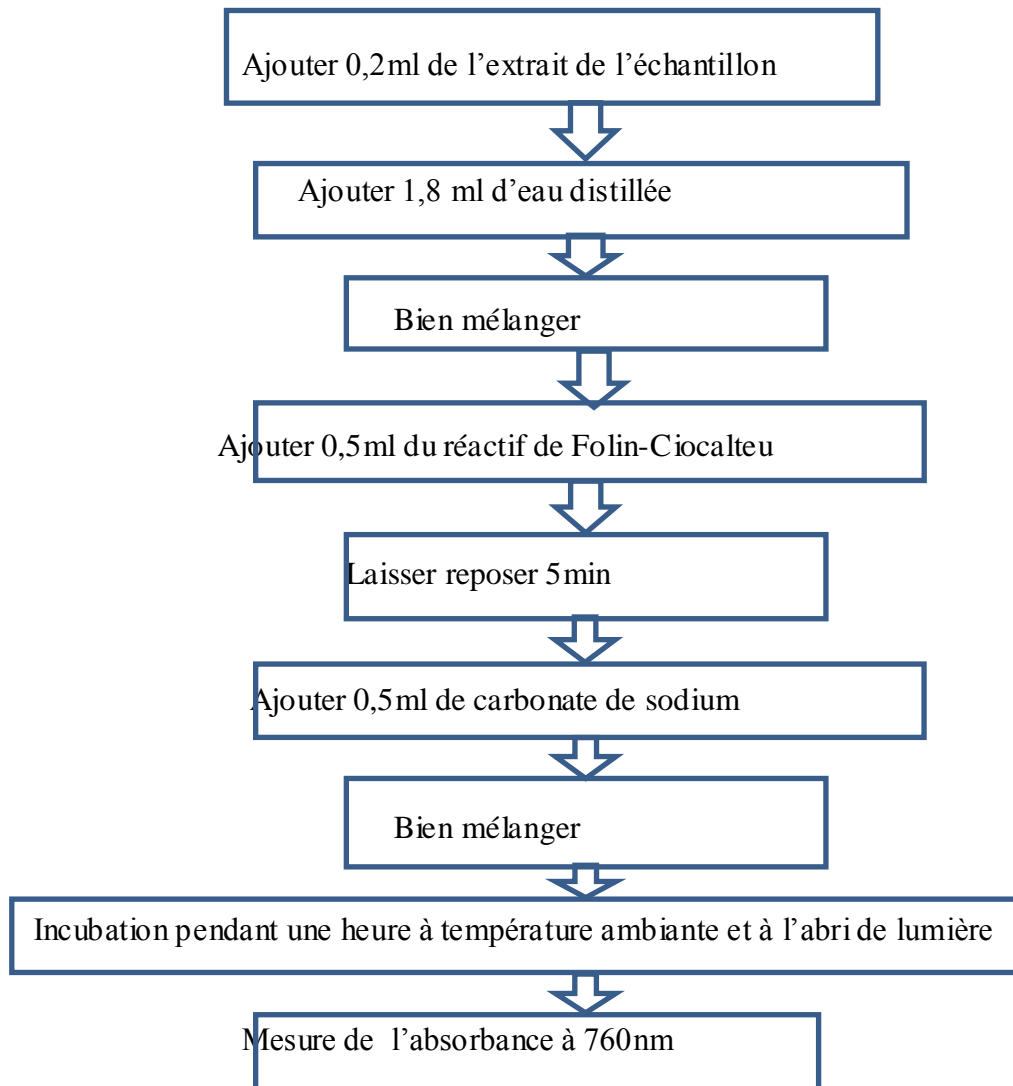


Figure 7 : Etapes de dosage des polyphénols (*Singleton et al.* 1999).

3.6.3 Préparation de la droite d'étalonnage

On fait dissoudre 200 mg d'acide gallique dans 100 ml d'éthanol, soit une solution mère (S_1) ensuite, on réalise une série de dilution de cette solution comme suit :

On prélève 5 ml de la solution mère puis on additionne 5 ml d'eau distillée en obtient la dilution $S_1/2$;

On prélève 5 ml de la solution précédente $S_1/2$ puis on rajoute 5 ml d'eau distillée et en obtient la dilution $S_1/4$;

On procède de la même manière pour les autres dilutions.

On réalise la lecture de l'absorbance des différentes dilutions à 760 nm et on trace la droite d'étalonnage DO en fonction de la concentration en polyphénols exprimée en mg d'acide gallique/g MS.

3.7 Caractérisation physico-chimique de la poudre de la plante

3.7.1 Le pH (NF V 05-108, 1970)

Il définit l'acidité de produit considéré, mesuré à l'aide d'un pH-mètre.

➤ Mode opératoire

10 ml d'eau distillée chaude sont ajoutés à 2g d'échantillon. Le mélange est broyé puis filtré et laissé refroidir.

Plonger l'électrode dans un volume important de ce filtrat et noter la valeur du pH.

Il faut rincer l'électrode avec l'eau distillée avant et après chaque mesure.

3.7.2 Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101, 1974)

L'acidité titrable est la somme des acides minéraux et organiques libres.

Elle est déterminée selon l'équation suivante :

$$A\% = 250 V_1 \times 100 / (V_0 M \times 10) \times 0,07 = 175 V_1 / (V_0 \times M) \dots\dots\dots(1)$$

Soit :

M : Masse en gramme du produit prélevé.

V₀ : Volume en millilitres de la prise d'essai.

V₁ : Volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 N utilisé.

0,07 : Facteur de conservation de l'acidité titrable en équivalent d'acide citrique.

➤ Mode opératoire

Ajouter 10g de poudre à 50 ml d'eau distillée bouillante puis mettre la solution dans le bain marie pendant 30 min. Laisser refroidir puis ajuster jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée. Filtrer le mélange, puis récupérer 10 ml du filtrat et ajouter quelques gouttes de phénophtaléine, ensuite titrer avec NaOH jusqu'à virage de couleur rose persistante.

3.7.3 Teneur en cendres (NF V 05-113, 1972)

Les cendres constituent les résidus de composés minéraux restant après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique.

➤ **Principe**

L'échantillon est calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres de poids constant.

➤ **Mode opératoire**

Dans des capsules en porcelaine, peser 4g d'échantillon ;

Placer les capsules dans un four à moufle réglé à 550 ± 15°C pendant 5 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur grise claire ou blanchâtre ;

Retirer les capsules du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

La matière organique est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{MO}(\%) = \frac{\text{M1}-\text{M2}}{\text{P}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

Soit:

MO : Matière organique (g) ;

M1 : Masse de la capsule + prise d'essai (g) ;

M2 : Masse de la capsule + cendres (g)

P : Masse de la prise d'essai (g).

La teneur en cendres(Cd) est déterminée comme suit :

$$\text{Cd} = 100 - \text{MO} \quad \dots\dots\dots(3)$$

3.7.4 Humidité (AFNOR, 1986)

➤ **Mode opératoire**

1. Peser 5g du matériel végétal frais dans une capsule en porcelaine;
2. Sécher dans l'étuve à 103 ± 2°C pendant 3h ;
3. Retirer la capsule de l'étuve, les refroidir dans le dessiccateur, après les peser.
4. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

La teneur en eau sera déterminée selon la formule suivante :

$$\text{H}(\%) = \frac{\text{M1}-\text{M2}}{\text{M}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(4)$$

Soit :

H : humidité en (%) ;

M1 : Masse de la capsule + matière fraîche avant séchage en (g) ;

M2 : Masse de l'ensemble après séchage en (g) ;

M : Masse de la prise d'essai en (g).

3.8 Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de notre plante a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé décrite par Benjelali *et al.* (1986). Il s'agit de mesurer les zones d'inhibitions issues de l'effet des extraits phénoliques vis-à-vis les souches pathogènes testées.

3.8.1 Stérilisation du matériel

L'eau physiologique, les milieux de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

3.8.2 Revivification des souches

Pour permettre aux bactéries stressées de récupérer leurs potentialités ; 1 ml de la suspension bactérienne a été prélevé et additionner à 9 ml du BHIB. Les tubes sont mis à l'étuve 24h à 37°C.

3.8.3 Repiquage des souches

Les bactéries sontensemencées à l'aide d'une anse sur gélose nutritive en réalisant des stries serrées, puis incubés à 37°C. De même, *Candida albicans* a été repiqué sur gélose Sabouraud et incubée à 28°C pendant 8 jours.

3.8.4 Standardisation

On prélève à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactérienne à tester. La suspension bactérienne est bien homogénéisée, d'opacité 0,5 Mc Farland équivalente à une DO de 0,08 à 0,10 à 625 nm.

3.8.5. Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement des souches testées est réalisé par écouvillonnage sur la surface des milieux de culture par la technique de stries.

Les disques imprégnés d'extraits phénoliques sont déposés délicatement sur la surface de la gélose pré-inoculée à l'aide d'une pince stérile.

De même, les disques contenant des antibiotiques (témoins positifs) appropriés et les disques imprégnés d'éthanol ou de l'eau distillée (témoins négatifs) ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés.

Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C pour les bactéries et à 28°C pendant 5 jours pour la levure.

3.8.6 Lecture des résultats

Après incubation, on observe soit une résistance des souches vis-à-vis des polyphénols, (croissance autour des disques) ou une sensibilité des souches aux polyphénols qui se traduit par une zone d'inhibition autour des disques. On mesure les diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques.

3.9. Etude de l'activité anti-inflammatoire (test in vivo)

Le but recherché de ces tests est de déterminer l'effet thérapeutique de l'extrait aqueux de la plante *Anacyclus clavatus* contre l'inflammation de la membrane gastrique chez les rats Wistar.

Cette étude a été réalisée au niveau de l'Institut Pasteur d'Alger pendant une durée de 40 jours.

3.9.1 Les animaux testés

Les tests in vivo sont réalisés sur des rats blancs albinos «*Rattus norvegicus*» variété Wistar (figure 8), de sexe male, âgés de 2 à 3 mois, ayant un poids corporel compris entre 100 et 260g.

Les rats sont élevés au niveau de l'animalerie de l'Institut Pasteur d'Alger où ils sont nourris d'un aliment complet sous forme des granules de types "EL AALF" composé de céréales, tourteaux de soja issus de céréales, huile de soja, phosphate mono calcique, carbonate de calcium, lysine, méthionine, choline, sel, plus une complexe oligo-vitamine.

Lors de notre étude, l'eau de robinet ou l'extrait aqueux de la plante et l'aliment leurs sont fournis quotidiennement. La litière est renouvelable trois fois par semaine.



Figure 8 : Photo d'un rat de type *Rattus norvegicus*

3.9.2 Répartition des rats

Cette expérimentation a été faite sur 24 rats répartis en 4 lots de 6 rats (Figure 9) et le tableau (II).



Figure 9 : Répartition des rats selon les lots

- Lot 1 :** témoin négatif : regroupe les rats non traités ;
- Lot 2 :** témoin positif : regroupe les rats prétraités par le poivre noir ;
- Lot 3 :** inflammé et traité par l'extrait d'*Anacyclus clavatus* ;
- Lot 4 :** traité uniquement par l'extrait d'*Anacyclus clavatus*.

La concentration de l'extrait aqueux d'*Anacyclus clavatus* testée est de 10g/500ml d'eau distillée.

3.9.3 Protocole expérimental

3.9.3.1 Administration de l'extrait aqueux de la plante

Les animaux des lots positif et traité uniquement par la plante ont reçu une quantité de l'extrait aqueux de la plante par gavage pendant 30 jours. Cependant les rats de lot témoin négatif sont alimentés uniquement par l'aliment de bétail pendant la même période.

Les quantités d'extrait de notre plante et l'aliment de bétail ont été administrées et ajustées régulièrement afin de maintenir les mêmes doses.

Tableau II : Répartition des lots des rats testés et leurs quantités administrées.

N° de lot	Nombre de rats	Poids moyen (g)	Volume de la solution administrée	Aliment de bétail (g)
Lot 1	6	211,85± 92,72	100 ml de l'eau	30
Lot 2	6	192,28± 84,89	100 ml de la solution de poivre noir	30
Lot 3	6	192,28± 84,89	100 ml de l'extrait aqueux de la plante	30
Lot 4	6	204,57± 89,67	100 ml de l'extrait aqueux de la plante	30

3.9.3.1 Contrôles et observations

Les animaux sont contrôlés individuellement et quotidiennement. Le comportement et les symptômes cliniques des animaux sont notés pendant toute la durée de l'expérience (sommeil, diarrhées et mortalités).

Chaque 48h, la pesée de l'aliment et les volumes administrés (eau, extrait aqueux de la plante) sont contrôlés et ajustés.

3.9.3.1 Analyses de contrôles

L'évolution de la glycémie à jeun, le profil lipidique, et la prise de poids des rats des différents groupes sont contrôlés dès le premier jour.

➤ *Le suivi du poids corporel des rats*

Pendant toute la période d'expérience, le poids corporel des rats est suivi chaque 2 jours. Il est mesuré à l'aide d'une balance de précision en gramme (g) (Figure 10) et enregistré pendant la durée expérimentée.



Figure 10 : La prise de poids des rats

➤ *Suivi de la glycémie*

Avant chaque prélèvement de sang, les animaux sont privés de nourriture (aliment de bétail et extrait de plante) pendant 18 heures. L'évolution de la glycémie des rats des différents lots est suivie à moyen terme durant 4 semaines (T_0 , le 7^{ème} jours, 14^{ème} jours, 21^{ème} et 28^{ème} jours).

Le sang est prélevé à partir de la veine caudale ou du sinus rétro-orbital au niveau de l'œil (Figure 10) et la glycémie est mesurée à l'aide d'un lecteur de glucose (glucomètre à bandelettes réactives On Call Plus). Les teneurs en glucose sont exprimées en g/l et les variations de la glycémie sont montrées par moyen de chaque lot.

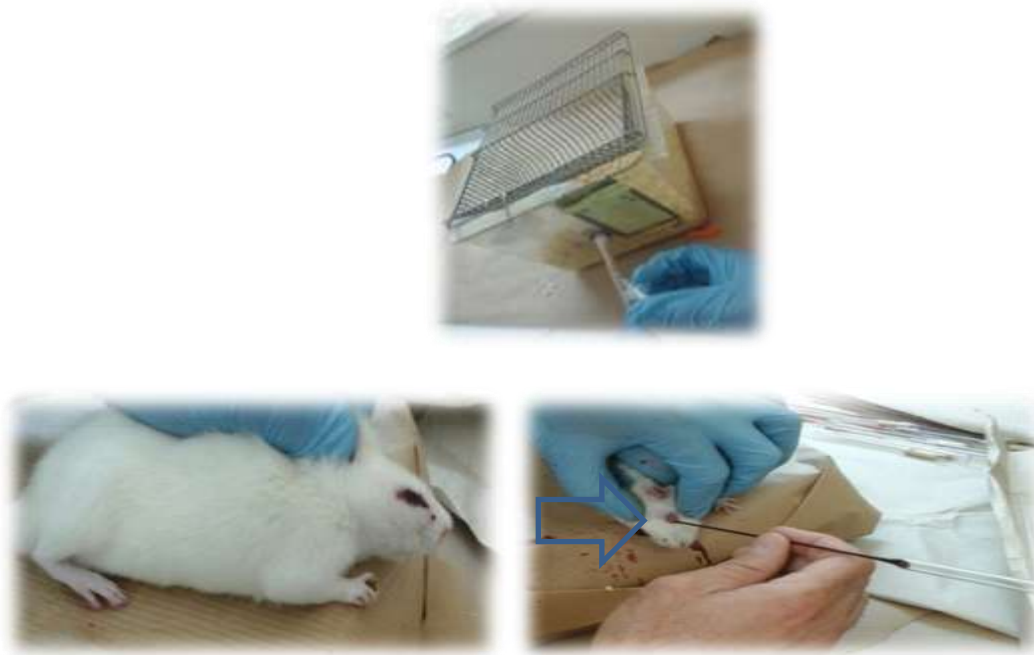


Figure11 : Prélèvements du sang au niveau du sinus rétro-orbital de l'œil.

➤ *Analyse et suivi du profil lipidique*

Pour l'examen biochimique (profil lipidique), le sang prélevé est mis dans des tubes contenant un anticoagulant.

Cette analyse a été réalisée sur les sangs des rats à t_0 initial et à t final et ce pour tous les lots étudiés. Les résultats sont exprimés en g/l. Il s'agit d'analyser le cholestérol, triglycéride et Hdl

➤ *Dessiccation et prélèvement des organes*

La dessiccation des rats a pour but d'observer les effets de la plante étudiée sur les différents organes.

Notre attention était portée sur les intestins, l'estomac, le foie, le cœur et les poumons.

A l'aide d'un bistouri on a ouvert les abdomens des cobayes. Suite à cela avec une pince on a prélevé les organes à savoir le cœur, les reins, le foie, l'estomac et les intestins (Figure 12).

Les organes ont été conservés dans des tubes à vices contenant une solution de formol puis dirigés vers le laboratoire d'Histologie de l'Institut Pasteur pour l'analyse des coupes histologiques.

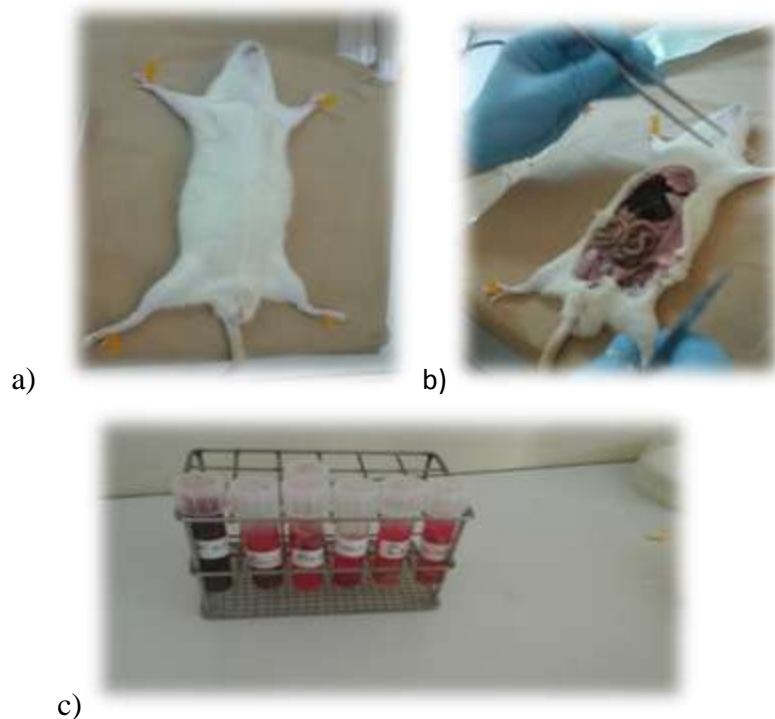


Figure 12 : Les différentes étapes de la dessiccation.

a) rat sacrifié ; b): prélèvement des organes ; c) : organes conservés dans le formol.

➤ *Confection des coupes histologiques*

Afin de mettre en évidence les lésions histopathologies observées dans les rats traités, nous avons fait subir aux prélèvements un ensemble de techniques selon la méthode décrite par l'Institut Pasteur qui sont les suivantes :

- *Fixation des organes*

Le but de la fixation est de conserver les structures tissulaires et cellulaires, permettant de figer le tissu dans l'état le plus proche de son état initial.

Dans notre étude nous avons eu recours au formol 4% (pH 7), par immersion immédiate des échantillons post prélèvement dans un grand volume de liquide (10 fois le volume de l'organe) durant 24 à 48 heures.

- ***Déshydratation***

Les organes fixés sont plongés dans des bains successifs d'alcool à degrés croissants (70°, 90° et 100°) dans le but de les préparer une inclusion en milieu hydrophobe (paraffine).

Durée : 1 heure dans l'alcool à 70°, 30 minutes dans l'alcool à 90° et 30 minutes dans l'alcool à 100°.

- ***Eclaircissement***

3 bains intermédiaires de xylène sont réalisés et nécessaires pour permettre une imprégnation de la paraffine (n'étant pas soluble dans l'alcool) et faciliter sa dissolution dans le tissu.

- ***Imprégnation et inclusion en paraffine***

Les organes sont soumis à 2 bains successifs de paraffine liquide avec incubation de 8 heures et 1 heure.

Les échantillons sont par la suite coulés dans des moules à inclusion métalliques contenant de la paraffine fondue (placée sur une plaque chauffante).

- ***Confection des coupes : Microtomie***

Avant de procéder à la coupe il est nécessaire de rigidifier les blocs de paraffine par mise de ces derniers au froid (au congélateur).

Les blocs sont disposés par la suite sur le microtome, des coupes fines de 3 µm sont réalisées à l'aide d'une lame couteau (par mouvement vertical). Ces coupes sont déposées dans un bain marie NUVE r réglé à 44°C, et récupérées par la suite à l'aide d'une lame porte objet.

A la fin les coupes sont incubées durant toute une nuit dans une étuve de marque Memmert.

- ***Déparaffinage et réhydratation des coupes***

Cette étape précède la coloration (pour une meilleure imprégnation des tissus par les colorants). Elle s'effectue par deux bains successifs de xylène pendant 15 minutes chacun.

- ***Coloration des coupes***

La coloration classique pour l'observation morphologique des coupes est la coloration Hémalum-Eosine (HE).

L'Hémalum est un colorant basique donne une teinte bleue violacée aux noyaux.

L'Eosine est un colorant acide confère une teinte rosée au cytoplasme.

- **Déshydratation et montage des coupes**

2 bains rapides d'alcool à degrés croissants puis montage des coupes entre lame et lamelle à l'aide de résine hydrophobe EUKITT. **Lecture et prise de photographies**

La lecture s'est effectuée à l'aide d'un microscope de marque ZEISS axiostar plus à des grossissement différents (X4, X10 et X40), la prise de photographies illustrant les structures tissulaire se fait à l'aide d'une caméra intégrée de type LEICA.

3.10. Essai d'élaboration d'un sirop anti-inflammatoire

Pour cette partie de travail, nous nous sommes intéressés à l'essai de fabrication d'un sirop thérapeutique Bio (antiinflammatoire) à base de l'extrait de notre plante, sirop de datte, jus de citron naturel et la poudre de zeste de citron. Cinq formulations ont été préparées (Tableau III).

- ✓ Le sirop de dattes a été préparé à partir de dattes sèches variété *Mech-Degla* connue par sa richesse en sucres et en minéraux et par son abondance (Benahmed Djilali *et al.* 2011).
- ✓ Le jus de citron naturel utilisé comme agent de conservation.
- ✓ La poudre de zeste de citron est utilisée comme agent d'aromatisation.

Tableau III : Composition des formulations de sirops élaborés.

Formulations	F1	F2	F3	F4	F5
Sirop de datte (Brix 19-20%) (ml)	100ml	50ml	75% x50ml	50% x50ml	25% x50ml
L'extrait aqueux de la plante	4%	12,5ml	25%x3,12ml	50%x6 ,25ml	75%x9,37
Zeste de citron(%)	1	1	1	1	1
Jus de citron naturel (%)	1	1	1	1	1

Les différentes formulations sont stérilisées par tyndallisation et stockées au réfrigérateur avant leurs analyses.

3.10.1 Analyse sensorielle des sirops

➤ Principe

Selon LAS (2011), l'analyse sensorielle consiste à analyser les propriétés organoleptiques des produits par les organes des sens la vue, le toucher, l'ouïe, l'odorat et le goût.

Elle constitue un véritable outil qui permet d'évaluer les caractéristiques organoleptiques des produits (gout, odeur, texture et couleur).

Ces critères sont notés sur une fiche d'appréciation proposée aux dégustateurs (Annexe 3).

Un échantillon de chaque formulation est présenté dans un petit flacon numéroté, puis dégusté et évalué par le panel de dégustateurs. Ce dernier est composé de 50 dégustateurs rassemble des personnels des laboratoires d'analyses, des enseignants et des étudiants de l'Université Mouloud Mammeri auxquels on a proposé la fiche d'appréciation des critères organoleptiques (goût, odeur, et couleur).

La meilleure formulation est celle qui présente les meilleures qualités organoleptiques physicochimiques et microbiologiques.

3.10.2 Analyses portant sur la meilleure formulation

3.10.2.1 Caractérisation physico-chimique

Les mêmes protocoles utilisés dans la caractérisation physico-chimique des matières premières ont été appliqués pour l'analyse de la meilleure formulation de sirop choisi.

3.10.2.2 Test de stabilité

Ce test a pour objectif de vérifier la stabilité de la meilleure formulation des sirops élaborés (formulation F3) de point de vue microbiologique et physico-chimique. Pour cela, ladite formulation a été analysée initialement et après l'incubation à 31 °C pendant 21 jours.

4.1 Résultats d'étude ethnobotanique

Après avoir lu et regroupé les informations récoltées des personnes enquêtées il en ressort ce qui suit :

4.1.1 Utilisation de la plante selon l'âge

Les résultats obtenus montrent que, l'espèce d'*Anacyclus clavatus* est répondeuse dans la wilaya de Tizi Ouzou spécialement la région de Beni Yanni. Une forte utilisation est observée chez les personnes âgées de 40 à 70 ans (44%) (Figure 13).

Cependant, le reste de la population utilise la plante avec un pourcentage moins important (33 % pour la population de tranche d'âge de 30 à 40 ans et 22 % pour les personnes trop jeunes).

En effet, nous constatons que, les personnes âgées ont plus de connaissances sur l'usage des plantes médicinales par rapport aux autres classes d'âges. Cela, nous confirme que, l'expérience accumulée avec l'âge constitue la principale source d'information à l'échelle locale au sujet de l'usage des plantes en médecine traditionnelle.

Néanmoins, la transmission de ces connaissances est en danger actuellement parce qu'elle n'est pas toujours assurée d'une génération à une autre (Anyinam, 1995).

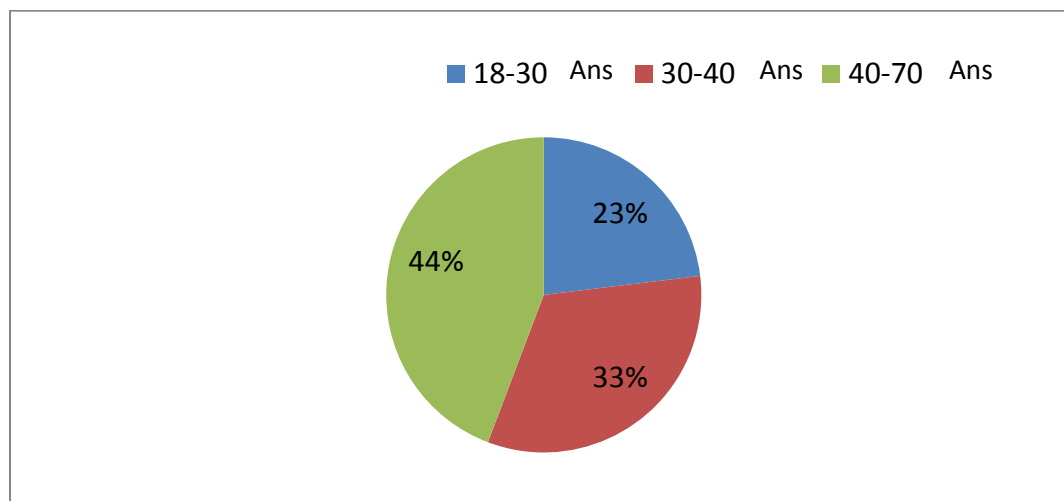


Figure 13: Utilisations d'*Anacyclus clavatus* selon l'âge de la population enquêtée.

4.1.2. Utilisations de la plante selon le sexe

Les résultats trouvés révèlent que les femmes utilisent beaucoup plus cette plante avec une fréquence plus importante (58 %), en comparaison avec la population masculine présente (42%) (Figure 14).

Ceci peut être expliqué par le fait que, les femmes utilisent les plantes médicinales dans d'autres domaines autres que la thérapie citant par exemple en cosmétologie et aussi par leurs responsabilités en tant que mères donnant les premiers soins en particulier pour leurs enfants. Ces résultats affirment que, les femmes sont plus détentrices du savoir phytothérapeutique traditionnelles.

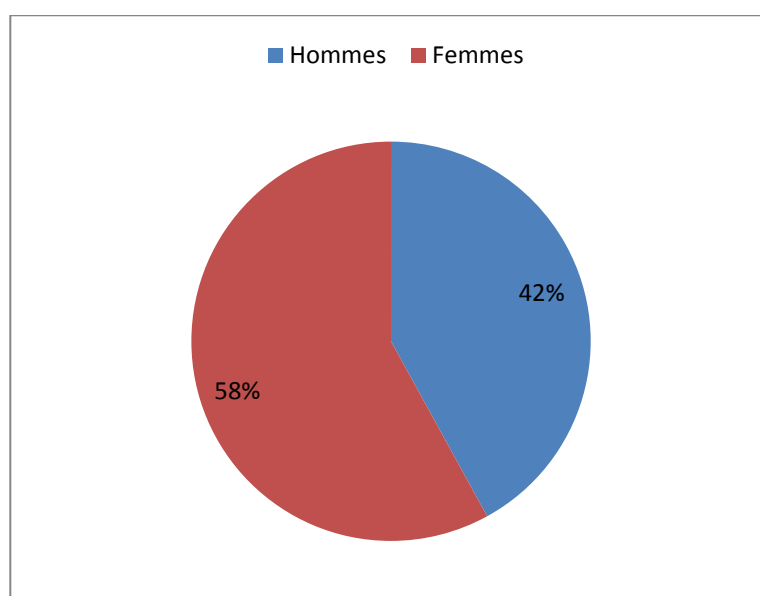


Figure 14: Utilisations de la plante selon le sexe.

4.1.3. Utilisations thérapeutiques

4.1.3.1 Parties utilisées

Globalement, les différentes parties de cette plante sont utilisées en médecine traditionnelle notamment les feuilles, les graines, les racines, les tiges, les fleurs ou bien la plante entière (Figure15).

Selon la population enquêtée, les feuilles sont les plus utilisées (86%), les tiges occupent la deuxième place avec un pourcentage de 68%. Les fleurs occupent une place moyenne avec un taux de 50%. Cependant, les racines sont les moins utilisées avec un pourcentage de 20%. Les graines ne sont pas utilisées par les personnes interrogées.

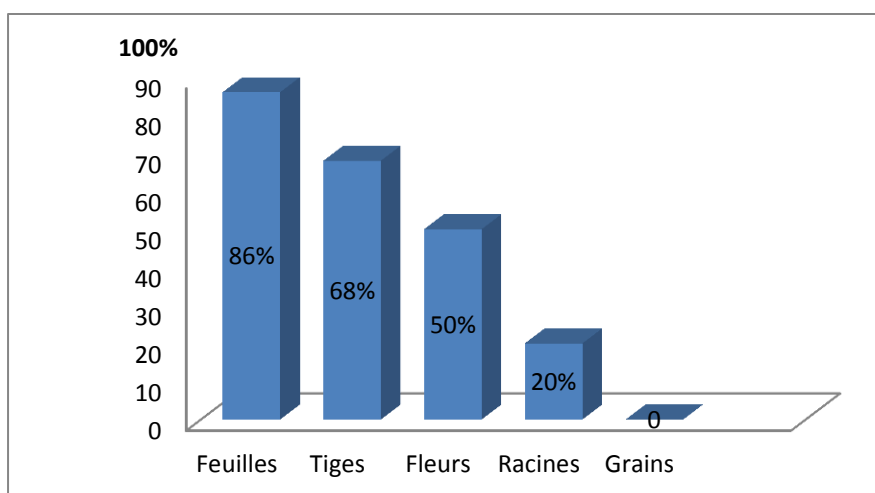


Figure15 : pourcentages d'utilisations de différentes parties d'*Anacyclus clavatus*.

4.1.3.2 Modes de préparations

Plusieurs modes de préparations sont employés pour extraire les principes actifs de cette plante à savoir : l'infusion, la macération, la décoction et sous forme de poudre (Figure 16). L'infusion et la macération sont les plus utilisables selon la population enquêtée. Toutefois, l'infusion est le mode le plus dominant (88%) suivi par la macération qui atteint un taux de 38%.

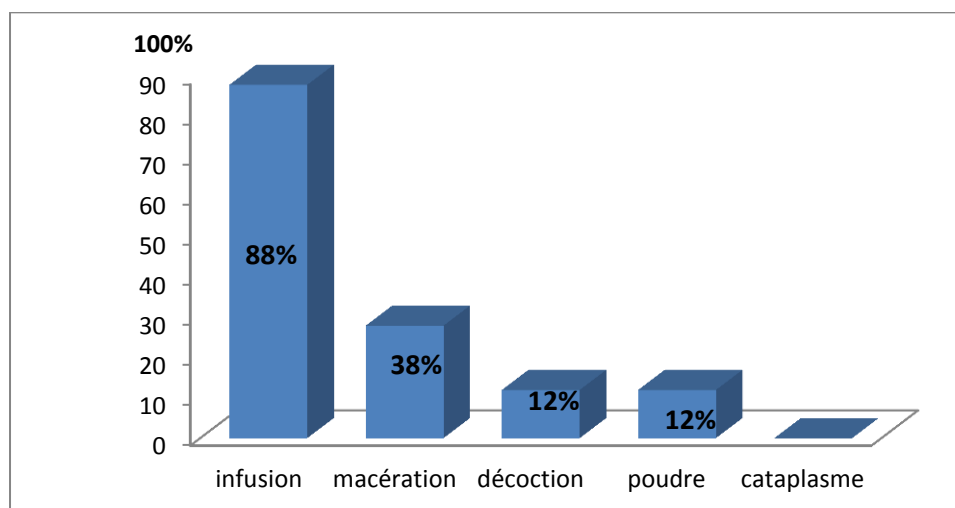


Figure16 : Modes de préparations d'*Anacyclus clavatus*.

4.1.3.3 Utilisations thérapeutiques

Les différentes parties d'*Anacyclus clavatus* sont utilisées pour traiter de nombreuses maladies. Selon la population enquêtée, ladite espèce est très souvent utilisée pour traiter les douleurs gastriques ainsi que l'anxiété, les hémorroïdes et les blessures.

Les fréquences les plus marquées concernent le traitement stomachique (90%), le traitement de l'anxiété (40%) et des hémorroïdes (32%). Alors que, la guérison des blessures marque une fréquence de 30 %.

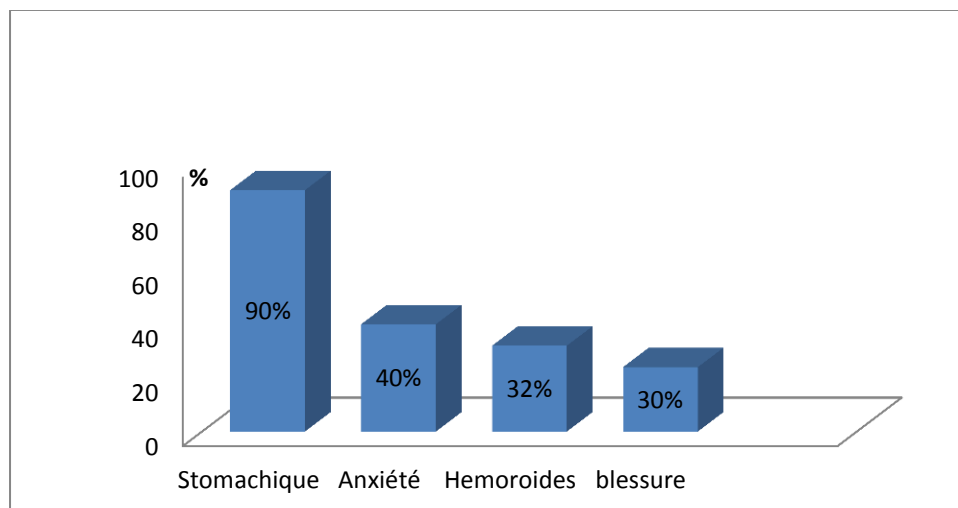


Figure17 : Maladies traitées par *Anacyclus clavatus*.

➤ Remarques concluantes

La fréquence d'utilisation d'*Anacyclus clavatus* comme plante médicinale dans le cercle de la région de Tizi-Ouzou est trop marquée selon les personnes enquêtées. Ainsi, les jeunes, comparés aux personnes âgées, ne connaissent généralement ni le nom ni l'utilité de l'espèce étudiée.

Communément, les femmes et les hommes de cette région ont un savoir médicinal partagé, avec un léger avantage revient aux femmes.

Les résultats de cette enquête, a révélé une multitude d'informations concernant les parties utilisées cette plante médicinale, les différents modes de préparations ainsi que ses vertus thérapeutiques.

Ces informations sont résumées comme suit :

Les personnes âgées prédominent avec un taux de 44 % d'utilisations.

Les feuilles et les tiges constituent les parties les plus utilisées, elles occupent les meilleurs pourcentages 86 %, 68% respectivement.

L'enquête a montré que la plante étudiée est utilisée par la population pour traiter quatre maladies à savoir : les douleurs gastriques (90%), l'anxiété (40%), les hémorroïdes (32%), (30%) et les blessures (30%).

Les informations recueillies constituent un inventaire qui contribue d'une part à la connaissance de la flore médicinale algérienne et à une sauvegarde du savoir-faire de la population locale d'autre part. Elles constituent également une base de données pour la valorisation des plantes médicinales en vue de découvrir de nouveaux principes actifs utilisables en pharmacologie.





4.2. Résultats d'analyse phytochimique




L'analyse phytochimique des extraits de plantes est une étape préliminaire et d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactifs responsables des vertus thérapeutiques.

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant la poudre des feuilles et tiges d'*Anacyclus clavatus* a été faite selon les méthodes standards du screening phytochimique.

Les résultats de cette analyse sont portés dans le tableau IV.

Tableau IV : Résultats des tests phytochimiques effectués sur la poudre d'*Anacyclus clavatus*

Métabolites secondaires	Quantités	Photos
Tanins	(+ + +)	
Tanins galliques	(+ + +)	
Saponosides	(-)	
Flavonoïdes	(+ + +)	

Quinones libres	(-)	
Alcaloïdes	(++)	
Anthocyanes Leuco-anthocyanes	(-) (-)	
Glucosides	(-)	

(+++): Abondance ; (++) : moyen ; (-) : absence.

Les résultats d'analyse phytochimique montrent que, la poudre des feuilles et des tiges d'*Anacyclus clavatus* est très riche en tanins, en tanins galliques ainsi que les alcaloïdes et les flavonoïdes, mais à des proportions différentes. Cette richesse en métabolites secondaires leur confère des propriétés pharmacologiques importantes d'où leur utilisation en médecine traditionnelle.

Alors que, les tests réalisés pour l'identification des anthocyanes, leuco anthocyanes, saponosides et les glucosides ont montré des résultats négatifs car la plante est dépourvue de ces types de métabolites.

En comparant les résultats trouvés avec d'autres résultats de travaux de recherches précisément les travaux de Selles, (2012), qu'a étudié une plante de la famille des astéracées du même genre d'*Anacyclus*, il s'agit d'*Anacyclus pyrethrum*, le screening phytochimique effectué sur cette dernière a révélé la présence des tanins, des alcaloïdes, des flavonoïdes et des saponosides. Ces résultats semblent intéressants affirment la richesse des espèces de ce genre en divers métabolites secondaires, et avoir une idée sur ses propriétés pharmacologiques.

De même, les résultats signalés par Aliboudhar *et al.* (2013) ont noté eux-mêmes la présence de nombreux métabolites secondaires dans la même espèce *Anacyclus clavatus*.

Ces tests phytochimiques dont la précision reste quand même limitée, ne nous renseignent pas sur la structure d'une molécule bien déterminée. Néanmoins, ils permettent de détecter la présence ou l'absence de telle ou telle famille chimique.

4.2.1 Composition en minéraux de la poudre d'*Anacyclus clavatus*

Les résultats d'analyse de la composition minérale de la poudre d'*Anacyclus clavatus* sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau V : Composition minérale de la poudre d'*Anacyclus clavatus*

Minéraux	Mn	Cr	Ni	Cd	Cu	Fe	Pb	Zn	Mg	Na	K
Teneur (mg/Kg MS)	354,1	_	6,2	_	105,2	5406,5	64,9	507,85	15096,3	52208,0	_

Nous remarquons d'après ce tableau que, la poudre d'*Anacyclus clavatus* présente des teneurs élevées en éléments essentiels pour l'organisme tel que le sodium, le magnésium ainsi elle est riche en oligo minéraux (Fer, Zinc et Cuivre).

De point de vue toxicité la plante en question ne contient pas des éléments toxiques tels que le Cd et le Cr.

De ce fait, d'*Anacyclus clavatus* peut être utilisée pour remédier les carences en minéraux surtout la population qui souffre notamment en Fer (anémie) et ce dans les pays sous-développés.

Etant donné, que les feuilles sont comestibles, il serait utile de les utiliser en décoction ou sous forme de sirops pour remédier contre les différentes maladies précitées et peuvent servir aussi d'excipient en industrie pharmaceutique.

4.3 Extraction et dosage des polyphénols

4.3.1. Gamme d'étalonnage

Les taux de polyphénols totaux contenus dans nos extraits ont été calculés suivant une courbe d'étalonnage linéaire ($y = 0,0088x + 0,012$) établie grâce à des concentrations précises d'acide gallique comme standard, dans les mêmes conditions que les deux échantillons. L'absorbance correspondant à la mesure de la densité optique a été enregistrée à la longueur d'onde de 760 nm. Les résultats obtenus sont mentionnés dans (l'annexe 4).

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique a été tracée en prenant la concentration (mg/ml) en fonction de l'absorbance et le coefficient de corrélation $R^2 = 0,998$.

4.3.2. Résultats de l'estimation de la teneur en polyphénols

Nous avons utilisé l'équation de régression obtenue par la gamme d'étalonnage de l'acide gallique ($Y = 0,0088x + 0,012$) afin de retrouver le taux de polyphénols contenus dans nos extraits et ce, en remplaçant x par l'absorbance obtenus par chaque extrait.

Les résultats correspondent à la quantité de polyphénols contenus dans chaque extrait obtenu (voir tableau VI).

Tableau VI : Résultat du dosage des polyphénols d'extraits des feuilles, tiges d'*Anacyclus clavatus*.

Type de solvant	Teneur en polyphénols (Unité à préciser)
Extrait aqueux	$63 \pm 0,097$
Extrait éthanoïque	$186 \pm 0,111$

D'après les résultats de tableau (VI), nous remarquons que, la teneur élevée en polyphénols est obtenue dans l'extrait éthanoïque en comparaison avec l'extrait aqueux.

Cette différence dans les teneurs en Polyphénols peut s'expliquer par divers facteurs. Selon JAKOPIC *et al.* (2009), ont déclaré que l'efficacité de l'extraction de ces composés dépend du type de solvant. Ces auteurs ont montré que les meilleurs taux en polyphénols ont été obtenus en utilisant le méthanol, l'éthanol et leurs mélanges appropriés avec l'eau.

D'autres études menées par Kherbache (2014), qu'a signalé les résultats d'extraction des polyphénols à partir de la même espèce comme suit : une meilleure teneur en polyphénols a été observée dans l'extrait éthanoïque de l'ordre de $131,30 \pm 6,88$ ($\mu\text{g EAG/ mg}$) contre celle évaluée dans l'extrait aqueux de $79,06 \pm 3,24$ ($\mu\text{g EAG/ mg}$). Ces valeurs restent proches à celles qu'on a trouvées.

Etant donné que, l'évaluation des polyphénols est basée sur une réaction d'oxydo-réduction peut être également considérée comme une méthode permettant d'évaluer l'activité antioxydante (PRIOR *et al.*, 2005). De ce fait, les extraits les plus riches en composés phénoliques peuvent également être considérés comme des agents antioxydants.

4.4. Résultats des paramètres physico-chimiques des matières premières

Les résultats de quelques paramètres physico-chimiques des parties aériennes de notre plante sont résumés dans le tableau ci-dessous. Ils sont présentés sous forme de la moyenne de trois essais.

Tableau VII: Résultats des paramètres physico-chimiques de la plante étudiée.

Paramètres physico-chimiques	Teneurs moyennes
pH à 20°C	5,89 ± 0,028
Humidité (%)	87,03 ± 0,761
Taux de cendres (%)	14,22 ± 0,02
Acidité (%)	44,70 ± 0,90

A partir du tableau ci-dessus, on constate que les feuilles et les tiges de la plante *Anacyclus clavatus* sont très riches en eau et présentent un pH plus au moins acide et aussi elles renferment un taux important en cendres ce qui exprime sa richesse en matière minérale.

4.5. Résultats de l'activité antimicrobienne

Les résultats de cette activité ont montré que l'extrait aqueux de la plante étudiée n'a aucun effet antimicrobien vis-à-vis les deux bactéries (*Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) et la levure *Candida albicans*.

En se basant sur d'autres études ultérieures, nous pouvons conclure que l'activité microbienne de cette plante n'est pas liée aux substances bioactives polyphénols. Cependant, elle est liée principalement à ses huiles essentielles, ce qui est confirmé par Aliboudhar(2013).

4.6. Résultats de l'étude in vivo

4.6.1. Résultat du suivi de la consommation de l'extrait de la plante et l'eau

Les valeurs des volumes moyens des boissons (eau et l'extrait aqueux de la plante) épuisées par les trois lots en fonction du temps sont représentées dans le tableau ci-dessous et la figure 18.

Tableau VIII: valeurs des volumes moyens d'eau et d'extrait de la plante épuisés par les 3 lots de rats (n=6)

Temps de prélèvement (Jours)	Lot 1 (Volume d'eau)	Lot 3 (Volume d'extrait de la plante)	Lot 4 (Volume d'extrait de la plante)
7	82,09±25,33	75,83±17,65	61,66±14,13
15	94,16±63,85	42,00±36,76	47,25±47,97
21	94,5±50,20	87,00±46,66	107,08±6,48
30	135,50±86,95	162,5±102,53	159,67±97,08

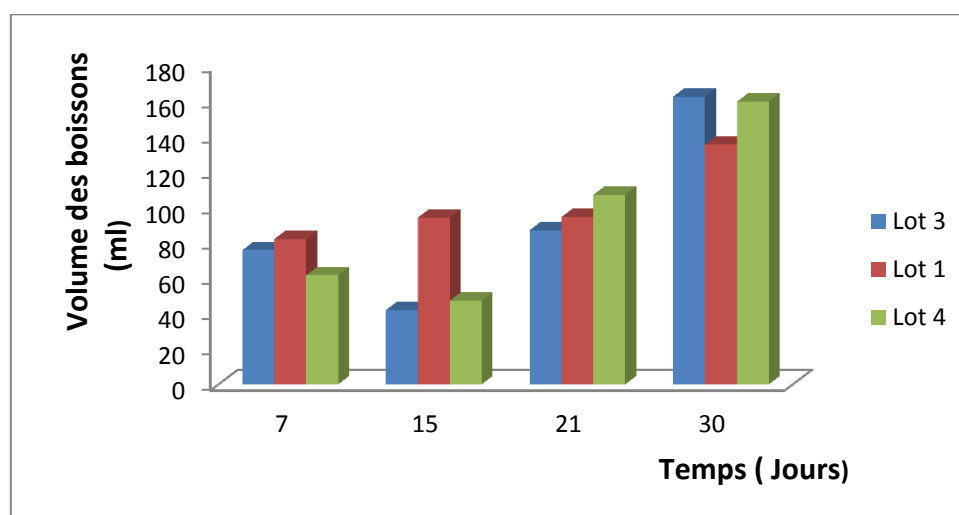


Figure 18: Evaluation des volumes moyens d'eau et l'extrait de la plante épuisés par les trois lots étudiés.

Nous remarquons d'après la figure 18 que, les premiers temps les trois lots ont presque les mêmes taux de consommation de l'extrait de la plante ou l'eau, par la suite la consommation devient plus importante pour les deux lots 3 et 4. Ceci nous confirme que les rats ont bien préféré la plante.

4.6.2. Résultat du suivi de la consommation de l'aliment

La consommation de l'aliment de bétail par les trois lots en fonction du temps est illustrée dans la figure 19.

Tableau IX : Résultat de la consommation de l'aliment par les trois lots durant 1 mois

Temps (Jours)	Lot 3	Lot1	Lot 4
7	47,86±12,43	55,99±19,27	41,94±8,32
14	54,46±7,83	61,83±18,14	54,44±14,22
21	48,56±6,39	56,64±5,11	57,36±23,55
30	61,16±23,61	55,06±19,45	64,8 ±22,72

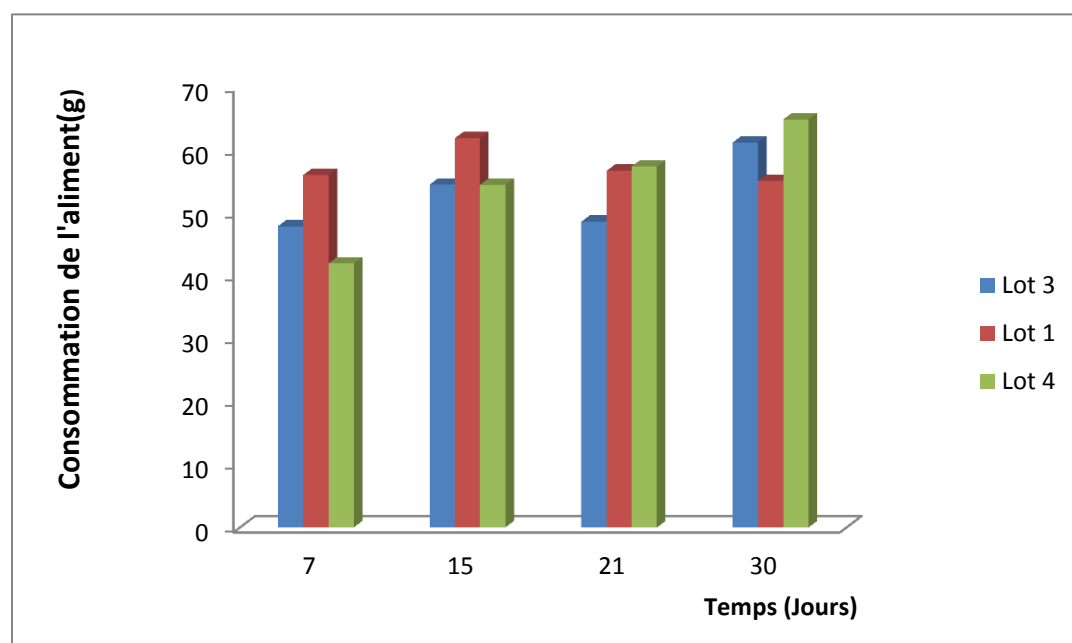


Figure 18 : Evaluation de la consommation de l'aliment par les trois lots de rats

Nous constatons d'après cette figure que, la consommation de l'aliment de bétail par les trois lots est presque similaire et ce durant toute la période d'étude. Les fluctuations observées pourront être expliquées par l'effet physiologique des rats (peut être le stress qu'est lié aux conditions d'hygiène et le milieu environnant).

4.6.3. Résultat du suivi du poids corporel

Les valeurs moyennes de l'évolution des poids des différents lots de rats étudiés sont représentées dans le tableau X et la figure 20.

Tableau X: Variations des poids corporels moyens (g) des trois lots durant 1 mois

Lots	0 jour	7 jours	15 jours	21 jours	30 jours
Lot 1	211,85	254,03	234,96	261,03	261,63
Lot 3	192,28	225,21	202,12	134,6	231,64
Lot 4	204,57	233,66	221,05	243,33	263,24

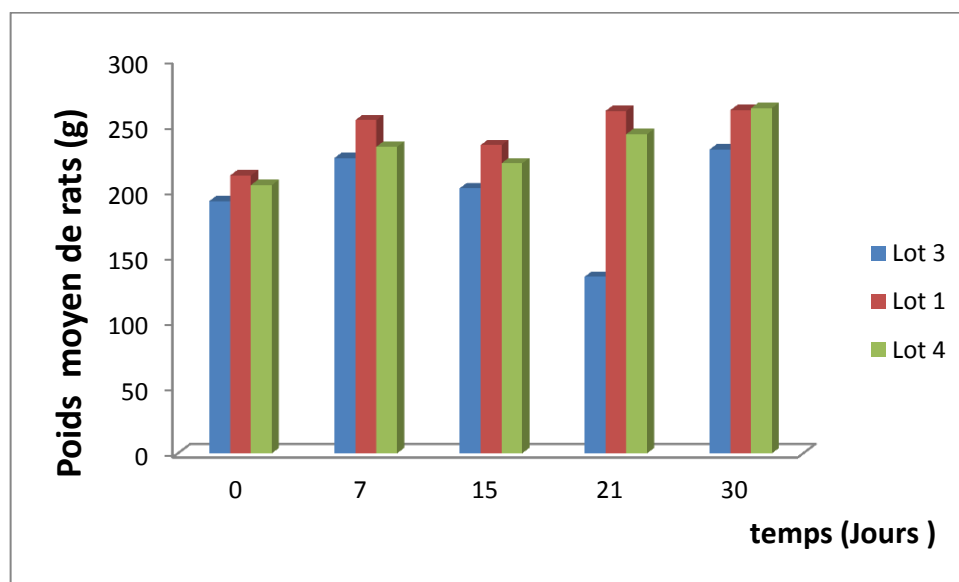


Figure 20 : Évolution des poids corporels moyens (g) chez les rats durant un mois d'expérimentation.

Nous pouvons déduire de cette figure que, les lots des rats traités par la plante (lots 3 et 4) présentent un poids moyens important en comparaison avec le lot témoin négatif (lot 1) durant toute la période d'étude. Cette différence est expliquée par la dose administrée de la plante qu'a un effet sur la prise du poids des rats. De même, nous constatons que cette prise de poids est presque identique avec un taux constant pour les deux lots traités par la plante.

4.6.4. Résultat du suivi de la glycémie

Le suivi de la glycémie nous a donné les résultats représentés dans le tableau suivant:

Tableau N : Variation de la glycémie des lots des rats étudiés durant un mois .

	0	7 jours	15 jours	21 jours	30 jours	Norme médicale
LOT3	0,75±0,15	0,80±0.015	0,68±0.052	0,660.076	0,640±0.19	0,75-1,10
LOT1	0,73±0,29	0,770±0.10	0,81±0,002	0,68±0,18	0,55±0,14	
LOT4	0,72±0.12	0,76±0.052	0,62±0.65	0,57±0.028	0,52±0.29	

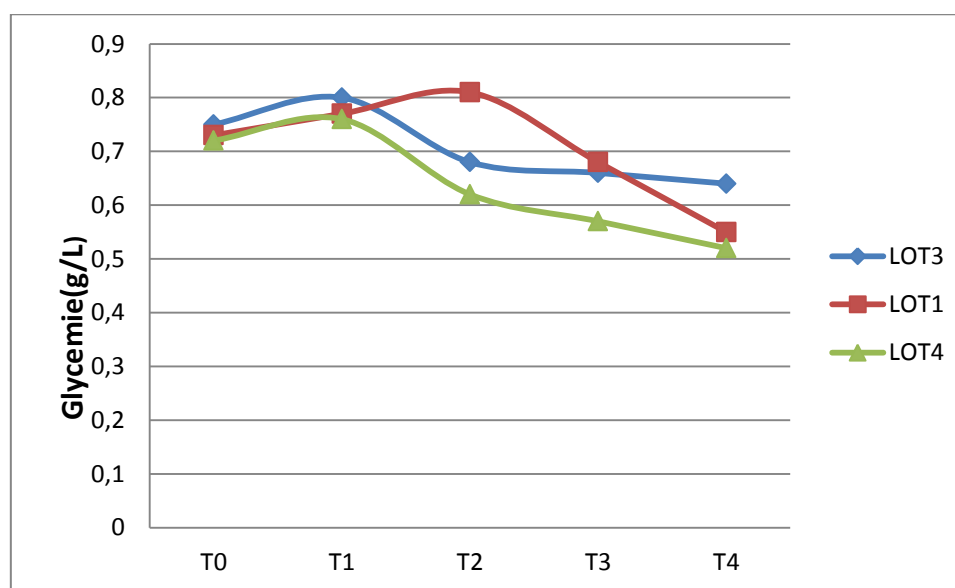


Figure 21 : Variation de la glycémie des lots de rats en fonction du temps.

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré un effet hypoglycémiant pour la plupart des lots des rats étudiés. Ainsi, cette diminution dans le taux de glycémie en comparaison à la norme pourra être expliquée par plusieurs facteurs :

- La plante à un effet hypoglycémiant qui sera intéressant pour les personnes diabétiques mais à une certaine dose précise ;

- L'anesthésie et le stress ;

-Quand le métabolisme lipidique est touché, cela engendrera des répercutions sur le système endocrinien.

4.6.5 Le résultat du suivi de profil lipidique

4.6.5.1 Taux de triglycéride

On remarque une augmentation de la concentration en triglycérides des rats des lots 1 et 3 en comparaison à la concentration initiale avant l'administration de la plante.

Cependant, les rats du lot 1 (témoin négatif) présentent des concentrations plus faibles que celles des rats des autres lots.

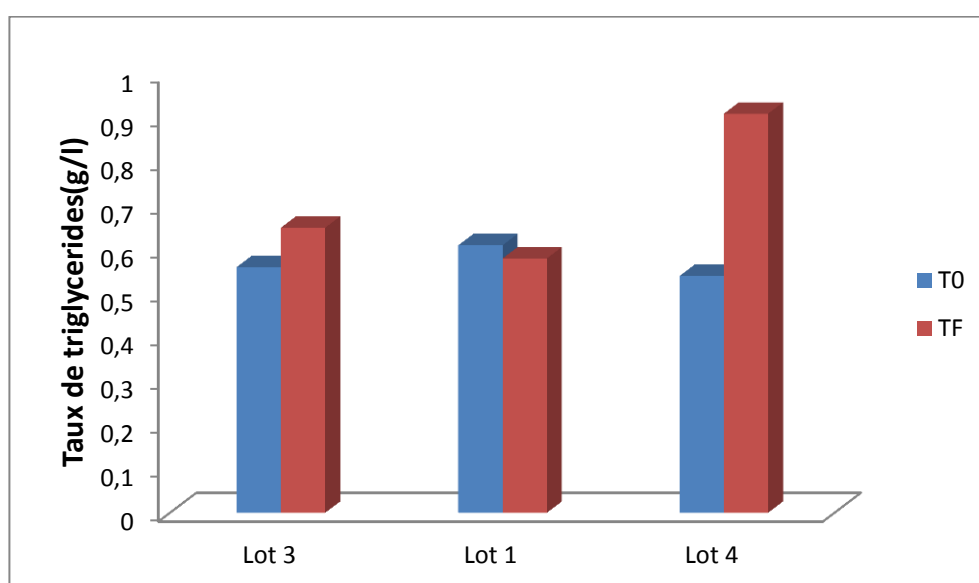


Figure 22 : Variation de Triglycérides des rats en fonction du temps.

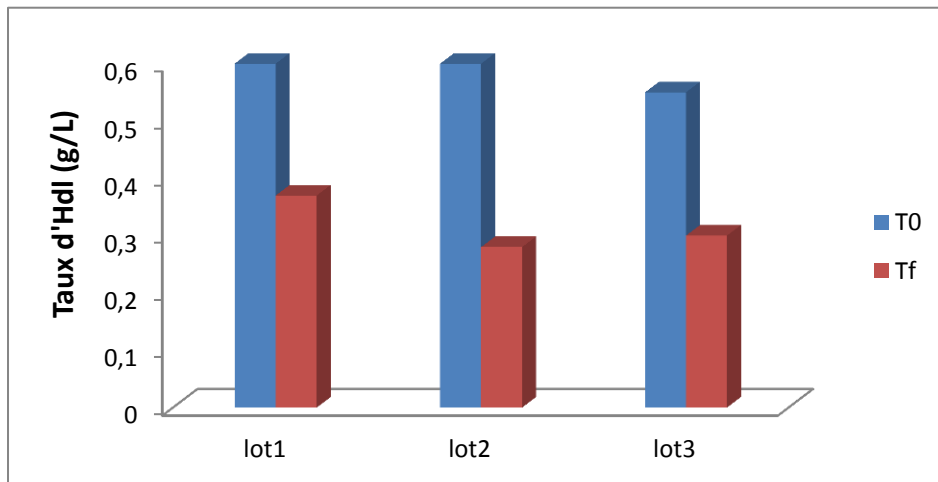
T0=temps initiale ;

Tf : temps final.

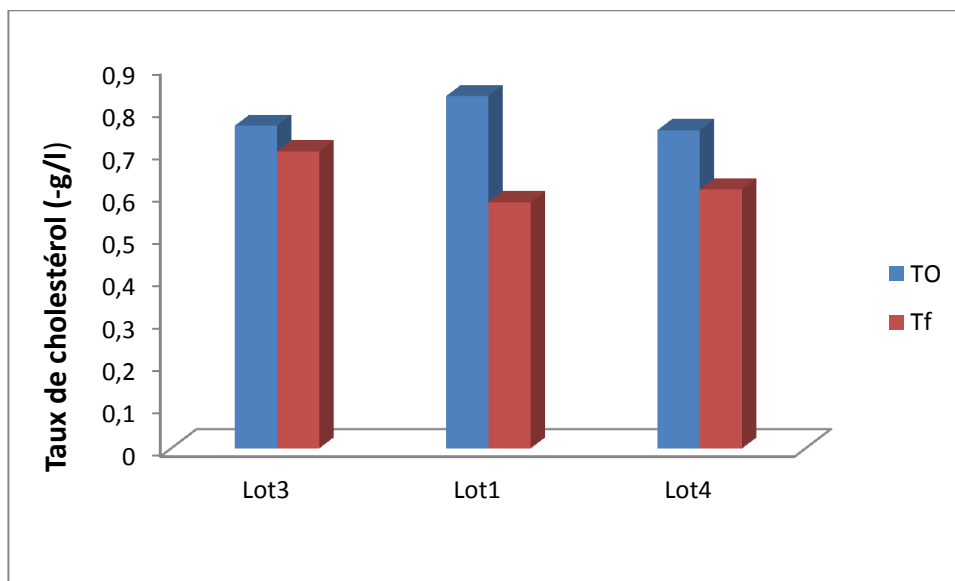
4.6.5.2 Taux du cholestérols et Hdl

En ce qui concerne l'Hdl et les cholestérols les valeurs moyennes de ces marqueurs lipidiques sont représentés sur les figures 23 et 24.

Ces figures montrent une diminution de ces marqueurs lipidiques et ceux pour les trois lots étudiés lipidiques en comparaison aux valeurs initiales.



a) **Figure 23:** Variation de l' Hdl des rats en fonction du temps.

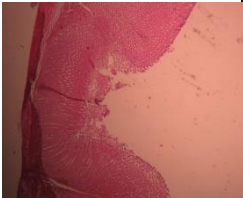
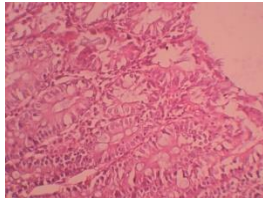
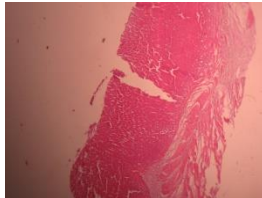
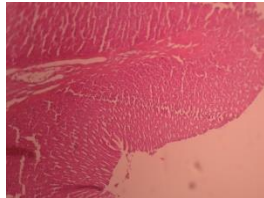

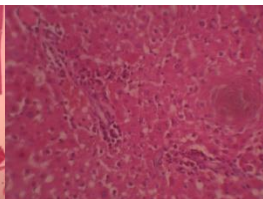
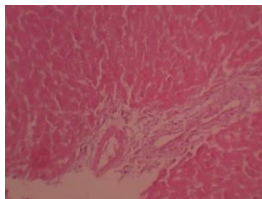
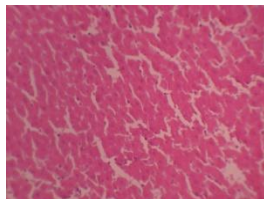
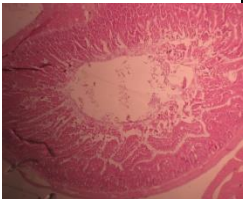
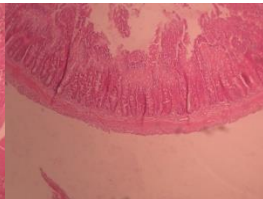
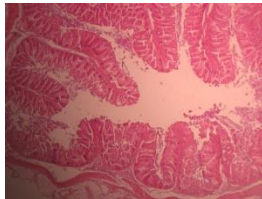
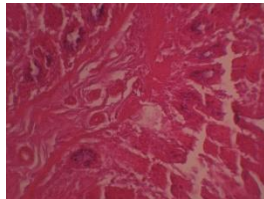
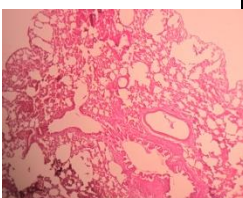
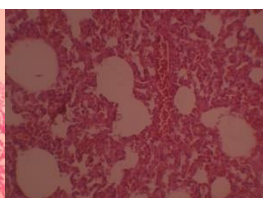
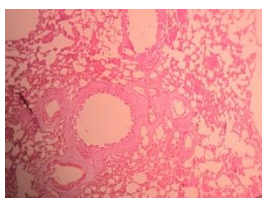
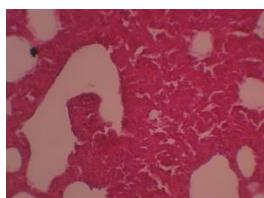


b) **Figure 24 :** Variation de cholestérol des rats en fonction du temps.

4.7 Résultats des coups histologiques

Les résultats des coupes histologiques sont présentés dans le tableau XII.

Tableau XII: résultats des coupes histologiques des organes analysés

Organes	Lot 1(Témoin négatif)	Lot 2 (Témoin positif)	Lot 3 (Inflammé et traité)	Lot 4 (Traité avec la plante)
Estomac				
Foie				
Intestin				
Poumon				

➤ Ces résultats révèlent ce qui se suit :

L'examen macroscopique nous a mis en évidence aucune lésion macroscopiquement significative.

L'examen histopathologie montre que :

Lot 2

➤ **Le foie**

-Infiltration inflammatoire peri portale et intra parenchymateuse minime par des lymphocytes, plasmocytes et polynucléaires neutrophiles.

-hyperplasie des cellules de kupper

➤ **L'intestin**

-Infiltration inflammatoire multifocale minime du chorion par des lymphocytes, plasmocytes, histiocyte, polynucléaires neutrophiles et éosinophiles.

➤ **Les pommons**

Infiltration inflammatoire inter alvéolaire et péri bronchique multifocale modérée par des lymphocytes, histiocytes et polynucléaires neutrophiles et congestion du capillaire inter alvéolaire.

Lot 03

➤ **Poumon**

Infiltration inflammatoire inter alvéolaire diffuse marquée et péri bronchique multifocale par des lymphocytes et histiocytes.

Lot 04

➤ **Poumon**

Infiltration inflammatoire inter alvéolaire diffuse marquée par des lymphocytes, plasmocytes et histiocytes.

➤ **Foie**

Infiltration inflammatoire intra parenchymateuse avec des lymphocytes et des plasmocytes avec hyperplasie des cellules de kupper.

Conclusion

Lot02

-Hépatite multifocale minime subaiguë avec hyperplasie diffuse des cellules de kupper.

-Entérite multifocale minime subaiguë.

-pneumonie broncho interstitielle multifocale modérée subaiguë.

Lot 03

-Pneumonie broncho interstitielle diffuse marquée subaigüe.

Lot 04

-Pneumonie broncho interstitielle multifocale modérée subaigüe.

-Hépatite multifocale minime subaigüe avec hyperplasie diffuse des cellules de kuppfer.

4.7.1 Interprétation des résultats des coupes histologiques**➤ L'estomac**

- l'histologie de l'estomac de tous les lots étudiés ne témoigne aucune anomalie

➤ Intestins

Nous remarquons que l'intestin du témoin positif présente une couleur plus dense au niveau des glandes (villosités), cette couleur révèle la présence des cellules inflammatoires (plasmocytes, histiocytes, polynucléaires, neutrophiles et éosinophiles) suite à la réponse du système immunitaire face à l'agression de cet organe par un agent chimique (les substances toxiques de l'eau poivrée).

Précisément, l'histologie de l'intestin après traitement par la plante montre une amélioration et un retour à l'état normal, la couleur s'éclaircit, on remarque aussi la disparition quasi-totale des cellules inflammatoires.

➤ Poumons

L'histologie des poumons du témoin positif et du lot traité par la plante déclare une inflammation au niveau de la paroi inter – alvéolaire qui s'est épaissie par la présence des cellules inflammatoires. Cette inflammation est expliquée par l'effet d'inhalation des composés aromatiques volatils de la plante ainsi que les conditions d'hygiène au niveau des cages.

➤ Foie

Nous observons au niveau de la coupe de l'histologie du foie du témoin positif et du lot traité par la plante la présence de plusieurs cellules de kuppfer dans les sinusoides plus que d'habitude ainsi que la présence de multiples cellules inflammatoires ceci pourrait être expliqué par la dose administrée aux rats qui est très élevée. En effet, cette dose a induit un effet hépatotoxique qui est due à l'absorption de la plante par le foie sans être métabolisée (effet doses/récepteurs). Ce dernier peut provoquer une insuffisance hépatique (cirrhose du foie).

Pour contrer les effets de cette dose testée, il est intéressant de réaliser d'autres études ultérieures en optimisant la dose à effet thérapeutique.

4.8. Résultats de l'analyse sensorielle des sirops

➤ Le goût

Les résultats de l'analyse sensorielle des sirops élaborés de point de vue goût sont mentionnés dans la figure ci-dessous :

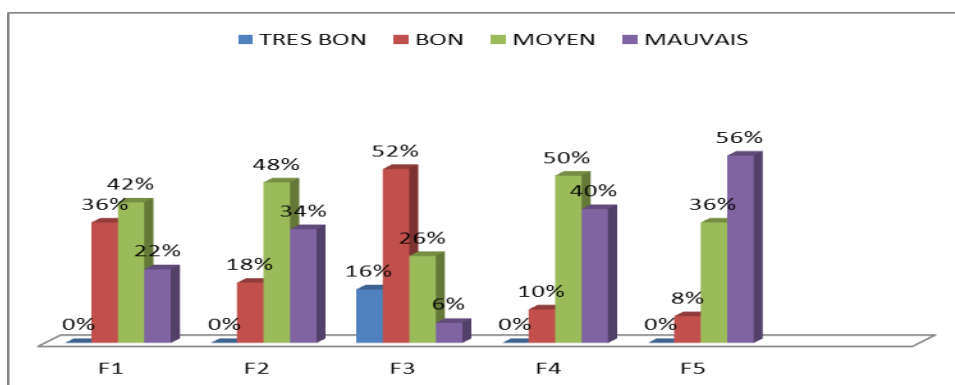


Figure25 : Classement des formulations des sirops selon le goût

D'après la figure ci-dessus, nous constatons que la formulation F3 se distingue des autres formulations par un goût très bon (75% sirop de date, 25% l'extrait de notre plante, 1% jus de citron naturel, 1% zeste de citron), (16%), tandis que la F1 est classée en second lieu (36%), suivi par les formulations F2 et F4 respectivement (18%, 10%), alors que la formulation F5 occupe la dernière classe (8%).

➤ La couleur

Les résultats de l'analyse sensorielle concernant la couleur des sirops élaborés sont mentionnés dans la figure ci-dessous :

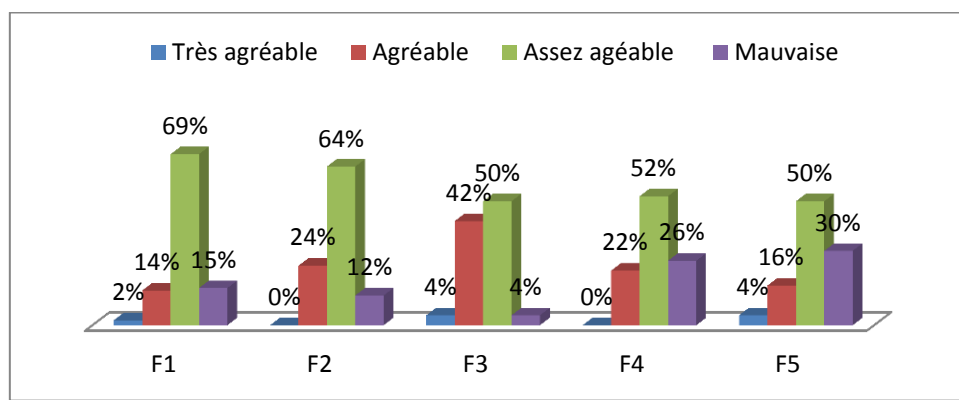


Figure 26 : Classement des formulations de sirops selon la couleur.

La couleur de la formulation F3 est bien appréciée par le panel de dégustateurs qui est de couleur marron clair (42%). Les autres formulations ont été moins appréciées de point de vue couleur.

➤ L'odeur

L'intensité d'odeur des cinq formulations dépend des composés aromatiques constituant les matières premières utilisées. Les résultats du test sensoriel concernant la qualité de l'odeur sont mentionnés dans la figure 27.

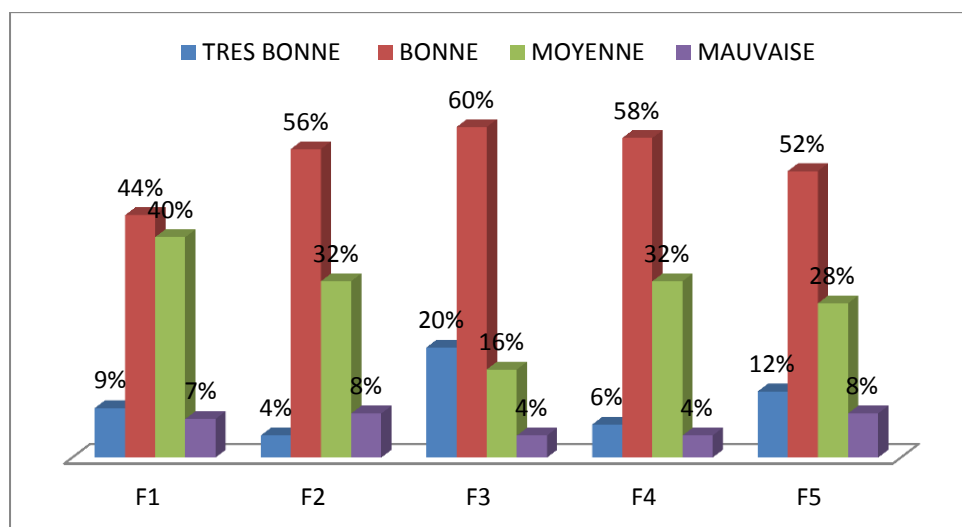


Figure 27: Classement des formulations des sirops selon l'odeur

D'après cette figure la formulation F3 a été appréciée par les dégustateurs, elle plus agréable que les autres formulations.

Nous pouvons conclure de cette partie d'analyse que, la formulation F3 (sirop de dattes (75%) + l'extrait aqueux de la plante + jus de citron naturel (1%) + zeste de citron (1%)) est choisie comme étant la meilleure. Celle-ci est appréciée par les dégustateurs par son très bon goût (goût peu sucré et acide), une apparence très agréable et une très bonne odeur (odeur de citron).

4.9. Analyses portant sur la meilleure formulation

4.9.1 Caractérisation physico-chimique

Les valeurs de la caractérisation physico-chimique de sirop de la meilleure formulation sont portées dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Résultats physico-chimiques du sirop de la meilleure formulation.

Paramètres	pH à 20°C	Acidité titrable (% d'acide citrique)	Degré Brix (%)
Valeurs moyennes	4,50 ±0,014	10 ± 0,35	20 ± 0,70

Il ressort de ce tableau que la formulation F3 est appréciée par son goût acide (pH= 4,50). Cette acidité est due à la présence du jus de citron comme agent de conservation quant au sirop de datte a enrichi le sirop en sucre, la valeur de degré Brix est de 20%.

Il est à signaler que notre plante a un goût amer non sucrée (Brix 0,2%).

Nous pouvons déduire que; la composition des matières premières influe significativement sur la qualité finale de notre sirop.

4.10.Résultats de test de stabilité

Le test de stabilité a révélé que notre sirop est stable de point de vu physico-chimique et microbiologique.



Figure 28 : sirop anti inflammatoire à base d'*Anacyclus clavatus* .

Conclusion

Le travail exposé dans ce mémoire vise à la valorisation d'une plante médicinale et l'établissement d'une pharmacopée Algérienne rénovée par une contribution à l'étude ethnobotanique de cette plante dans la région de Tizi Ouzou.

La plante choisie, *Anacyclus clavatus*, appartient à la famille des astéracées et fait partie des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel des douleurs gastriques dans la région de Tizi Ouzou. Toutefois, elle reste peu étudiée.

L'ensemble des travaux présentés dans ce mémoire s'articule autour de deux parties :

- La première, consacrée à réaliser une enquête ethnobotanique qui nous a permis de collecter un certain nombre d'informations sur la plante, ses parties utilisées, mode d'utilisation et maladie traitées.
- La deuxième partie, constitue une contribution à une meilleure connaissance phytochimique de l'espèce et porte sur l'étude de certaines de ses activités biologiques à savoir l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire.

Dans un premier temps, après identification et description botanique, l'étude expérimentale commence par un criblage phytochimique de la plante et qui a permis de mettre en évidence la richesse de *Anacyclus clavatus* en métabolites secondaires ainsi que sa richesse en polyphénols, produits reconnus pour leurs activités biologiques remarquables. Pour cette raison un sirop Bio anti-inflammatoire à base de l'extrait de cette plante a été élaboré. Par ailleurs, pour l'activité anti-inflammatoire de la plante, des études expérimentales réalisées in vivo sur des rats Wistar ont confirmé la capacité de l'extrait de la plante à traiter les douleurs gastriques. En revanche on a constaté que la dose administrée s'est avérée très élevée, ce qui a provoqué l'inflammation du foie et des poumons.

Les présents résultats obtenus et exposés dans ce mémoire sont encourageants et montrent :

Qu'il pourrait y avoir d'autres plantes locales non exploitées. En effet l'investigation de ces plantes pourrait révéler de nouveaux composés très actifs.

Nous pouvons envisager pour la poursuite de ce travail, quelques perspectives :

- Poursuivre l'analyse de l'huile essentielle pour déterminer l'effet anti bactérien facilitant ainsi la quantification et l'identification des composés minoritaires non encore identifiés.
- Elargir l'étude aux autres parties de la plante (racines et fleurs).

Afin de contribuer à une meilleure connaissance du potentiel anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de la plante , des recherches complémentaires et plus approfondies sont plus que nécessaires pour isoler, purifier et identifier les composés présents dans l'extrait et qui sont susceptibles d'être responsables de cette activité anti-inflammatoire.

On recommande d'administrer aux rats l'extrait de la plante à des différentes doses croissante pour déterminer la dose optimal thérapeutique et chercher la dose létal toxique.

Références bibliographiques

- AFNOR (1986)**. Association Française de Normalisation. Recueil de normes françaises des fruits et produits dérivés-AFNOR, 3 Ed., Paris.
- ALIBOUDHAR H., TIGRINE-KORDJANI N., HANIFI N AND MEKLATI. (2013)**. Volatiles profiling and antioxidant activity evaluation of different parts of a medicinal plant : *Anacyclus clavatus*. J Herbs spices Med Plants, 19, 33-47.
- **ALI-DELILLE L (2010)**. Les plantes médicinales d'Algérie, Edit. BERTI Edition, 64.
- ALIGNAN M. (2006)**. Thèse de doctorat : Phoma du Tournesol: déterminisme de la tolérance de l'hôte à la maladie, Toulouse 3.
- ANDEREW CHEVALIER (2014)**. Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins, 14 ,15-16.
- ANNE S., NOGARET E.** La phytothérapie se soyer par les plantes, 21-23.
- ANYINAM C.(1995)**. Ecology and ethno medicine: exploring links between current environmental crisis and indigenous medical practices. *Social Science and Medicine* 4, 321-329.
- **BABA AISSA F. (1999)**. Encyclopedie des plantes utiles, Edas Edition, Alger.
- BARNARD, D. L., XU, Z.Q., STOWELL, V.D., YUAN, H., SMEE, D.F., SAMY, R., SIDWELL, R.W., NIELSEN,M.K. , SUN, L., CAO,H.,LIA., QUINT, C., DEIGNAN, J., CRABB, J ET FLAVIN,M.T.(2002)**. Coumarines and pyranocoumarins, Potential novel pharmacophores for inhibition of measles virus replication. *Antiviral Chemistry et Chemotherapy*, 39-59.
- BAZZI. L., SALGHIR , ZINE.E , EL ISSAMIS, KERTIT.S, HAMMOUTI.J,2002,505.**
- BENAHMED DJILALI ADIBA, BENAMARA SALEM, SAIDI NABIL, MEKSOUD ABDELHAKIM (2011)**. Preliminary characterization of food tablets from date (*Phoenix dactylifera* L.) and spirulina (*Spirulina* sp.) powders. *Journal. Powder. Technology*. Vol 208, 725-730.
- BENJELALI B., TANTAOUI E.A., ESMAILI-ALAOUI M. (1986)**. Méthodes d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes médicinales et phytothérapie*, 155-167.

-BOIZOT N., AND CHARPENTIER .J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre fougère. Le cahier des techniques de l'Inra (cited in Djemai Zouedglache S, 2008), 79-82.

-BRUNETON, J.(1999). Pharmacognosie, Phytochimie et Plantes médicinales, 3^{ème} Edition, Tec et Doc, Paris.

-CAREME C., BEN BRAHIM N., BEN HARRATH., BLAIECH G., CHEMLI H.,KADRAOUI Y., KABOUCHI H. (1990). Les Adventices des Cultures méditerranéennes en Tunisie, leurs plantules, leurs semences - Ministère de l'Agriculture, Tunis - Administration Gén. de la Coopération au Développement, Bruxelles - Publication agricole n°26, 400.

-CHAN S.W., LEE C.Y., YAP C.F., WAN AIDA W.M. ET HO C.W.(2009). Optimisation of extraction conditions for phenolic compound from limau purut (*Citrus hystrix*) peels.,International Food Research Journal. Volume 16 : 203-213.

-CHIEJ R.(1982). Les plantes médicinales.Ed SOLAR.

-CONSUELO M., COELLOM., DOLORES M.(2002). Effet de la méthode de séchage sur les volatiles en feuilles de laurier (*Laurus nobilis*)-J.Agric Food Chem.,vol150(16),452-454.

-DIALLO, MA.(2003). Contribution à l'étude de la composition en polyphénols de *Tephrosia pedicellata*.back.Mémoire de DEA de chimie et biochimie des produits naturels. Université Cheikh Anta Diop Dakar, Sénégal.

-DJABOU N.(2006). *Sambucus nigra* L., une plante de la pharmacopée traditionnelle nord africain. Thèse de magister en chimie. Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen, 14-15.

-Guide illustré de la flore Algérienne, wilaya d'Alger, Mairie de Paris, avec le soutien du Ministère des affaires Etrangères et Européennes de la république française(2012).

-HAMMAMI S., BEN SALEM A., MASTOURI M., FALCONIERI D., GORCII M., M'HENNIL MF., MARONGIU B AND MIGHRI Z (2013). Essential oil composition and antimicrobial activities of aerial parts from Tunisian *Anacyclus clavatus*(Desf.).J.Med.Plants Res, 71-75.

-HARBONE JB., WILLIAMS CA.(2000). Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry.55, 481-504.

- HAROUNI I., AIDIWANNES W., BETTAIB I., BERRIAMA S., CHIEAHED T.** Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis*.leaves as affected by different drying methods-*foods chemistry .vol.126.691-697,Tunisia.*
- HENNEBELLE T., SAHPAZ S., BAILLEUL F.(2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 3-6.
- HORKINSG.(2003).** *Physiologie végétale. 2éme édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris: 514.*
- Iserin P.** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales (2001), 10 -132 .
- JAKOPIC J, VEBRIC R. & STAMPAR F.(2009).** Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents. *Acta. Agri. Solv.*, 11-15.
- JORCIN J.B** thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse, 2007.
- JULIEN, A.(1894).** Flore de la région de Constantine. Imprimerie Louis Marle, Constantine.
- JULVE, PH., 2015 FF. - BASEFLOR.** Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version : 16 février 2015.
- JUNTACHOTE , T., BERGHOFER, E., SIEBENHANDL, S. , BAUER, F., (2006).** The antioxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. *Meat. Sc, Vol 72, 446-456.*
- KHERBACHE A. (2014).** Thèse de magistère. Propriétés anti-inflammatoire et antixydantes des extraits d'*Anacyclus clavatus*.
- Kunkele, U.,Lobmeyer, R.,(2007).** *Plantes médicinales :identification ,récolte ,propriétés et emplois .33,37-38-39.*
- LAS. (2011).** Le Laboratoire d'Analyse Sensorielle d'Ambatobe- Le laboratoire d'analyse sensorielle pour vos industries agroalimentaire et cosmétique, Direction des recherches technologiques FOFIFA BP 14444,Ambatobe ,Antananarivo 101.
- LEE BH, ANNIS PC, TUMAALII F AND WS CHOI (2004).** Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major storedgraine insects. *J Stored Prod Res.40,553-564.*
- LLOYD,C.G ET U ,J.(1911).** *Botany, Pharmacy and Materia Medica. Bulletin (edit Pharmacy Series),18.*

- MARTIN . A.M. (1997).** Introduction à l'ethnobotanique du Cambodge, 36.
- MICHEL BOTINEAU (2011).** Guide des plantes médicinales, 14.
- NF V 05-113, (1972).** Détermination des cendres totales . Vol 49,n°4,289-298.
- NF V 05-108, (1970).** Produits de l'agriculture. Produits dérivés des fruits et légumes. Détermination conventionnelle du potentiel hydrogène.
- NF V 05-101, (1974).** Produits dérivés des fruits et légumes. Détermination de l'acidité titrable.
- PARDO DE SANTAYANA M AND MORALES R (2010).** Ethnobotany in the new Europe : People, health and wild plant resources. Eds Berghahn Press (Oxford UK), 283-307.
- PEEKING, A., B., HACENE, K., LOKIEC, F., GUÉRIN, P., (1987).** Oligomères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. Artères et Veines, 512-300.
- PRIOR R.L.,WU X. & SCHAICH K. (2005).** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of agricultural and food chemistry, 4290-4302.
- RAMADE.F.(1993).** Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. Ediscience international, 822-247.
- RIMBAU V, RISCO E, CANIGUERAL S AND IGLESIAS J (1999).** Anti-inflammatory Activity of Some Extracts from Plants used in the Traditional Medicine of North-African Countries. phytother Res, 128-32.
- SCHAUENBERG P., FERDINAND PARIS (2005).** Guide des plantes médicinales,analyse,description et utilisation de 400 plantes, Edit. delachaux et niestlé ,8.
- SELLES C, DID MA, ALLALI H AND TABTI H AND TABTI B. (2012).** Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of solvent extracts of Anacyclus pyrethrum L., from Algeria. Mediterr J Chem, 408-415.
- SINGLETON V.L., ORTHOFER R., AND LAMUELA- RAVENTOS R.M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent. Method.Enzymol, 152-178.
- SOFOWORA A., (2010).** Les plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique 2ème ED. Kharatala. Suisse,171.

-SOPHIE A., EHERHART N. (2003), La phytothérapie se soigner par les plantes, 21-23.

-SPICHIGUER.R.E.,SAVOLAIMEN. V., FIGEAT. M., JCANMONOD. D., PERRET. M. (2004).

--UTE K ., TILL R (2001). Plantes médicinales :identification ,récolte ,propriétés et emplois .ML éditions,paris, 33,37-39.

-VOLACK J., (1983). Les plantes médicinales. Ed Guinde, 283.

-Wikipedia: www.Wikipedia.fr

-YI-QUN Y., XIA D., YI-CHANG J., CHUAN –XIN H., YI-ZHENG W AND YING-HUI X. (2008). Anti-tumoreffect of B-elemene in glioblastomacellsdepends on p38 MAPK activation. Cancer Lett. 264,127-134.

Annexe 1

Enquête ethnobotanique sur la plante « *Anacyclus Clavatus* »



• Localité :

• Sexe : Femme Homme

• Age :

• Niveaux intellectuel :

• Utilisation de la plante :

Plante médicinale plante cosmétique plant toxique

• Parties utilisés :

Feuille Tige Racine

Fleur Grain Fruit

• Mode d'utilisation :

Infusion macération décoction re

Cataplasme

- **Administration :**

Application locale Voie orale Bain

- **Maladies traitée par la plante :**

Contusion

Carie dentaire

Blessure

Douleurs rhumatismales

Nervosité de la ménopause

Traitement des ongles

Stomachique

Hémorroïdes

Anxiété

Annexe 2

Préparation des milieux de cultures utilisées lors des tests microbiologiques

1. Milieu Muller-Hinton

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit : Dissoudre 19g de la gélose Muller-Hinton dans 500ml d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

2. Gélose nutritive

Utilisée pour le repiquage des bactéries, pour cela dissoudre 4.6g de la gélose nutritive dans 200ml d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu en inclinant les tubes à essais puis laisser refroidir.

3. Sabouraud

Dissoudre 32.5g dans 500ml d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu en inclinant les tubes à essais.

4. Eau physiologique

Dissoudre 4.5g de Na Cl dans 500ml d'eau distillée. Bien agiter le mélange pendant 5 minutes jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°.

Annexe 3

Analyses sensorielles des sirops élaborés

Gout

Qualités Formulations	Très bon	bon	moyen	Mauvais
F1				
F2				
F3				
F4				
F5				

Couleur

Qualités Formulations	Très agréable	agréable	Assez agréable	Mauvaise
F1				
F2				
F3				
F4				
F5				

ODEUR

Qualités Formulations	Très bonen	bonne	Moyenne	Mauvaise
F1				
F2				
F3				
F4				
F5				

Annexe 4

Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols totaux

Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats de l'absorbance à différentes concentrations sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau I : résultats de l'absorbance de l'acide gallique

Concentration mg/ml	50	100	150	200
Absorbance	0.48	0.90	1.30	1.80

La figure ci-dessous représente la courbe étalon obtenu :

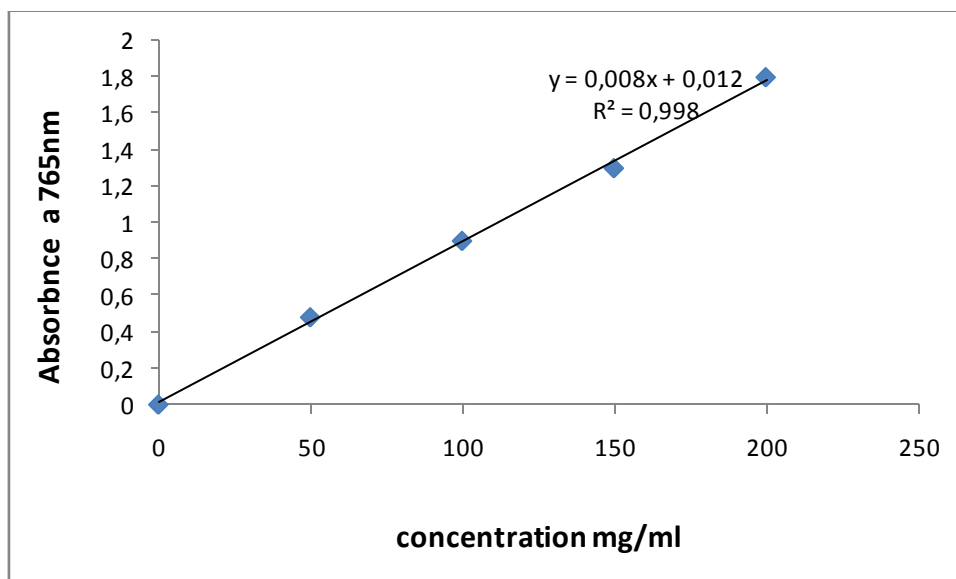


Figure 1 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Résumé

Ce travail entre dans le cadre de la valorisation et caractérisation de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus*, plante médicinale appartenant à la famille des astéracées utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne et conseillée pour le soulagement des maux gastriques.

De ce fait, notre étude a porté sur la recherche de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait de la plante sur des rats Wistar chez qui on a provoqué préalablement une inflammation des intestins. Pour cette raison un sirop Bio à base de l'extrait de cette plante a été élaboré.

Un screening phytochimique a été réalisé, les résultats ont révélé la présence de différents composés secondaires : flavonoïdes, alcaloïdes et tanins... Les extraits organiques ont été obtenus par macération en utilisant deux solvants : eau distillée et l'éthanol. La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée, elle est de 63 et 186 mg EAC/g Ps dans les extraits aqueux et éthanoïques respectivement.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire chez les rats traités qui ont reçu chaque jour par gavage une dose de 10g/100 ml de l'extrait de plante, les résultats obtenus de l'analyse histologique montrent que la plante possède un effet anti-inflammatoire. A cet effet aucune lésion n'a été signalée au niveau des intestins après traitement par la plante.

Cependant nous avons constaté que la dose administrée s'est avérée très élevée, ce qui a provoqué l'inflammation du foie et des poumons. En conclusion, il est démontré que l'extrait de la partie aérienne d'*Anacyclus clavatus* utilisé à des faibles doses sous forme d'un sirop possède des propriétés anti-inflammatoires bienfaisantes.

Mots clés : *Anacyclus clavatus*, activité anti-inflammatoire, composés secondaires, rats Wistar,

Summary

This work is part of the valuation of the aerial part of *Anacyclus clavatus*, medicinal plant belonging to the asteraceae family used in the Algerian traditional medicine and recommended for the relief of stomach ailments.

Therefore, our study focused on research and anti-inflammatory effects of the extract of the plant on Wistar rats that have been caused inflammation of the intestines. For this reason, a Bio syrup made from this plant was developed.

A phytochemical screening was realized, the results revealed the presence of different secondary compounds : flavonoid, alkaloids and tanins. The organic extracts were obtained by maceration using two solvents : distilled water and ethanol. The

total content of one phenolic compound was determined, it is 63 and 186 mg EAC/g in the aqueous extracts and respectively.

The study of the anti-inflammatory activity in treated rats that received daily by gavage a dose of 10 g/100 ml of the plant extract, the results of histological analysis shows that the plant has an anti-inflammatory effect. To this end, no injury was reported in the intestines after treatment.

However, it was found that the administered dose proved to be very high, causing inflammation of the lung and time. In conclusion, it is shown that the extract of the aerial part used at low doses has beneficial anti-inflammatory properties.

Keywords: *Anacyclus clavatus*, anti-inflammatory, drug activity, active ingredients, syrup bio, Wistar rat.