

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie appliquée*

### THEME

---

**Evaluation de l'activité antioxydante et l'effet inhibiteur  
sur l'uréase de quelques plantes médicinales locales.**

---

**Présenté par :**

LOUBAQUI Fatima zahra

BENMILOUD Khadidja

**Devant le jury :**

**Président(e) :** GOUZI Hicham

Professeur

**Rapporteur :** BOUKEROUIS Djoudi

Maitre assistant A

**Examineur(ric)e :** ZEKHROUF Zohra

Maitre assistant A

**Soutenu publiquement le :02/07/2019.**

## Remerciements

*D'abord nous tenons à remercier, le bon dieu de nous avoir donné la force, le courage et la volonté pour réaliser et accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promoteur **M. BOUKEROUIS**. D d'avoir accepté de nous encadrer. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Veuillez trouver ici l'expression*

*Nous tenons aussi à remercier Mme **YOUSS. F** de l'université de Bejaia pour nous aider dans la réalisation de ce travail en nous orientant surtout dans la partie de l'inhibition de l'urease. de notre respectueuses considérations et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.*

*Nos Remerciements vont également à **M. GOUZI** pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance .*

*Nous adressons nos remerciements à **Mme ZAKHROUF** pour avoir acceptée d'examiner ce travail.*

*Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin a la réalisation de ce travail.*

## Dédicaces

*À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le a tracé le a  
tracé le chemin de  
ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

- *À mes chers parents*

- *À ma famille*

- *À mes amis*

## Dédicaces

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le a tracé le a  
tracé le chemin de  
ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

- *A mes chers parents*

- *A ma famille*

- *A mes amis*

## **Evaluation de l'activité antioxydante et l'effet inhibiteur sur l'uréase, des extraits de quelques plantes médicinales locales et prédiction de leur mode d'action *in silico*.**

**Résumé :** La présente étude nous a permis, de comparer les teneurs en polyphénols, flavonoïdes ainsi que l'activité antioxydante (activité antiradicalaire de DPPH et d'ABTS<sup>+</sup>) et antiulcéreuse (ulcère causé par *H. Pylori*) des extraits des quatre plantes : *Crataegus azarolu* ; *Lonicera implexa* ; *Rhamnus alaternus* et *Cistus albidus*. Les résultats montrent que l'extrait de *C. albidus* représente la teneur la plus élevée en polyphénols (384,22 mg EAG/g) et en flavonoides (188,47 mg ER/g) suivi par *C.azarolu* et les deux autres plantes. L'effet anti DPPH et anti ABTS des extraits à 100 µg/ml est variable d'une plante à une autre, *C. albidus* a montré un pourcentage assez important avoisinant une moyenne de 94.91%, L'extrait de *C. azarolus* a manifesté un effet moyen, alors que, les extraits correspondants à *R. alaternus* et *L. implexa* ont montré des pourcentages très faibles. L'évaluation de l'activité inhibitrice sur l'enzyme uréase a montré que *C. albidus* est très efficace pour son pouvoir inhibiteur vis-à-vis de l'enzyme uréase en réduisant 5 fois son activité en comparaison au témoin positif (sans inhibiteur), alors que *C.azarolu* présente une inhibition moyenne et *R. alaternus* et *L. implexa* se sont montrés de faible activité inhibitrice. L'IC<sub>50</sub> de l'extrait de feuilles de *C.albidus* a été estimée à 77.56 µg/ml, alors que pour l'acide borique l'IC<sub>50</sub> est estimée à 175µg/ml ; soit disant deux fois inférieure à celle de l'acide borique. La prédiction de mode d'action *in silico* de certaines molécules isolées de feuilles de *C. albidus* montre que deux molécules : la quercetin-3-O-rutinoside et quercetin-3-O-rhamnoside ont des docking scores de -9.0 (kcal/mol) et -8.7 (kcal/mol) respectivement. Il est supposé, que l'effet inhibiteur de ces molécules s'exerce sur l'enzyme en occupant un site de liaison proche de site catalytique de l'uréase.

**Mots clés :** Plantes médicinales ; polyphénols ; DPPH ; ABTS ; activité anti-oxydante ; activité anti-ulcéreuse.

## **Evaluation of the antioxidant activity and the inhibitory effect on urease, extracts of some local medicinal plants and prediction of their mode of action *in silico*.**

**Abstract:** The present study allowed us to compare the containment ratios of four plant extracts: *Crataegus azarolu*; *Lonicera implexa*; *Rhamnus alaternus* and *Cistus albidus* for polyphenols and flavonoids as well as the antioxidant and antiulcer activity (ulcer caused by *H. Pylori*). The results showed that the extract of *C. albidus* represents the highest content of polyphenols (384.22 mg EAG / g) and flavonoids (188.47 mg ER / g) followed by *C. azarolu* and the two other plants . The anti-DPPH and anti-ABTS effect of the extracts at 100 µg / ml differ from one plant to another, while *C. albidus* showed a high percentage averaging 94.91%. The extract of *C. azarolu* showed a mean effect, whereas the extracts corresponding to *R. alaternus* and *L. implexa* exhibited very low percentages. The evaluation of the inhibition activity on the urease enzyme indicated that *C. albidus* is very effective by reducing its activity 5 times compared to the positive control (without inhibitor ), while *C. azarolu* has moderate inhibition and it was improved that *R. alaternus* and *L. implexa* had a low inhibitory activity. The IC<sub>50</sub> of leaves extract of *C. albidus* has been estimated at 77.56 µg / ml, whereas for boric acid the IC<sub>50</sub> is estimated at 175 µg / ml. The prediction *in silico* of action mode of certain isolated molecules from *C. albidus* shows that two molecules: quercetin-3-O-rutinoside and quercetin-3-O-rhamnoside have docking scores -9.0 (kcal / mol) and -8.7 (kcal / mol) respectively. It is expected that the inhibitory effect of these molecules is exerted on the enzyme by occupying site close to catalytic binding site of the urease.

**Key words:** Medicinal plants; polyphenols; DPPH; ABTS; antioxidant activity; anti-ulcer activity.

## تقييم نشاط مضادات الأكسدة والتأثير المثبط على Urease لمستخلصات بعض النباتات الطبية المحلية والتنبؤ بأسلوب عملها *in silico*.

**ملخص :** سمحت لنا هذه الدراسة بمقارنة نسب احتواء مستخلصات أربعة نباتات : *Crataegus azarolu* ; *Rhamnus alaternus* ; *Lonicera implexa* و *Cistus albidus* على مادة البوليفينول ، والفلافونويدات وكذلك مقارنة نشاطها المضاد للتأكسد (النشاط المضاد للجذرين لـ DPPH و ABTS) و مقارنة النشاط المضاد للالتهاب المعدي (القرحة الناتجة عن *H. Pylori* . أظهرت النتائج أن مستخلص *C. albidus* يمثل أعلى نسبة من البوليفينول (384.22 ملغ / غ) والفلافونويد (188.47 ملغم / غ) متبوعاً *C. azarolu* والنبتين الآخرين . يختلف التأثير المضاد لـ DPPH ومضاد ABTS للمستخلصات عند 100 ميكروغرام / مل من نبات لآخر ، فيما أظهرت *C. albidus* نسبة عالية بمتوسط 94.91 %، أظهر مستخلص *C. azarolu* تأثير متوسط في حين أن المستخلصات الأخرى لـ *R. alaternus* و *L. implexa* أظهرت نسباً منخفضة جداً. أظهر تقييم النشاط المثبط على إنزيم Urease أن *C. albidus* فعال جداً لقوته المثبطة ضد الإنزيم و تقليل نشاطه 5 مرات مقارنةً بنشاطه بدون مثبط ، في حين أن *C. azarolu* لديها تثبيط معتدل و *R. alaternus* و *L. implexa* ثبت أن لديهم نشاط مثبط منخفض. تم تقدير IC<sub>50</sub> من مستخلص أوراق *C. albidus* عند 77.56 ميكروغرام / مل ، في حين أن حمض البوريك يقدر IC<sub>50</sub> بـ 175 ميكروغرام / مل أي مرتين أقل من حمض البوريك. يظهر التنبؤ عن طريق المحاكاة بالحاسوب (*in silico*) لبعض جزيئات معزولة من أوراق *C. albidus* أن الجزيئين -3-O-*la quercetin* : *rutinoside et quercetin-3-O-rhamnoside* يحتويان على التحام جزيئي يتألف 9.0- (سعر حراري / مول) و 8.7- (سعر حراري / مول) على التوالي. من المفترض أن التأثير المثبط لهذه الجزيئات تمارس على الإنزيم عن طريق احتلال موقع قريب من الموقع التحفيزي لـ *uréase*.

**كلمات مفتاحية :** النباتات الطبية ، البوليفينول ، ABTS ; DPPH ;النشاط المضادة للأكسدة , نشاط مضاد للقرحة .



# *Sommaire*

## Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
INTRODUCTION.....	01
<b>PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<i>Chapitre I : Phytothérapie et composés phénoliques</i>	
I.1. La phytothérapie .....	03
I.1.2. Différents types de la Phytothérapie .....	03
I.1.3. Les avantages de la phytothérapie.....	04
I.1.4. Les risques associés à la phytothérapie.....	04
I.1.5. Des exemples de composés de plantes actuellement en essais cliniques .....	05
I.1.6. Les médicaments à base des plantes médicinales.....	05
I.2. Généralité sur les métabolites secondaires .....	07
I.3. Les composés Polyphénols .....	07
I.3.1. Acides phénoliques simples .....	07
I.3.2. Quinones .....	09
I.3.3. Tannins .....	09
I.3.4. Coumarines .....	10
I.3.5. Lignanes. ....	10
I.3.6. Flavonoïdes .....	10
I.3.7. Stilbènes .....	11
I.3.8. Anthocyanes .....	11
<i>Chapitre II : Activité antioxydante et antiulcéreuse des polyphénols</i>	
II. Activité biologique des composés phénoliques .....	12
II.1. Activité contre le stress oxydatif.....	12
II.1.1. le stress oxydatif.....	12
II.1.2. Origine du stress oxydatif.....	12
II.1.3. Les radicaux libres.....	12
II.1.4. Activité antioxydante des composés phénoliques.....	13
II.2. Activité antiulcéreuse.....	15
II.2.1. Ulcère de l'estomac.....	15
II.2.2. Facteurs favorisant l'apparition d'un ulcère .....	15
II.2.2.1. Infection par <i>Helicobacter pylori</i> .....	16
II.2.2.2. Uréase comme élément causale de l'ulcère provoqué par <i>H. pylori</i> .....	17

II.2.3. Thérapeutiques de l'ulcère .....	19
II.2.3.1. Eradication de l'Helicobacter pylori .....	19
II.2.3.2. Traitements antiulcéreux .....	20
II.2.3.3. Traitement naturel .....	20
II.3. Polyphénols en tant que des inhibiteurs de l'uréase.....	20

## **PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE**

### *Chapitre III : Matériels et méthodes*

III.1. Matériels végétal.....	23
III.1.1. Les plante étudiée .....	23
III.1.2. Récolte et séchage.....	25
III.1.3. Broyage et extraction .....	25
III.2. Dosage des composés phénoliques.....	25
III.2.1. Dosage des phénols totaux.....	25
III.2.1.1. Principe de la méthode .....	25
III.2.1.2. Protocole expérimental.....	26
III.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	26
III.2.2.1. Principe de la méthode.....	26
III.2.2.2. Protocole expérimental .....	27
III.3. Evaluation de l'activité antioxydante .....	27
III.3.1. Test anti-DPPH.....	27
III.3.1.1. Principe de la méthode.....	27
III.3.1.2. Protocole expérimental.....	27
III.3.2. Test ABTS.....	28
III.3.2.1. Principe de la méthode.....	28
III.3.2.2. Protocole expérimental.....	28
III.4. Etude de l'effet inhibiteur de nos extraits sur l'uréase .....	28
III.5. Analyse de docking moléculaire.....	29

### *Chapitre IV : Résultats et discussions*

IV.1. Résultats de dosage des composés phénoliques .....	30
IV.1.1. Teneur en phénols totaux .....	30
IV.1.2. Teneur en flavonoïdes .....	31
IV.2. Evaluation de l'activité antioxydante .....	32
IV.2.1. Test anti-DPPH .....	33
IV.2.1.1. Résultats de l'activité anti-DPPH des extraits à 100 µg/ml.....	33
IV.2.1.2. Résultats de l'activité anti-DPPH en fonction de la concentration des extraits.. .....	34
IV.2.2. Test anti-ABTS .....	35

IV.2.2.1. Résultats de l'activité anti-ABTS des extraits à 100 µg/ml .....	35
IV.2.2.2. Résultats de l'activité anti-ABTS en fonction de la concentration des extraits .....	36
IV.3. Corrélation entre l'activité antioxydante et teneur en phénols totaux .....	38
IV.4. Activité inhibitrice anti-uréase .....	38
IV.4.1. Activité inhibitrice anti-uréase à la concentration de 500µg/ml.....	38
IV.4.2. Activité inhibitrice anti-uréase à différentes concentrations des extraits de plantes.....	39
IV.5. Prédiction de mode de mécanisme d'action <i>in silico</i> de certaines molécules isolées de feuilles de <i>C. albidus</i> .....	40
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	42

REFERENCES

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Squelette de base des flavonoïdes.	10
<b>02</b>	Structure des différentes sous classes des flavonoïdes.	11
<b>03</b>	Mécanisme moléculaire de l'effet anti-radicalaire des flavonoïdes.	14
<b>04</b>	Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques.	14
<b>05</b>	Classification anatomo-pathologique des pertes de substance gastrique	15
<b>06</b>	<i>Helicobacter pylori</i>	17
<b>07</b>	Structures conservées des uréases	19
<b>08</b>	Exemples de flavonoïdes avec effet inhibiteur sur l'uréase	22
<b>09</b>	photo de <i>Crataegus azarolu</i>	23
<b>10</b>	Photo de <i>Lonicera implexa</i> .	23
<b>11</b>	Photo de <i>Rhamnus alaternus</i> .	24
<b>12</b>	Photo de <i>Cistus albidus</i> .	24
<b>13</b>	Courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique.	30
<b>14</b>	Courbe d'étalonnage réalisée avec la rutine pour estimer la teneur des extraits des plantes en flavonoïdes.	31
<b>15</b>	Histogramme des activités anti-DPPH des extraits à 100 µg/ml.	33
<b>16</b>	Effet anti-DPPH en fonction de la concentration des extraits de feuilles de <i>Cistus</i> et <i>Crataegus</i> .	34
<b>17</b>	Effet anti-ABTS des extraits des plantes à 100 µg/ml.	36
<b>18</b>	Effet de l'activité anti-ABTS des extraits à différentes concentrations.	37
<b>19</b>	Effet inhibiteur sur l'uréase des extraits des plantes à 500µg/ml.	38
<b>20</b>	Effet inhibiteur sur l'uréase des extraits des plantes à différentes concentrations.	40
<b>21</b>	Prédiction de mécanisme moléculaire de la quercetin-3-O-rutinoside et quercetin-3-O-rhamnoside	41

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
I	Quelques médicaments dérivés des plantes médicinales dans le monde.	06
II	Principaux acides hydroxybenzoïques	08
III	Principaux acides hydroxycinnamiques .	08
IV	Teneur en phénols totaux des extraits des plantes.	30
V	Teneur en flavonoïdes des extraits des plantes.	32
VI	valeurs des IC <sub>50</sub> (µg/ml) de l'activité anti-DPPH.	35
VII	valeurs des IC <sub>50</sub> (µg/ml) de l'activité anti-ABTS.	37
VIII	corrélacion entre l'activité antioxydante et teneur en phénols totaux.	38

## Liste d'abréviations

<b>ABTS</b>	Acide 2,2'-azino-(3-éthylBenzothiazoline)-6-Sulfonique.
<b>AINS</b>	Anti-inflammatoire non stéroïdiens.
<b>ATPase</b>	Adénosine triphosphate synthase.
<b>DPPH</b>	2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle.
<b>EAG</b>	Equivalent en Acide Gallique.
<b>ERO</b>	Espèces Réactives de l'Oxygène.
<b>HP</b>	<i>Helicobacter pylori</i> .
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration causant une inhibition de 50% d'une activité.
<b>IPP</b>	Inhibiteurs de la pompe à proton.
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	Facteur nucléaire Kappa B.
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé.
<b>ORAC</b>	Oxygen Radical Antioxidant Capacity.
<b>PDB</b>	Protein data bank.
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Tumor Necrosis Factor $\alpha$ .
<b>Vac A</b>	Vacuolating cytotoxin A.
<b>VIH</b>	virus de l'immunodéficience humaine.
<b>VHC</b>	Virus de l'hépatite C.



# *Introduction*

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs. Leur utilisation en phytothérapie connaît de nos jours un intérêt sans précédent. En Algérie, les plantes médicinales et les remèdes n'ont jamais été totalement abandonnés et les gens n'ont pas cessé de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir une tradition thérapeutique vivante malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne.

L'action thérapeutique des plantes médicinales utilisées en phytothérapie sont associées en générale à leur contenu en molécules bioactives. Ces molécules sont désignées par le terme métabolites secondaires tels que les polyphénols qui en constituent une classe importante. Une des activités biologiques les plus reconnues à cette classe de composés est l'activité anti-oxydante. Cette activité permet de lutter contre le phénomène de stress oxydant qui est largement documenté pour être à l'origine de plusieurs pathologies chronique de notre époque. Grace à cette propriété, les composés phénolique notamment les flavonoides, sont affirmés pour réduire le risque des maladies cardio-vasculaires (**Griendling et Gerald, 2003 ; Valko *et al*, 2007**) et prévenir les cancers (**Guy *et al*, 2000**).

Une autre vertu thérapeutique, des plantes médicinales, via leur composés phénoliques exercent un effet contre l'ulcère gastrique ; un des problèmes de santé publique causé en générale par *Helicobacter pylori*. Leur mode d'action anti-ulcéreux semble être exercé par l'inhibition de l'enzyme uréase ; une enzyme secrétée par *H. pylori* pour lui permettre de s'adapter aux conditions de pPH acide de suc gastrique.

Dans le but mettre en valeur quelques plantes médicinales sélectionnées sur la base de leur utilisation par les populations locales en Algérie, nous avons vise à étudier certaines propriétés biologiques, de leurs composés phénoliques et les flavonoïdes, à savoir l'activité antioxydant, et anti-uréase. Ces plantes sont : *Cistus albidus*, *Crataegus azarolus* ; *Lonicera implexa* ; *Rhamnus alaternus*.

Pour ce faire, notre travail sera donc réparti en quatre partie, il a été convenu de commencer par la présentation de la partie bibliographique qui porte sur deux chapitres : le premier chapitre est un abrégé sur la phytothérapie et les composés phénoliques, dans le deuxième chapitre nous s'intéressons aux activités biologiques des compose phénoliques

à savoir l'activité antioxydante et l'effet antiurée. La deuxième partie porte sur la procédure expérimentale menée où les détails de la procédure de l'extraction, la quantification des composés phénolique ainsi que les activités biologiques. Les activités testées sont : activité anti-radicalaire sur DPPH et ABTS ainsi que l'inhibition de l'uréease Jack-bean.

La troisième partie du mémoire sera consacrée à la présentation de l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent. En fin, on termine, ce travail, par une conclusion générale et perspective de cette étude.

A decorative graphic consisting of a light gray rectangular banner with wavy, ribbon-like edges on the top and bottom. The banner is centered horizontally and contains the chapter title in a black, italicized serif font.

*Chapitre I : Phytothérapie et  
composés phénoliques*

## I.1. La phytothérapie

La phytothérapie est l'une des formes les plus anciennes de soins de santé connue de l'humanité. L'utilisation de plantes à des fins curatives a été répandue dans toutes les cultures tout au long de l'histoire et continue de jouer un rôle dans la médecine d'aujourd'hui (**Goldberg, 1999**). La « phytothérapie » signifie la thérapie par les plantes ayant des propriétés thérapeutiques que l'on appelle alors plantes médicinales (**Medjdoub, 2006**). Les origines de l'utilisation thérapeutique de la phytothérapie remontent à la Chine il y'a environ 5000 ans.

Les extraits de plusieurs plantes ont été utilisés comme médecine traditionnelle dans le monde entier et de nombreux médicaments prescrits par les médecins sont soit directement isolés de plantes ou commercialement modifiés de produits naturels (Wang et al., 2007). Dans la médecine contemporaine, les phytothérapies représentent près d'un tiers des médicaments commerciaux (**Strohl, 2000**).

### I.1.2. Différents types de la Phytothérapie

- **Aromathérapie** : est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau (**Strang, 2006**).
- **Gemmothérapie** se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules (**Strang, 2006**).
- **Herboristerie** correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale (**Strang, 2006**).
- **Phytothérapie pharmaceutique** utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats (**Strang, 2006**).

### I.1.3. Les avantages de la phytothérapie

Malgré les progrès, la phytothérapie a préservé sa popularité quel que soit dans les pays en développement, où la pauvreté oblige aux populations l'utilisation des remèdes naturels qui sont souvent les seuls disponibles dans les régions isolées, et aussi de faible prix par rapport aux médicaments modernes (**Ramawat, 2009**). Selon les estimations de l'OMS, plus de 80% de la population mondiale, surtout dans les pays en voie de développement, ont recours au traitement traditionnel pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires (**Hamza, 2011**).

Les plantes médicinales sont faciles à utiliser, elles sont potentiellement efficaces et peu coûteuses. 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 (**Zeghad, 2008**).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (**Zhang, 1998**).

### I.1.4. Les risques associés à la phytothérapie

Les remèdes à base des plantes se constituent par des mélanges très hétérogènes contenant de nombreux constituants chimiques, ces remèdes se comportent comme des véritables médicaments, qui peuvent avoir des activités biologiques diverses sur l'organisme humain (**Fragoso et al, 2008**).

Ils sont considérés souvent comme des suppléments alimentaires qui au contraire des médicaments modernes, n'ont pas été soumis à une standardisation industrielle, ni à une évaluation scientifique (**Cseke et al, 2006 ; Beers, 2007**).

Bien que le public et certains professionnels de santé croient que les phyto-médicaments sont relativement inoffensifs parce qu'ils sont « naturels » (**Fragoso et al, 2008**), plusieurs études, publications et articles scientifiques récents ont montré les conséquences sévères des effets secondaires de ces produits (**Cseke et al, 2006 ; Fragoso et al, 2008**). À titre d'exemple, plus d'un tiers de toutes les plantes indiquées dans l'étude de **Marle et Farnsworth (1995)** pour le traitement de diabète ont été rapportés comme étant toxiques, d'où vient l'intérêt des études pharmacologiques et

cliniques pour évaluer l'efficacité et la sûreté des phyto-médicaments, et en général des plantes médicinales (**Beers, 2007 ; Fragroso et al, 2008**).

Les effets secondaires des plantes médicinales et de leurs extraits peuvent aller à des symptômes gastro-intestinaux doux, réactions allergiques, complications neurologiques, hépato-toxicité, néphro-toxicité, et parfois la mort (**Berrin et al, 2006 ; Cseke et al, 2006 ; Shaohua et al, 2006**). Cet effet peut être référé à la consommation des suppléments alimentaires adultérés, non contrôlés, contenant des plantes toxiques, des ingrédients actifs de quantité et de qualité inconnues (**Cseke et al, 2006**), ou à l'utilisation prolongée d'un remède de phytothérapie (**Kraft, 2009**).

### **I.1.5. Des exemples de composés de plantes actuellement en essais cliniques**

Bien que relativement peu de médicaments dérivés de plantes aient été lancés sur le marché depuis ces 6 dernières années, de nombreux composés dérivés de plantes sont actuellement en cours d'essais cliniques pour le traitement potentiel de diverses maladies. La majorité des ces médicaments en cours de développement clinique sont dans le domaine oncologique. Dans le domaine antiviral, bévirimat et celgosivir font actuellement l'objet d'essais cliniques pour le traitement de l'immunodéficience humaine (VIH) et l'hépatite virale (VHC), respectivement. La capsaïcine est en essai clinique pour le traitement de la douleur postopératoire sévère. En outre, l'huperzine est développé pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (**Fakim, 2005; Salim et al, 2008**).

### **I.1.6. Les médicaments à base des plantes médicinales**

Les médicaments à base de plantes sont encore largement utilisés et ont une importance considérable dans le commerce international. La reconnaissance de leur valeur clinique, pharmaceutique et économique continue de croître, bien que cela varie fortement selon les pays (**Zhang, 1998**). Ces médicaments se vendent sous différentes formes : présentation traditionnelle, poudres, tisanes, gélules, sirops, pommades... etc. Dans le tableau ci-dessous il est montré des exemples de ces derniers selon la réglementation de l'agence française de la sécurité sanitaire des produits de santé.

**Tableau I** : Quelques médicaments dérivés des plantes médicinales dans le monde (Marcy et al., 2005).

Médicaments	Activité biologique	Les plantes médicinales	Références
Arteether (1, trade name Artemotil ®)	Anti-malaria	<i>Artemisia annua L.</i> (Asteraceae)	(van Agtmael et al., 1999; Graul, 2001)
Galantamine (2, also known as galanthamine, trade name Reminyl ®)	Traitement de Alzheimer	<i>Galanthus woronowii Losinsk.</i> (Amaryllidaceae)	(Heinrich et Teoh, 2004; Pirttila et al., 2004)
Tiotropium (4, trade name Spiriva ®)	Traitement de la maladie pulmonaire obstructive chronique	<i>Atropa belladonna L.</i> (Solanaceae)	(Mundy et Kirkpatrick, 2004; Frantz, 2005)
M6G ou morphine-6-glucuronide	Médicament alternatif antidouleur avec moins d'effets secondaires que la morphine	<i>Papaver somniferum L.</i> (Papaveraceae)	(Lotsch et Geisslinger, 2001)
Vinflunine	Efficacités anticancéreux	<i>Catharanthus roseus (L.) G. Don</i> (Apocynaceae)	(Bonfil et al., 2002; Okouneva et al., 2003)

Les diverses vertus thérapeutiques des plantes médicinales sont assurées par leurs métabolites secondaires dont les composés phénoliques en seraient, en grande partie, responsables. Cette classe de métabolites est douée de plusieurs activités biologiques à savoir l'activité antibactérienne (Bordes et al., 2019), antifongique (Castillo-Reyes et al., 2015), anti-inflammatoire (Marrassini et al., 2018), anti-tumorale (Masuelli., 2017) et anti-oxydante aussi (Adjdir et al., 2018).

## I.2. Généralité sur les métabolites secondaires

La plante est le siège d'une activité métabolique aboutissant à la synthèse des métabolites primaires et secondaires (**Hartmann, 2007**). Métabolites primaires : Ils sont indispensables à l'existence de la plante, se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie, ils sont classés en quatre grandes familles, à savoir, les glucides, les lipides, les acides aminés (Protéines) et les acides nucléiques. Métabolites secondaires : Ils sont des produits du métabolisme secondaire (Exclusivité du monde végétal), ayant une répartition limitée, sont d'une grande variété structurale. Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles, les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (**Abderrazak et Joël, 2007**).

## I.3. Les composés Polyphénols

Ou « Composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules (**Bahorun, 1997 ; Garcia-Salas et al., 2010**). Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques: celle du shikimate, et celle issue de l'acétate (**Bruneton, 2009**).

L'élément structural fondamental qui caractérise les polyphénols est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (Ester, Méthyle ester, Glycoside...)  
(**Bruneton, 1999**).

Les polyphénols sont classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (**Dacosta, 2003**). Il existe plusieurs classes des polyphénols, principalement, les acides phénoliques simples, les phénols simples, stilbènes, coumarines, tanins, quinones, flavonoïdes, lignanes, lignines et xanthones.

### I.3.1. Acides phénoliques simples

Le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, on distingue :

#### a. Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans le tableau II (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

**Tableau II.** Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
H	H	H	H	Acide benzoïque
H	H	OH	H	Acide phydroxy benzoïque
H	OH	OH	H	Acide protocatechique
H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Acide vanillique
H	OH	OH	OH	Acide gallique
H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Acide syringique
OH	H	H	H	Acide salicylique
OH	H	H	OH	Acide gentisique

### b. Acides hydroxycinnamiques

Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C6-C3). Existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques comme l'acide chlorogénique (Ester d'acides hydroxycinnamiques : acide caféique avec l'acide quinique, pour former des mono-esters comme l'acide caféylquinique (ACQ) ex. les acides chlorogéniques : 3-ACQ, 5-ACQ, suivant que la liaison se fait en position 3 ou 5 sur les hydroxyles de l'acide quinique). On rencontre aussi des composés formés de plusieurs acides hydroxycinnamiques conjugués avec un acide quinique, comme l'acide 3,5-O-dicaféylquinique.

Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique conduisent une réactivité chimique importante de ces molécules (Tableau III) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

**Tableau III.** Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

R1	R2	R3	Acides phénoliques
H	H	H	Acide cinnamique
H	OH	H	Acide <i>p</i> -coumarique
OH	OH	H	Acide caféique
OCH <sub>3</sub>	OH	H	Acide férulique
OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Acide sinapique

La liste des acides phénoliques présents dans les plantes ne s'arrête pas là, nous tenons à mentionner, en particulier, l'acide méthylgallique, l'acide rosmarinique, l'acide carnosique et le carnosol (**Dacosta, 2003**).

Les acides phénoliques sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae..), le plus souvent à l'état de glucoside du diphenol (arbutoside) ou de son monométhyléther. On connaît également des alcénylphénols (Urushiol) et des monoterpènes phénoliques (Thymol) (**Beddou, 2015**).

### **I.3.2. Quinones**

Les quinones constituent une série de diènes (hydrocarbures qui contiennent deux doubles liaisons) plutôt que des composés aromatiques comportant un noyau de benzène (C6) comme benzoquinones, sur lequel deux atomes d'hydrogène sont remplacés par deux atomes d'oxygène formant deux liaisons carbonyles (dicétones éthyléniques conjuguées cycliques). Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Ils sont caractérisés par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diéniq (Para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq (Ortho-quinones) (**Bruneton, 1993**). Les quinones sont utilisées dans les colorants, médicaments et fongicides.

### **I.3.3. Tannins**

Les tannins sont très abondants chez les angiospermes dicotylédones (Tannins hydrolysables) et les gymnospermes (Tannins condensés). Leur masse moléculaire est comprise entre 500 et 3000 PM (**Atefeibu, 2002**). Sont répandus, particulièrement, dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ces composés ayant en commun la propriété de tanner la peau (combinaisons à des macromolécules (Protéines, Polysaccharides...) par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes). Ils sont utilisés dans le traitement des aliments et la clarification des vins, des bières et des jus de fruits (Propriétés biologiques).

Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques. Ils sont constitués soit de polyol (ou polyalcool ou glycol, caractérisé par des groupes hydroxyle) (glucose le plus souvent) ou de catéchine ou de triterpénoïde auquel sont attachés des unités galloyles (ou leurs dérivés) ou soit d'oligomères ou polymères de flavanols. On distingue, habituellement, deux groupes de

tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénique: tanins hydrolysables, tanins galliques (**Bruneton, 2009**).

### I.3.4. Coumarines

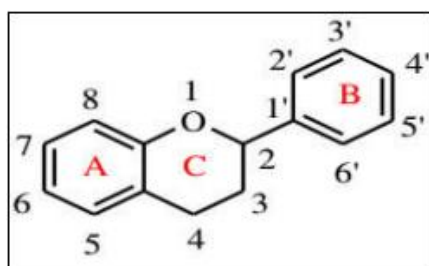
Les coumarines sont aussi les dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- $\alpha$ -pyrone (**O'Kennedy et Thornes, 1997**), et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique et semblent constituer un moyen de défense de type phytoalexine.

### I.3.5. Lignanes

Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3) . Leur distribution botanique est large, ils se trouvent souvent dans le bois des gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les angiospermes (**Krief, 2003**). Les graines de lin sont la source la plus importante de lignanes, viennent ensuite, les lentilles, les haricots blancs, les graines de céréales et certains légumes (**Mazur *et al.*, 1998 cité par Dacosta, 2003**).

### I.3.6. Flavonoïdes

Les polyphénols sont des composés dont la structure de base est C6-C3-C6 et sont constitués de deux noyaux aromatiques (Cycle A et B) reliés par un hétérocycle oxygéné (Cycle C), c'est le squelette de base des flavonoïdes (**Erlund, 2004**) (Figure 01).

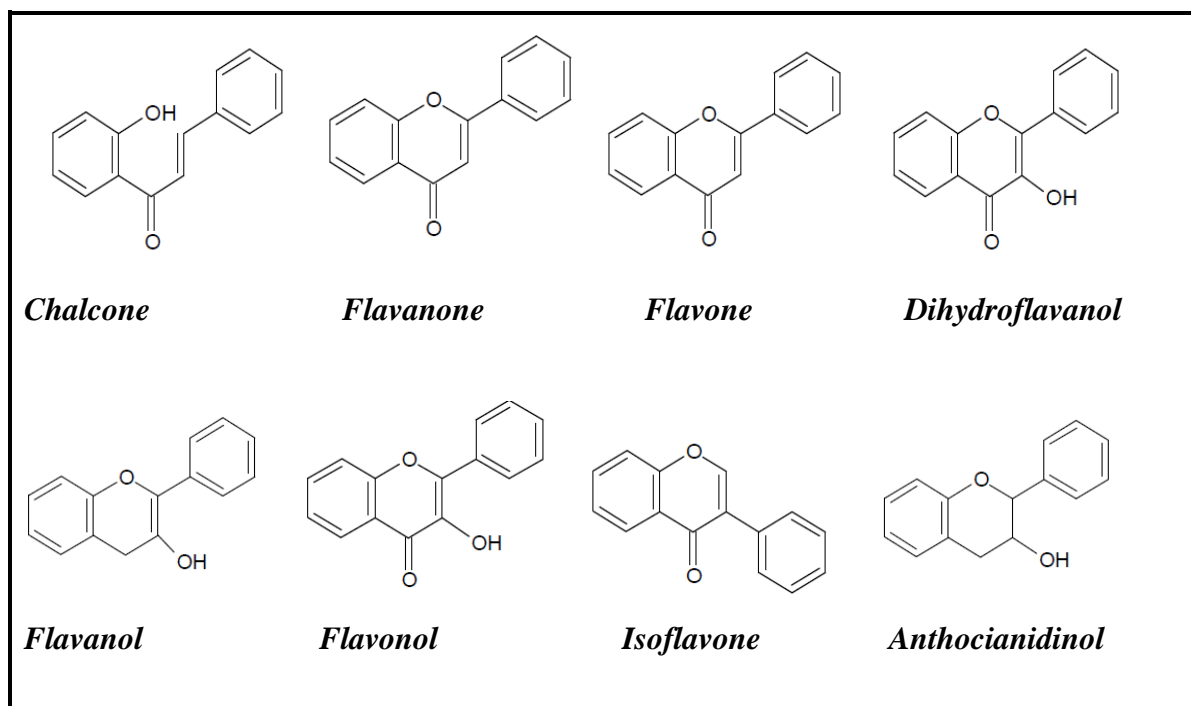


**Figure 01:** Squelette de base des flavonoïdes (**Erlund, 2004**).

On les retrouve dans toutes les plantes vasculaires, dans divers organes : racine, tiges, feuilles et fruits (**Bruneton, 1999**). Ils sont synthétisés au niveau du chloroplaste et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons, certains quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles (**Elicoh-Middleton, 2000**).

Les flavonoïdes se rencontrent libre (Aglycones ou génines), soit sous forme d'hétérosides C- ou O-glycosides comme l'hyperoside et la rutine (Glycoside entre la quercétine de flavonol et le rutinose de disaccharide) (**Dacosta, 2003**).

C'est d'abord la structure de l'hétérocycle centrale et son degré d'oxydation qui permettent de distinguer les différentes classes de flavonoïdes. En peut retenir entre autre les chalcones, flavanones, flavones, isoflavones et les anthocianidines.



**Figure 2 :** Structure des différentes sous classes des flavonoïdes (**Macheix et al, 2005**).



### I.3.7. Stilbènes

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6. Ce sont des phytoalexines ; composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux (**Krisa et al., 1997**).

### I.3.8. Anthocyanes

Ou pigments anthocyaniques qui colorent les fleurs, les fruits et parfois les feuilles, proche des flavonoïdes sur le plan de l'origine, de la structure et des propriétés pharmacologiques (**Catier et Roux, 2007**).

Les anthocyanes sont présents uniquement sous forme d'hétérosides appelés anthocyanosides, on les trouve dans les racines, tiges, feuilles et graines. Leur structure de base est caractérisée par un noyau « flavon » généralement glucosylé en position C3 (**Collin et Crouzet, 2011**).



*Chapitre II : Activité  
antioxydante et antiulcéreuse des  
polyphénols*

## II. Activité biologique des composés phénoliques

Parmi les composés phénoliques qui exercent des activités biologiques les plus importants, les flavonoïdes. Les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antibactériennes et antivirales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antiulcéreuses et anticancéreuses (**Adjadj, 2009**). Et surtout l'activité antioxydant dont les flavonoïdes sont très efficace et permettant ainsi à jouer un rôle très important dans la lutte contre le stress oxydatif. D'autre part, cette classe de molécules est récemment étudiée sur d'autres activités biologiques à savoir l'effet anti-ulcéreux via l'inhibition de l'enzyme uréase qui est à l'origine des ulcères provoqués par la bactérie *H. pylori*.

### II.1. Activité contre le stress oxydatif

#### II.1.1. le stress oxydatif

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser et réparer les dommages oxydatifs. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (**Morenal et al, 2002**), Il est dû aussi au déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants, en faveur des oxydants, potentiellement. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en appelé « stress oxydant » (**Favier, 2003**). Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (**Diallo, 2004**). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (**Aruoma, 1999**).

#### II.1.2. Origine du stress oxydatif

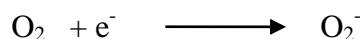
Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/ prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en appelé « stress oxydant » (**Favier, 2003**).

#### II.1.3. Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (**Vansant, 2004**). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (**Favier,**

**2003**). L'appellation « dérivés réactif de l'oxygène » n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), peroxydinitrite (ONOO<sup>-</sup>) (**Novelli, 1997**). Parmi les radicaux libres les plus répons on peut citer les suivants :

**-L'anion superoxyde** : la molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.



**-Le radical hydroxyle** : **OH** il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.

**-Le radical peroxyde** : **ROO<sup>-</sup>** : ils sont extrêmement agressifs. Ils sont capables de fragmenter l'ADN (**Souchard et al, 2002**).

**-L'oxygène singulet** : O<sub>2</sub> forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité (**Hadi, 2004**).

**-Radicaux superoxydes (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)** : Ils sont produits pendant le métabolisme de l'énergie dans la cellule, soit comme le résultat de l'auto-oxydation soit par l'action d'enzymes tels que les oxydases. Ils sont inactivés par une enzyme appelé le superoxyde dismutase (SOD) pour former du peroxyde d'hydrogène (**Souchard et al, 2002**).

**-Monoxyde d'azote (-NO)** : Il est produit sous l'action des NO synthases (NOS), à partir de la L- arginine, en présence d'oxygène et de cofacteurs. Il est impliqué dans de nombreuses réactions d'oxydoréductions (**Souchard et al, 2002**).

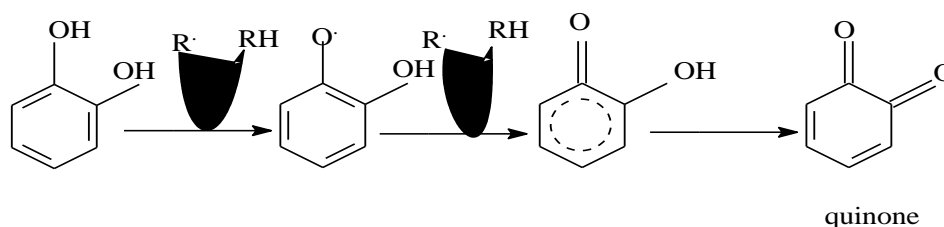
#### **II.1.4. Activité antioxydant des composés phénoliques**

Grâce à leur diversité structurale, les composés phénoliques sont impliqués dans cette activité via plusieurs mécanismes en agissant à différents niveaux des réactions radicalaires par la chélation des métaux, l'effet scavenger, l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres et l'induction de la synthèse des enzymes antioxydantes (**Cotelle et al, 1996 ; Bors et al, 1997 ; Siddhuraju, 2007**).

##### ➤ **Piégeage des radicaux libres**

Les flavonoïdes possèdent une structure chimique aromatique permettant une délocalisation électronique importante, donc une stabilisation de leurs formes radicalaires.

À cause de leur faible potentiel redox (**Javanovic et al, 1994**), les flavonoïdes (Flav-OH) sont thermo dynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants ( $R\cdot$ ) comme le superoxyde, le radical peroxyde, le radical alkoxyde et le  $OH\cdot$  par transfert d'hydrogène. Le radical flavonoxy (Fl-O $\cdot$ ) peut réagir avec un autre radical libre pour former une structure quinone stable (**McCord, 1995**).

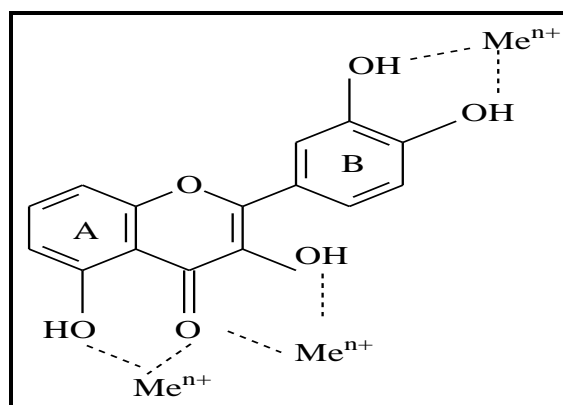


**Figure 03 :** Mécanisme moléculaire de l'effet anti-radicalaire des flavonoïdes (**Pietta, 2000**).

#### ➤ Chélation des ions métalliques

Les ions du fer ( $Fe^{+2}$ ) et du cuivre (Cu) sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques, mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle.

Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs de ces ions métalliques (**Morris, 1995 ; Brown, 1998**).



**Figure 04:** Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques.

#### ➤ Inhibition de diverses enzymes

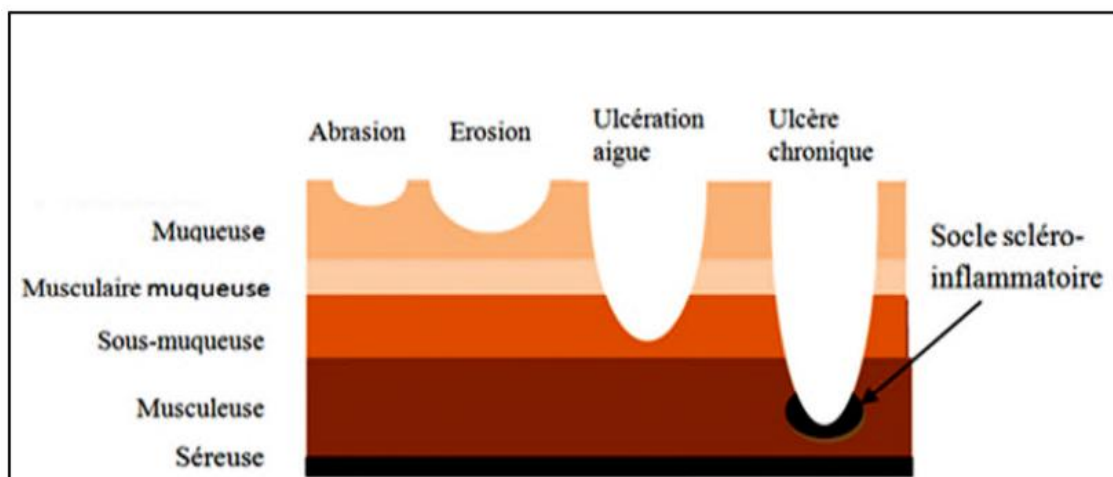
Les flavonoïdes sont responsables à l'inhibition de très nombreuses enzymes ; parmi lesquelles les enzymes directement impliquées dans le stress oxydant (gluthathione

S-transférase, les lipoxgénases, la xanthine oxydase, et les nitrique oxydesynthases) et les enzymes digestives (comme la trypsine, l' $\alpha$ -amylase et la lipase) (Fiorucci, 2006).

## II.2. Activité antiulcéreuse

### II.2.1. Ulcère de l'estomac

Ulcère de l'estomac (également appelé ulcère gastrique UG), est une plaie ouverte, caractérisée par une perte macroscopique de substance d'un épithélium cutané ou d'une muqueuse, atteignant en profondeur la musculuse (figure 05) d'une part, et d'autre part par une réaction inflammatoire profonde et qui a pour particularité de ne pas avoir tendance à cicatrifier spontanément, il est à différencier des érosions et abrasions (muqueuse) et ulcérations (sous-muqueuse) qui sont plus superficielles et n'atteignent donc pas la musculuse et ne laissent pas de cicatrice en guérissant. Il s'agit d'une affection chronique qui évolue par poussées, symptomatiques ou non, elle est aussi récidivante (Zeitoun *et al.*, (2014).



**Figure 05:** Classification anatomo-pathologique des pertes de substance gastrique (Aziz *et al.*, 2012).

### II.2.2. Facteurs favorisant l'apparition d'un ulcère :

Les deux causes principales d'ulcères gastroduodénaux chez l'adulte sont l'infection bactérienne par *H. pylori* (85-90 % des ulcères duodénaux, 70 % des ulcères gastriques) et les effets indésirables de certains médicaments comme les AINS, dont phénylbutazone, célécoxib, parécoxib (Bontems et Kalach, 2009).

### II.2.2.1. Infection par *Helicobacter pylori* :

L'infection à *H. pylori* est une infection bactérienne chronique la plus répandue au monde, responsable de presque tous les ulcères duodénaux et environ 70 % des ulcères gastriques (**Korwin, 1999**). Son nom *Helico* signifie hélicoïdale (sa forme en hélice), alors que *bacter* vient de bactérie. *Pylori* se réfère au Pylore (région de l'estomac frontière du duodénum) (**Bontems et Kalach, 2009**).

*Helicobacter pylori* est un microorganisme Gram négatif flagellaire micro-aérophile spécialement adapté pour la vie dans la couche de mucus qui recouvre les cellules épithéliales gastriques (figure 6) (**Bontems et Kalach, 2009**).

*H. pylori* semble responsable des lésions directes des cellules épithéliales par des sécrétions qui détruisent la muqueuse superficielle. Ceci permet le contact entre les sécrétions acides et la muqueuse gastrique provoquant la formation d'un ulcère aiguë (**Srivastava et al., 2015**). Plus important encore, elle secrète des facteurs virulents tels que l'uréase, la protéine Vac A codée par le gène associé vaculant A (Vac A) (**Srivastava et al., 2015**). Isolée pour la première fois en 1982 par Marshall et Warren. *H. pylori* colonise spécifiquement la muqueuse gastrique et peut y survivre, en raison de sa puissante activité uréasique qui neutralise l'acidité de l'estomac. Grâce à sa forme hélicoïdale et à ses flagelles, la bactérie se glisse à travers les muqueuses de l'estomac et s'ancre aux cellules épithéliales (tissu en plusieurs couches) grâce à des adhésions (protéines fixatrices) (**Bontems et Kalach, 2009**).

Le mode de transmission de *H. pylori* n'est pas bien connu. Étant donné que la bactérie a été isolée dans des selles, ainsi que dans la salive et sur des plaques dentaires, ceci laisse supposer qu'une transmission est possible par voie oro-orale ou par voie féco-orale (**Joutei et al., 2010**). Il est admis que *H. pylori* est acquise le plus souvent durant l'enfance, et si l'infection n'est pas traitée, elle persiste toute la vie (**Bontems et Kalach, 2009**).



**Figure 06 :** *Helicobacter pylori* (Emle, 2016).

Les lésions induites par l'ulcère provoquent une inflammation. En effet, l'hôte répond à l'infection par la production d'anticorps et une variété de cytokines, y compris l'interleukine IL-1, le facteur de nécrose tumorale (TNF)- $\alpha$ , l'oxyde nitrique inducible (iNOS), et la cyclooxygénase (COX-2) qui sont corrélés avec des symptômes inflammatoires. En outre, l'infection par *H. pylori* induit la sécrétion de l'IL-8 à travers l'activation du facteur de transcription facteur nucléaire kappa-B (NFkB), l'augmentation de la production d'IL-8 dans la muqueuse gastrique le recrutement de neutrophiles sur le site de l'infection, les enzymes libérées par les neutrophiles conduisent à une inflammation du tissu gastrique. L'inflammation chronique peut éventuellement provoquer un cancer gastrique par conséquent *H. pylori* est classée comme cancérogène (Koosirirat et al., 2010).

#### **II.2.2.2. Uréase comme élément causale de l'ulcère provoqué par *H. pylori***

Une des particularités de *H. pylori* est sa capacité à produire une quantité importante d'uréase. L'uréase, une métalloenzyme (urée amidohydrolase EC 3.5.1.5) dépendante du nickel, catalyse l'hydrolyse de l'urée pour former l'ammoniac et le gaz carbonique (réaction) (Carlini et Ligabue-Braun, 2016). L'hydrolyse d'une molécule de l'urée entraîne la libération de deux molécules d'ammoniac et une molécule de dioxyde de carbone.



Cette production d'uréase assure la survie de *H. pylori* malgré l'acidité gastrique. Ce phénomène fait suite à la libération des ions ammonium neutralisant le pH acide gastrique qui sert entre autres à tuer les bactéries. Cela crée un nuage neutralisant autour de *H. pylori*, la protégeant de l'acide dans l'estomac. L'ammonium est toxique pour les cellules épithéliales, et va, avec d'autres produits sécrétés par *H. pylori* (protéases, catalases, phospholipases etc.), attaquer les cellules gastriques, déclenchant de ce fait le processus de formation d'ulcère (**Rasafimahera et al., 2012**).

L'uréase constitue donc un facteur de virulence essentiel de la pathogénicité gastrique de *Helicobacter pylori*. Cette enzyme est l'acteur majeur de la résistance à l'acidité et joue donc un rôle central dans la colonisation et la persistance de la bactérie chez l'hôte. L'uréase a jusqu'à récemment été considérée comme une enzyme constitutive et permanente. Des découvertes récentes ont révélé que l'activité de cette protéine abondante a été modulée à différents niveaux. Ces mécanismes régulateurs sont à l'origine de l'insertion de nickel dans le site actif de l'uréase avec contrôle à la fois de la disponibilité et de l'incorporation de cet ion métallique dans les sous-unités structurales, dont la production elle-même est induite dans certaines conditions (**Stingl et Hilde, 2005**).

Jusqu'à 30% de l'enzyme s'associe à la surface des cellules intactes pour la détection des bactéries voisines. Dans des conditions physiologiquement pertinentes, l'activité de l'enzyme reste non affectée jusqu'à pH 3. Des dosages d'activité dans des conditions différentes indiquent que le groupe des 12 sites actifs sur l'assemblage supramoléculaire est critique pour la survie de l'enzyme à un pH bas (**Nam-Chul et al., 2001**).

Les uréases ont une structure d'unité fonctionnelle conservée, bien qu'elles soient formées par un nombre variable de sous-unités. Une unité fonctionnelle peut être formée par un trimère d'hétérosous-unités (comme dans *B. pasteurii*, PDB id 2UBP), par un dimère d'hétérosous-unités (comme dans *H. pylori*, PDB id 1E9Z) ou par une seule unité (comme dans *Canavalia ensiformis*, PDB id 3LA4). Ces unités fonctionnelles, à leur tour, peuvent former des complexes plus grands, tels que des

trimères (PDB id 2UBP), des hexamères (PDB id 3LA4), ou des dodécamères (PDB id 1E9Z) (figure 07) (Carlini et Liguabue-Braun, 2016).

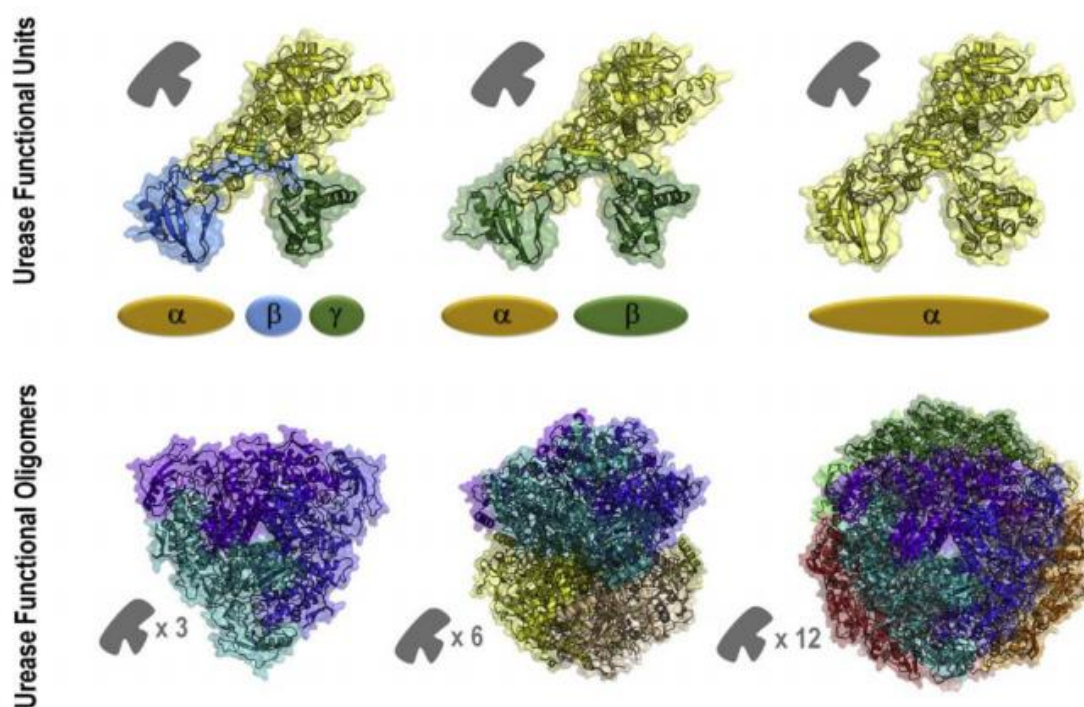


Figure 07 : Structures conservées des uréases (Carlini et Liguabue-Braun, 2016).

## II.2.3. Thérapeutiques de l'ulcère

### II.2.3.1. Eradication de l'*Helicobacter pylori*

Malgré le fait que *H. pylori* soit sensible à de nombreux antibiotiques, son élimination reste difficile, probablement du fait de sa localisation au sein du mucus gastrique acide, ce qui réduit l'activité locale des antibiotiques (Bommelaer et Stef, 2009).

L'éradication de *H. pylori* diminue l'incidence des ulcères gastroduodénaux et réduit la récurrence des complications ulcéreuses sous aspirine à faible dose. Le traitement de l'infection à *H. pylori* doit être complété par un traitement anti-sécrétoire curatif, principalement un IPP, en cas d'ulcère compliqué, le mécanisme d'action des IPP se résume par une inhibition totale et irréversible de l'activité de transport de l'ATPase ( $H^+$ ,  $K^+$ ) (Bouvenot et Charles, 2011).

En cas de non-cicatrisation de l'ulcère, le traitement par IPP est poursuivi pour une durée totale de 12 semaines. En cas de non-éradication d'*H. pylori*, un traitement complémentaire par tétra-thérapie est institué, incluant de l'oméprazole qui est un IPP, du citrate de bismuth, du métronidazole et de la tétracycline pendant 14 jours (Tran et Quandalle, 2002).

### II.2.3.2. Traitements antiulcéreux

Les traitements contre l'ulcère regroupent :

- **Les anti-sécrétoires** qui sont des antagonistes des récepteurs H2 (anti H2) souvent l'objet d'automédication, ils sont déconseillés en cas de grossesse et d'allaitement. Les anti-sécrétoires sont aussi des inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) : bien tolérés et dépourvus d'effets indésirables significatifs. Ils sont inclus dans le traitement d'éradication d'*H. pylori* (Gay et al., 2013).
- **Les antiacides et pansements gastriques** Ils agissent d'une manière symptomatique. Les antiacides à très forte dose peuvent entraîner la cicatrisation de l'ulcère mais leur utilisation a été supplantée par les anti-sécrétoires (Gay et al., 2013). Cependant les thérapies existantes ont de manière générale des effets indésirables et reviennent très chers. Cette situation a poussé la recherche de manière continue afin de trouver de nouvelles alternatives thérapeutiques d'origine naturelle.

### II.2.3.3. Traitement naturel

Les métabolites secondaires des plantes, comme les composés phénoliques, font l'objet de nombreuses recherches *in vivo*, comme *in vitro*. Par exemple, les différentes parties de plantes médicinales comme *Acacia nilotica*, *Calotropis procera*, *Fagonia arabica* L, *Adhatoda vasica*, *Casuarina equisetifolia* sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement des nausées, diarrhées, l'asthme, la fièvre ainsi que l'ulcère. Dans le dernier cas, ces plantes ont démontré un effet anti *Helicobacter pylori* et anti uréase (Muhammad et al., 2013).

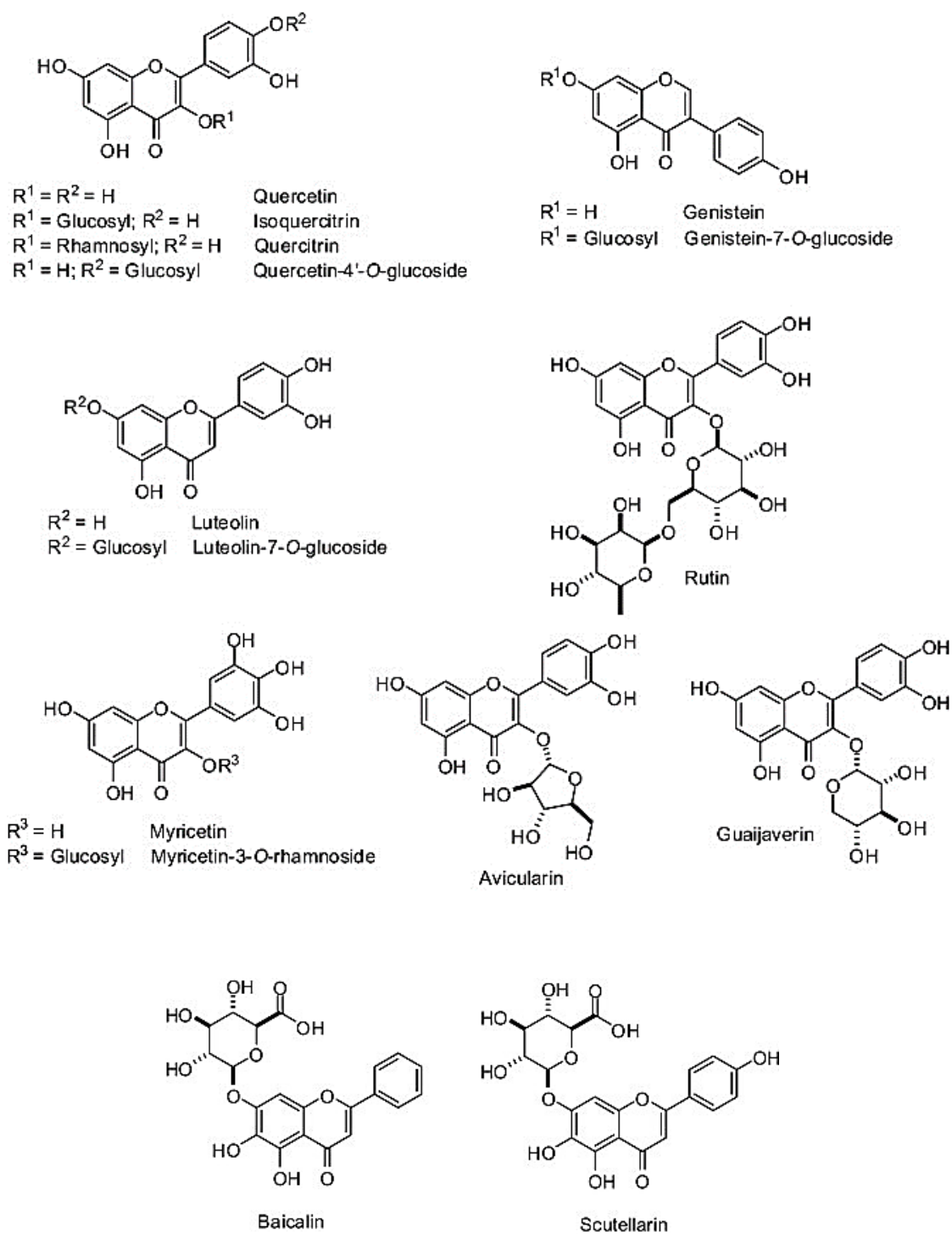
## II.3. Polyphénols en tant que des inhibiteurs de l'uréase

Les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, ont été rapportés comme étant des inhibiteurs notables de l'uréase de *H. pylori* (Laghari et al., 2010 ; Bae et al., 2001) . Par conséquent, il a été constaté que la génistéine, une isoflavone largement produite par

les plantes de la famille Fabaceae, inhibait de 50% l'uréase de *H. pylori* lorsqu'elle était utilisée à 430 µg / mL, alors que son dérivé 7- O- glucoside ne présentait aucun effet sur l'activité enzymatique (Figure.08) (**Bae et al., 2001**) . Les flavonols quercétine, la rutine, la myricétine et la myricitrine et les flavones lutéoline et la lutéoline 7 - O -glucoside ont été trouvés les plus efficaces contre *H. pylori* uréase, en présentant IC<sub>50</sub> de valeurs de 11,2 µM, 67,6 µM, 77,2 µM, 98,7 µM, 35,5 µM et 55,8 µM, respectivement (**Xiao et al., 2012**). Quercétine-4'- O - d-glucoside (Figure. 08) isolé à partir d' *A . cepa* (Liliaceae) a présenté une CI 50 de 190 µM contre l'uréase de *C. ensiformis* (**Shabana et al.,2010**) . D'autres glucodérivés de la quercétine (Figure. 08 ) isolés à partir de fruits de *Psidium guajava* (goyave; Myrtaceae) ont eu un effet négatif sur l'activité de l' uréase de *C. ensiformis* , tels que l'isoquercitrine (IC<sub>50</sub> = 160 µM), la quercitrine (IC<sub>50</sub> = 200 µM), l'aviculaire (IC<sub>50</sub> = 140 µM) et de la guaijavérine (IC<sub>50</sub> = 120 µM). La IC<sub>50</sub> de la quercétine aglycone vis-à-vis de *C. ensiformis* l'uréase a été déterminée à 80 µM (**Shabana et al.,2010**). Une étude réalisée avec sept produits naturels isolés d'une sous-fraction butanolique de l'extrait éthanolique de *Celtis africana* (Celtidaceae) a révélé le remarquable effet anti-érolitique de quatre flavones C- glucosides ayant une IC<sub>50</sub> inférieure à 50 µM (**Perveen et al., 2011**).

La baicaline ( Figure.08 ), une flavone glucuronide et constituant principal des racines séchées de *Scutellariae baicalensis* (Lamiaceae), était capable d'inhiber l' uréase de *C. ensiformis* (IC<sub>50</sub> = 2,7 mM), présentant une constante d'inhibition (  $K_i$  ) de  $3,89 \times 10^{-3}$  mM (**Tan et al.,2013**) . Une autre flavone C- glucuronide (scutellarine; Figure.08) isolée d' *Erigeron breviscapus* (Asteraceae) s'est révélée deux fois plus puissante (IC<sub>50</sub> = 1,4 mM) que la baicaline en ce qui concerne l'inhibition de l' uréase de *C. ensiformis* (**Wu et al.,2013**). L'effet inhibiteur de la scutellarine a été attribué à sa capacité à se lier au groupe sulfhydryle du résidu de L- cystéine présent dans le site actif de l'enzyme (**Wu et al.,2013**)

.



**Figure 08** : Exemples de flavonoïdes avec effet inhibiteur sur l'uréase (Modolo *et al.*, 2015)

## *Chapitre III : Matériels et méthodes*

### III.1. Matériels végétal

#### III.1.1. Les plante étudiée

##### III.1.1.1. *Crataegus azarolu* (Ait Youssef ; 2006).

###### Nom habituels et classification

- **Arabe** : Zaaoura ou Zaârour.
- **Berbère** : Tazaraout ou Admime
- **Famille** : Rosacées.
- **Genre** : *Crataegus*
- **Espèce** : *azarolus*



Source : [http://www.henriette\\_sherbal.com](http://www.henriette_sherbal.com).

Figure 09: Photo de *Crataegus azarolus*

**Propriété et usage** : la feuille de *Crataegus azarolus* L. est employée en Tunisie, en usage interne, sous forme d'un décocté : remède recommandé aux diabétiques, à raison d'un verre tous les matins à jeun (Ait Youssef ; 2006).

##### III.1.1.2. *Lonicera implexa* (Loi et al ; 2004).

###### Nom habituels et classification

- **Arabe** : Sultane el raba.
- **Berbère** : Tamthwala
- **Famille** : Caprifoliaceae
- **Genre** : *Lonicera*
- **Espèce** : *implexa*



Source : [http://www.henriette\\_sherbal.com](http://www.henriette_sherbal.com).

Figure 10 : Photo de *Lonicera implexa*.

**Propriété et usage** : les fruits de *Lonicera implexa* étaient utilisés en Italie contre le Rhumatisme, sous forme d'un cataplasme.

**III.1.1.3. *Rhamnus alaternus* (Ait Youssef ; 2006).****Nom habituels et classification**

- **Arabe** : Qaced, Aoud el kheir,
- **Berbère** : Mlilés, ajroudj, mlilez.
- **Famille** : Rhamnacées.
- **Genre** : *Rhamnus*
- **Espèce** : *alaternus*



Source : [http://www.henriette\\_sherbal.com](http://www.henriette_sherbal.com)

**Figure 11** : Photo de *Rhamnus alaternus*.

**Propriété et usage** : les tiges et les feuilles étaient utilisées en Algérie- dans le constantinois- contre la jaunisse et les troubles hépatiques provoqués par le paludisme.

**III.1.1.4. *Cistus albidus* (Guignard, 1998)****Nom habituels et classification**

- **Arabe** : oumaliya
- **Berbère** : tusalt
- **Famille** : Cistaceae
- **Genre** : *Cistus*
- **Espèce** : *Cistus albidus*



Source : [http://www.henriette\\_sherbal.com](http://www.henriette_sherbal.com)

**Figure 12**: Photo de *Cistus albidus*.

**Propriété et usage** : toutes les espèces du genre *Cistus* sont fréquemment utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés antimicrobiennes, antitumorales, antivirales (Dimas *et al.*, 2000) et anti-inflammatoires (Pala-Paul *et al.*, 2005). Les feuilles, en décoction, sont utilisées contre les douleurs gastriques et comme hypoglycémiant. En cataplasme, elles sont employées contre les abcès. Les feuilles sont utilisées en infusion dans du thé, comme digestif (Lahsissene *et al.*, 2009).

### III.1.2. Récolte et séchage

La récolte des feuilles des plantes à été faite dans le nord, précisément de la région de Bejaïa, en mois mars de l'année de 2012. Les feuilles des plantes sont séchées à l'ombre sous la température ambiante, après leur identification par le service de botanique au niveau de parc national de Gouraya.

### III.1.3. Broyage et extraction

Après le séchage, les feuilles des plantes ont été réduites en poudre fine suite au broyage et au tamisage successif. La poudre obtenue de chaque plante est macérée dans l'éthanol (95%) à raison de 4 ml pour 1g de la poudre, pendant 12 heures sous agitation continue à l'obscurité et à la température ambiante. Le mélange est ensuite laissé décanter pendant 24 heures, et le surnageant éthanolique est récupéré et laissé évaporer à la température ambiante de laboratoire jusqu'à la stabilité de son poids.

Le taux d'extraction (%) est calculé en appliquant la formule suivante :

$$\% = [(P_1 - P_2) / E] \times 100$$

**P<sub>1</sub>** : poids d'extrait après évaporation (g).

**P<sub>0</sub>** : poids vide du boîte de pétri (g).

**E** : poids de la poudre végétale (g).

La récolte et l'extraction ont été réalisées en 2012 par des étudiants déjà encadrés par monsieur boukerouisse.

## III.2. Dosage des composés phénoliques

### III.2.1. Dosage des phénols totaux

#### III.2.1.1. Principe de la méthode

En pratique, plusieurs méthodes sont appliquées pour estimer la teneur en phénols totaux dans les tissus végétaux, mais aucune n'est apte seule de détecter tous les composés phénoliques présents réellement dans ces tissus. Parmi elles, la méthode de Folin-Ciocalteu est utilisée depuis environ un siècle pour doser la quantité des phénols dans les plantes, elle est utilisée initialement pour les acides aminés (tyrosine et tryptophane), ou le réactif de Folin-Ciocalteu interagit avec le groupement phénolique hydroxylé de ces acides aminés (Vermerris et Nicholson, 2006).

Le principe est basé sur la réduction du réactif Folin- Ciocalteu de couleur jaune, qui est un mélange de l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ), par les groupements hydroxyles des polyphénols, en oxydes bleus de tungstène et de molybdène qui absorbe dans le visible à 740nm, la réaction s'effectue de préférence dans un milieu basique (Vermerris et Nicholson, 2006). Pour cette méthode spectrophotométrique, il faut établir une courbe d'étalonnage qui relie les absorbances aux différentes concentrations, comme celle de l'acide gallique ou chlorogénique. Les concentrations en composés phénoliques sont alors rapportées en équivalent d'acide gallique ou chlorogénique respectivement (Vermerris et Nicholson, 2006).

Pour estimer la teneur en phénols totaux dans nos extraits, nous avons utilisé cette méthode, suivant le protocole décrit par Ammar R.B. *et al* (2007), en prenant l'acide gallique comme étalon.

### III.2.1.2. Protocole expérimental

Pour la réalisation de la courbe d'étalonnage, différentes concentrations de l'acide gallique ont été préparées. Par la suite, un volume de 100µl du réactif de Folin-Ciocalteu (50%) est mélangé avec 100µl de chaque solution préparée, et après environ 5 min, 2ml de bicarbonates de sodium  $Na_2CO_3$  (à 2%) ont été ajouté au mélange. Le tout est laissé réagir pendant 30 minutes à l'obscurité. La lecture de la densité optique est effectuée à 720nm contre un blanc, et les résultats ainsi obtenus ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les extraits des plantes ont été traités selon les étapes de protocole suivies lors de la préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et les résultats obtenus sont exprimés en mgEAG/g d'extrait sec.

### III.2.2. Dosage des flavonoïdes

#### III.2.2.1. Principe de la méthode

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de Rao *et al* (2010). Cette méthode utilise le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) qui interagit spécifiquement avec les flavonoïdes en donnant une couleur jaune foncée. L'intensité de la coloration est évaluée par spectrophotomètre à 510 nm. De même que le dosage des phénols totaux, le dosage des flavonoïdes nécessite aussi l'établissement d'une courbe d'étalonnage d'un flavonoïde standard (la rutine par exemple).

### III.2.2.2. Protocole expérimental

Pour la préparation de la gamme d'étalon, une série de dilution de solution de la rutine est préparée. Dans un tube à essai, on met un volume de 100µl de la rutine, 300µl d'eau distillé suivie par 30µl NaNO<sub>2</sub> (5%). Après 5 min à la température ambiante, un volume de 30µl d'AlCl<sub>3</sub> à 10% (133mg d'AlCl<sub>3</sub> et 400mg d'acétate de sodium sont dilués dans 100 ml d'eau distillée) a été ajouté. Après encore d'autres 5 min, la réaction a été traitée par 200µl de 1 Mm de NaOH. En fin, le mélange est dilué par 1 ml d'eau distillé. La lecture est effectuée à 510 nm et les valeurs des absorbances trouvées pour chaque solution sont utilisées pour tracer la courbe d'étalonnage. Pour les essais, les mêmes étapes ont été suivies sauf qu'à la place de la rutine on a introduit les extraits des plantes.

## III.3. Evaluation de l'activité antioxydant

### III.3.1. Test anti-DPPH

#### III.3.1.1. Principe de la méthode

Le DPPH (1,1-diphényle-2-dipicrylhydrazyl), est un radical libre de couleur violette intense, relativement stable et largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydant de différents composés (Wojodylo *et al*, 2007 ; Kaur *et al*, 2008). Ce radical lorsqu'il est réduit sous l'effet d'un antioxydant se décolore pour donner une couleur jaune. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres) se fait, justement, en mesurant la diminution de la coloration violette (Rolland, 2004 ; Kubola et Siriamornpu, 2008 ; Khadri *et al*, 2009).



#### III.3.1.2. Protocole expérimental

L'activité antioxydant des extraits des plantes est évaluée par la méthode de Maisuthisakul et ses collaborateurs (2007), dans laquelle 20µl DPPH (5mM) est ajouté à 980µl d'extrait préparé à différentes concentrations, l'absorbance est mesurée à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

Le pouvoir antioxydant est exprimé en pourcentage d'inhibition ou effet scavenger contre le DPPH par les antioxydants présents dans les extraits

$$\text{Effet scavenger contre le radicale DPPH(\%)} = \{[A_T - A_E]/A_T\} \times 100$$

Où :  $A_T$  : absorbance de témoin (980µl de méthanol + 20µl de DPPH).

$A_E$  : absorbance de l'échantillon (980µl d'extrait + 20µl de DPPH).

### III.3.2. Test ABTS

#### III.3.2.1. Principe de la méthode

Ce test est basé sur la réaction entre un radical cationique stable ABTS<sup>•+</sup> (2,2-azinobis-(3-éthyl benzothioazoline-6-sulfonic acide) (générateur de radicaux libres) et des substances donneurs de protons, se produit immédiatement après l'ajout d'une solution de potassium persulfate K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, ce radical cation ABTS<sup>•+</sup> est un chromogène stable à température ambiante, peut être mesuré dans un spectromètre à  $\lambda = 734 \text{ nm}$ .

#### III.3.2.2. Protocole expérimental

L'activité antiradicalaire a été également évaluée par le test de décoloration du radical cation ABTS<sup>•+</sup> selon la technique utilisée par **Khan et al. (2012)**. L'ABTS a été dissous dans l'eau distillée à une concentration de 7 mM. La solution du radical cation ABTS<sup>•+</sup> a été obtenue en incubant pendant 12 à 16 h à l'obscurité et à la température ambiante un mélange à volumes égaux de la solution mère d'ABTS avec une solution de persulfate de potassium à 2,45 mM.

La solution ABTS<sup>•+</sup> a été diluée avec de l'éthanol jusqu'à une absorbance de  $0,700 \pm 0,02$  à 734 nm avant l'utilisation. Ensuite, 1,5 ml de la solution d'ABTS<sup>•+</sup> a été mélangé avec 50  $\mu\text{l}$  d'extrait ou de la référence (Les absorbances sont mesurées à 734 nm après une incubation de 10 minutes à l'obscurité et à la température ambiante. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produit testé et les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition et en CI<sub>50</sub> comme précédemment décrits pour le test DPPH.

### III.4. Etude de l'effet inhibiteur de nos extraits sur l'uréase

Afin de tester l'effet inhibiteur de nos extraits sur l'uréase, le protocole de **Weatherburn, (1967)** avec quelques modifications a été adopté.

La transformation de l'urée par l'uréase entraîne une augmentation temporaire du pH par la production de l'azote ammoniacal (réaction). Le phénol rouge est utilisé comme révélateur pour la détection du changement de pH.

Réaction :



La méthode consiste à :

- Ajouter un volume de 100 µl d'acide borique comme standard à différentes concentrations ou les extraits des plantes dissous dans l'éthanol/DMSO (v/v : 1/1) à 300 µl de l'uréase (8 UI) dissous dans du tampon phosphate pH 7,4.
- Le mélange a été pré-incubé pendant 10min à 37°C dans l'étuve.
- Un volume de 750µl substrat (urée) à (50 mM) a été ensuite ajouté, suivi par 100 µl de phénol rouge (0.02 %).
- Après ré-incubation pendant 1h à 37°C l'apparition d'une couleur rose a été observée, dont l'absorbance a été mesurée à 540 nm.
- Le pourcentage d'inhibition a été calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = ((\text{Abs}_0 - \text{Abs}) / \text{Abs}_0) \times 100$$

Où :

Abs<sub>0</sub> : Absorbance du témoin.

Abs : Absorbance de l'échantillon.

L'absorbance de blanc est considérée dans tous les cas comme l'absorbance de la réaction enzymatique à T<sub>0</sub>.

### III.5. Analyse de docking moléculaire

L'étude de docking moléculaire a été réalisée à l'aide de programme d'Auto-Dock vina, via l'interface graphique AutoDock Tools (ADT 1.5.6). La structure cristalline tridimensionnelle de l'uréase de jack-bean (code PDB : 4gy7) a été obtenue de la banque de données de protéines du RCSB, dont la résolution était de 1.492 Å. La protéine de format PDB a été préparée au préalable, avant le docking, en éliminant les molécules d'eau de la protéine, en ajoutant tous les atomes d'hydrogène et fusionnant les atomes d'hydrogène non polaires en atomes de carbone. Les molécules (ligands); quercetin-3-O-rutinoside et quercetin-3-O-rhamnoside ; de structure 3D standard (format SDF) ont été obtenues de la banque de données pubchem et convertis en format PDB avec le programme Discovery Studio2016. Les fichiers PDB de la protéine et le ligand ; ont été ensuite transformés en fichiers PDBQT avec AutoDock Tools. La visualisation tridimensionnelle des ligands et leurs sites potentiels sur l'uréase ainsi que leur mode d'interaction ont été créées par le système graphique moléculaire Discovery Studio2016.



*Chapitre IV : Résultats et  
discussions*



## IV.1. Résultats de dosage des composés phénoliques

### IV.1.1. Teneur en phénols totaux

La teneur en phénols totaux de tous les extraits est évaluée par la procédure basée sur la méthode de Folin-Ciocalteu, dont l'acide gallique est utilisé comme un standard (figure 13). Les résultats exprimés en mg EAG/g d'extrait sec, sont représentés dans le Tableau IV.

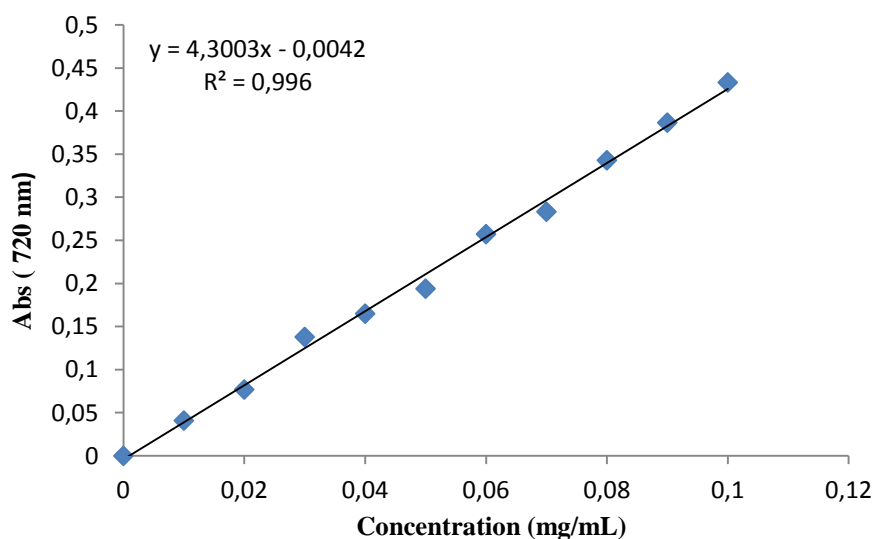


Figure 13 : courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique.

Tableau IV : Teneur en phénols totaux des extraits des plantes.

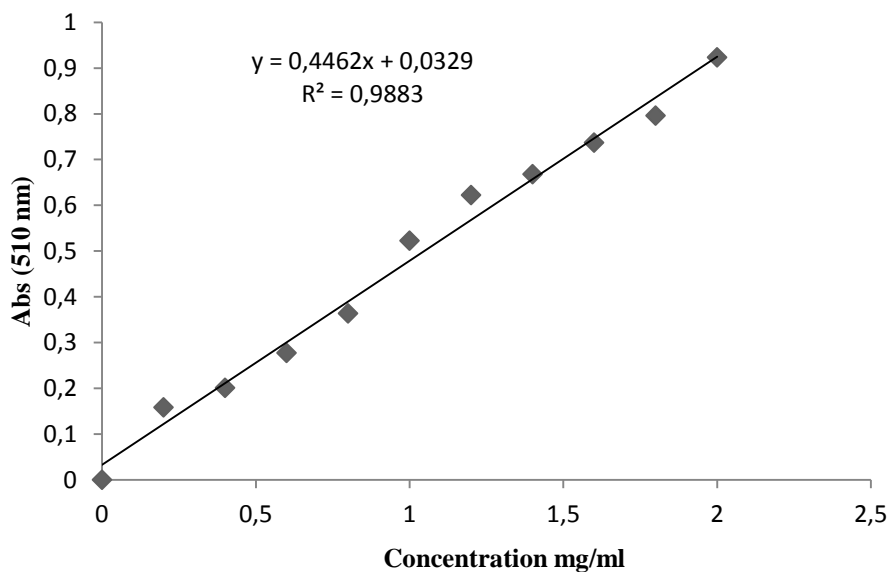
Plantes	Teneur en phénols totaux (mg EAG/g)
<i>Crataegus azarolus</i>	322,00 ± 4,41
<i>Rhamnus alaternus</i>	179,76 ± 3,53
<i>Cistus albidus</i>	384,22 ± 6,93
<i>Lonicera implexa</i>	209,61 ± 2,04

D'après ces résultats, les teneurs en phénols totaux montrent que la valeur la plus importante est celle de l'extrait de *Cistus albidus* (384,22 mg EAG/g) suivie par l'extrait de *Crataegus azarolus* (322,00 mg EAG/g). L'extrait de feuilles de *R. alaternus* et *L. implexa* ont montré, quant à eux, des teneurs moyennes de 179,76 (mg EAG/g) et 209,61

(mg EAG/g) respectivement. *Cistus ladanifer* qui est une plante de même genre que *C. albidus* a été rapportée par **Barrajón-Catalán et al., 2010**, comme étant une source importante en composés phénoliques qui sont associées à différentes activités biologiques telles que l'activité anti-oxydante, antimicrobienne et cytotoxique (**Barrajón-Catalán et al., 2010**). Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. D'après l'étude menée par El-Mustapha et Al-Thunibat (2008), l'extrait aqueux des feuilles de *C. azarolus* est classé en 5<sup>ème</sup> position sur l'ensemble des extraits de 21 plantes médicinales qu'ils ont analysées. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (**Aganga, 2001**).

#### IV.1.2. Teneur en flavonoïdes

Concernant l'estimation de nos extraits en flavonoïdes, les teneurs sont exprimées en mg ER/g d'extrait sec, à partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec la rutine (**figure 14**). Les résultats ainsi obtenus sont regroupés dans le **tableau VI**.



**Figure 14 :** Courbe d'étalonnage réalisée avec la rutine pour estimer la teneur des extraits des plantes en flavonoïdes.

**Tableau V:** Teneur en flavonoïdes des extraits des plantes.

Plantes	Teneur en flavonoïde (mg ER/g)
<i>Crataegus azarolus</i>	157,70 ± 11,44
<i>Rhamnus alaternus</i>	189,39 ± 07,62
<i>Cistus albidus</i>	188,47 ± 11,52
<i>Lonicera implexa</i>	62,12 ± 09,19

Les résultats obtenus montrent que parmi les différentes fractions de l'extrait phénolique, l'extrait de *C. albidus* représente la teneur la plus élevée (188,47 mg ER/g) suivi par l'extrait de *C. azarolus* (157,70 mg ER/g). Le pouvoir puissant de *Crataegus oxyacantha* peut être expliqué par le contenu phénolique des fleurs et feuilles. En raison de la teneur élevée des flavonoïdes, en particulier les oligomères proanthocyanidines, *Crataegus* a l'activité anti-oxydante significative (**Rakotoarison et al., 1997**). **Chiou et al (2008)** suggèrent que le traitement par l'air chaud (pendant le séchage) pourrait être produire quelques composés par le brunissement de Maillard ou brunissement enzymatique qui reflètent sur l'estimation de la teneur en flavonoïde. En revanche, la teneur la plus faible a été enregistrée pour l'extrait de *L. implexa* (62,12 mg ER/g).

## IV.2. Evaluation de l'activité antioxydante

Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant des principes phytochimiques, sont fondées sur la détermination de produits résultants de l'oxydation ou bien en mesurant l'efficacité d'une substance à piéger les radicaux (**Marc, 2004**).

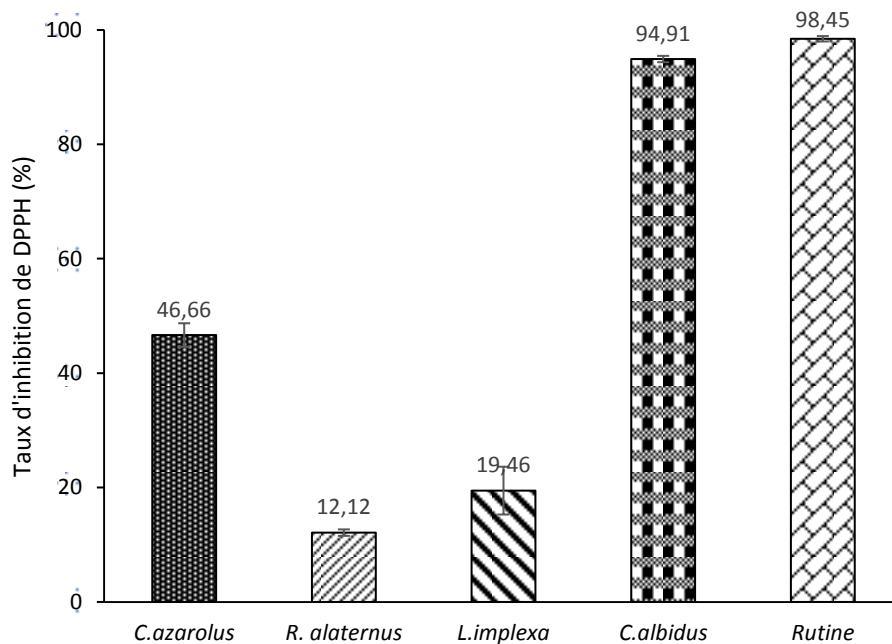
Il existe différentes méthodes pour déterminer le potentiel antioxydant des extraits des plantes : le test de décolonisation de  $\beta$ - carotène linoléate, le test DPPH, le test FRAP (Ferric Reducing /Antioxidant Power), l'activité scavenger contre le radical hydroxyle et contre le peroxyde d'hydrogène (**Kubola et Siriamornpun, 2008**), le test TEAC / ABTS + (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity) (**Wojdylo et al., 2007**), et plus récemment test ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) (**Rolland, 2004**).

Selon les moyens dont on dispose, dans ce modeste travail, nous avons appliqué le teste anti-DPPH et anti-ABTS pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits des plantes étudiées dans ce travail.

## IV.2.1. Test anti-DPPH

### IV.2.1.1. Résultats de l'activité anti-DPPH des extraits à 100 µg/ml

De la première lecture des résultats (**figure 15**), on remarque que l'effet anti-DPPH est variable d'une plante à une autre, et ce, pourrait être lié à leur contenu variable en composés phénoliques à caractère antioxydant. En effet, à la concentration de 100 µg/ml, l'extrait de *C. albidus*, a montré un pourcentage assez important avoisinant une moyenne de 94.91%. Cette activité est plus proche à celle de molécule standard testée en parallèle : rutine (98.45%). L'extrait de feuilles de *C. azarolus* a manifesté un effet moyen de 46.66%, alors que, les extraits correspondants à *R. alaternus* et *L. implexa* ont montré des pourcentages très faibles de 12.12 % et 19.46 % respectivement. Ce résultat s'expliquerait non seulement par la richesse des extraits des plantes en polyphénols (quantité), mais aussi par la nature (qualité) de leurs composés phénoliques hydrosolubles qui sont connus par la présence des groupements hydroxyles fortement impliqués dans l'activité anti-radicalaire (**Robards et al., 1999**).

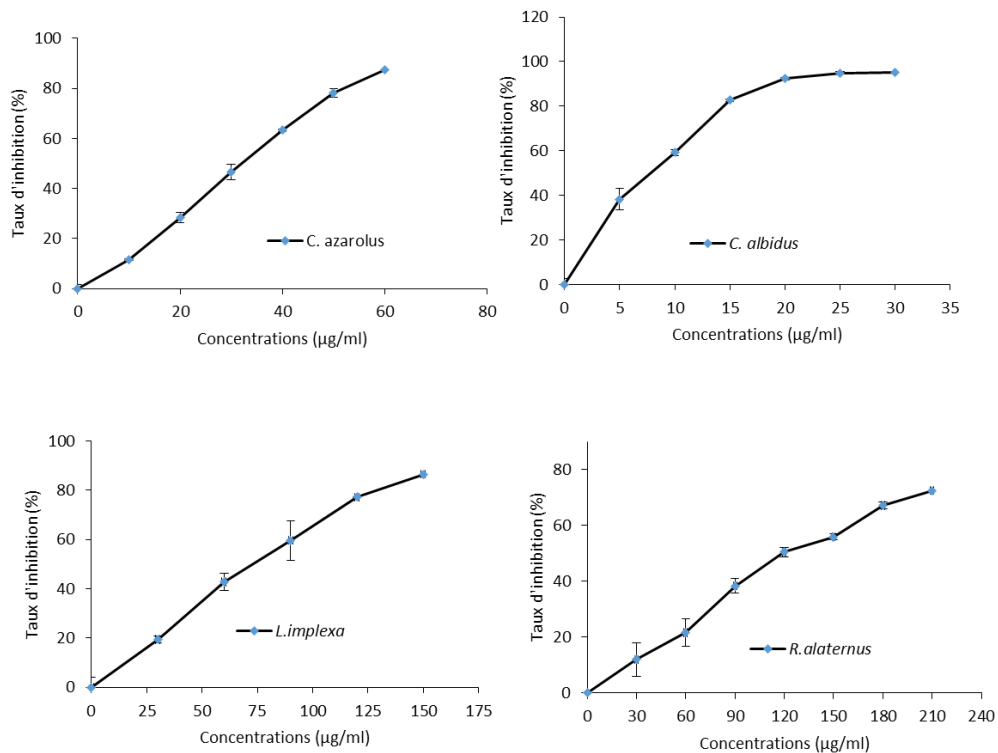


**Figure 15** : Histogramme des activités anti-DPPH des extraits à 100 µg/ml.

### IV.2.1.2. Résultats de l'activité anti-DPPH en fonction de la concentration des extraits

L'évaluation de l'activité anti-DPPH des extraits des plantes à différentes concentrations est menée dans le but de déterminer les concentrations inhibitrices à 50% ( $IC_{50}$  %). Les  $IC_{50}$ , par définition, sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet anti-radicalaire important (Villano *et al.*, 2007; Kadri *et al.*, 2009). Les valeurs de l' $IC_{50}$  calculées pour chaque extrait ainsi que celle de standard, sont regroupées dans le tableau (VI).

D'après les résultats obtenus, nos extraits éthanoliques des composés phénoliques possèdent des capacités de neutralisation du radical libre DPPH puissantes, selon des gammes de concentrations appropriées pour chaque plante (Figure 16).



**Figure 16 :** Effet anti-DPPH en fonction de la concentration des extraits de feuilles de *Cistus* et *Crataegus*.

**Tableau VI :** Valeurs des IC<sub>50</sub> (µg/ml) de l'activité anti-DPPH.

Plantes	Valeurs d'IC <sub>50</sub> (µg/mg)
<i>Crataegus azarolus</i>	33,50 ± 4,01
<i>Rhamnus alaternus</i>	112,80 ± 1,11
<i>Cistus albidus</i>	7.30 ± 2,86
<i>Lonicera implexa</i>	61,60 ± 3,49
<i>Rutine</i>	2,85 ± 0,15

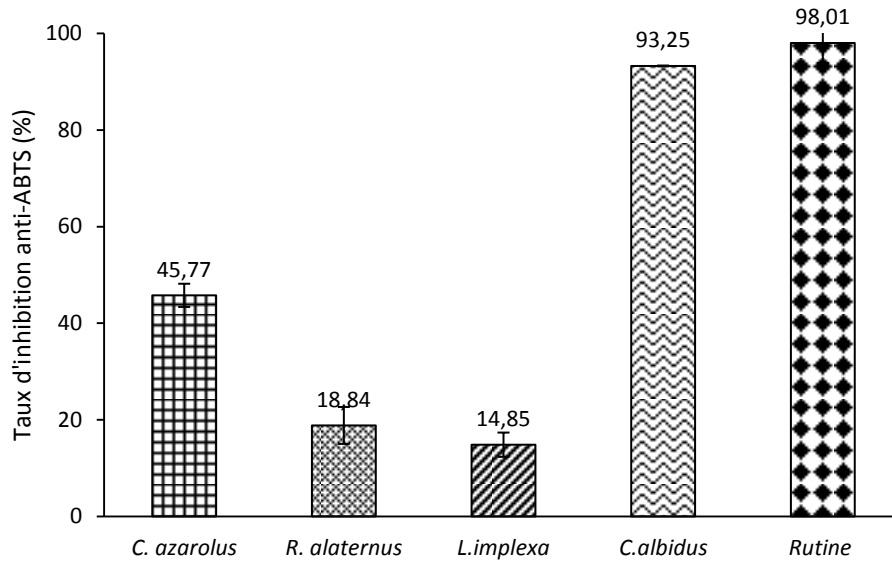
L'extrait de *C. albidus* est le plus efficace en termes d'activité anti-radicalaire en manifestant l'IC<sub>50</sub> le plus basse (7.30 µg/ml), mais qui reste moins importante en comparaison à celle de standard : rutine (2,85 µg/ml). L'étude de l'extrait méthanolique menée par **Nagai et al (2005)** a montré aussi, que les hydrolysats du pollen du Ciste comportent des composés phénoliques et qui sont dotés d'un bon pouvoir antioxydant.

L'extrait de feuilles de *C. azarolus* a donné une IC<sub>50</sub> de 33,50 (µg/ml) et les extraits de *R. alaternus* et *L. implexa* ont exprimé les IC<sub>50</sub> les plus élevées, reflétant ainsi les activités anti-radicalaires les plus faibles.

## IV.2.2. Test anti-ABTS

### IV.2.2.1. Résultats de l'activité anti-ABTS des extraits à 100 µg/ml

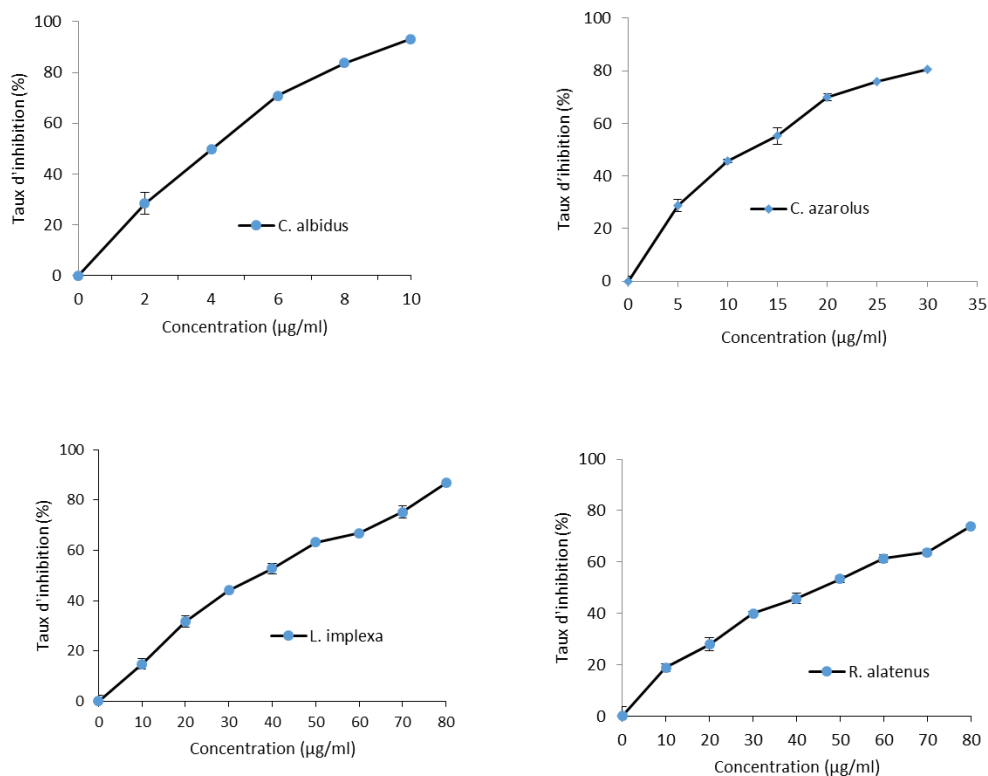
Tout comme dans l'activité anti-DPPH, la figure ci-dessous montre que l'extrait *C. albidus* à la concentration 100µg/ml, a une bonne activité anti-radicalaire anti-ABTS (93%) très proche à celle de la molécule standard (98.88%). Et de même aussi, l'extrait de *C. azarolus* est venu en deuxième lieu avec un effet moyen de 45.77%, suivi par l'extrait de feuilles de *R. alaternus* et *L. implexa* qui ont exprimé des effets faibles (**figure17**). Le comportement similaire des extraits des plantes entre l'effet anti-DPPH et l'effet anti-ABTS, peut être expliqué par le fait des propriétés chimiques communes entre les deux radicaux libres ainsi que l'effet anti-oxydant considéré dans ces tests est basé sur le même mécanisme moléculaire qui est l'effet anti-radicalaire. L'extrait méthanolique et éthanolique de *C. ladaniferus* ; une plante de la même famille de *C. albidus* ; a été aussi rapporté comme étant très active à de faible concentrations selon **Mahassine et al (2010)**.



**Figure 17 :** Effet anti-ABTS des extraits des plantes à 100 µg/ml.

#### IV.2.2.2. Résultats de l'activité anti-ABTS en fonction de la concentration des extraits

Le profil d'activité anti-radicalaire à différentes concentrations de chaque extrait testé vis-à-vis du radical ABTS est présenté dans la figure ci-dessous. Toujours les extraits de *C. albidus* qui présentent une activité anti-radicalaire la plus importante en reflétant l'IC<sub>50</sub> la plus basse. Comme il peut être constaté sur la figure 18, le pourcentage de l'ABTS réduit par l'extrait de *C. albidus*, montre une augmentation rapide de ce dernier dans un intervalle très réduit de la dose de l'extrait brut.



**Figure 18 :** Effet de l'activité anti-ABTS des extraits à différentes concentrations.

**Tableau VII :** Valeurs des  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) de l'activité anti-ABTS.

Plantes	Valeurs d' $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mg}$ )
<i>Crataegus azarolus</i>	$12,47 \pm 1,41$
<i>Rhamnus alaternus</i>	$40,65 \pm 3,01$
<i>Cistus albidus</i>	$4,45 \pm 0,41$
<i>Lonicera implexa</i>	$35,12 \pm 2,51$
<i>Rutine</i>	$1,70 \pm 0,04$

L' $IC_{50}$  de *C. albidus* est  $4,45\mu\text{g/ml}$  ; elle presque trois fois moins celle de *C. azarolus* ( $12,47\mu\text{g/ml}$ ). D'autre part et prévisiblement, l'extrait de feuilles de *R. alaternus* et *L. implexa* ont montré des  $IC_{50}$  proches mais qui restent très élevées indiquant ainsi qu'elle sont faible pour détruire le radicale ABTS.

### IV.3. Corrélation entre l'activité anti-oxydante et teneur en phénols totaux

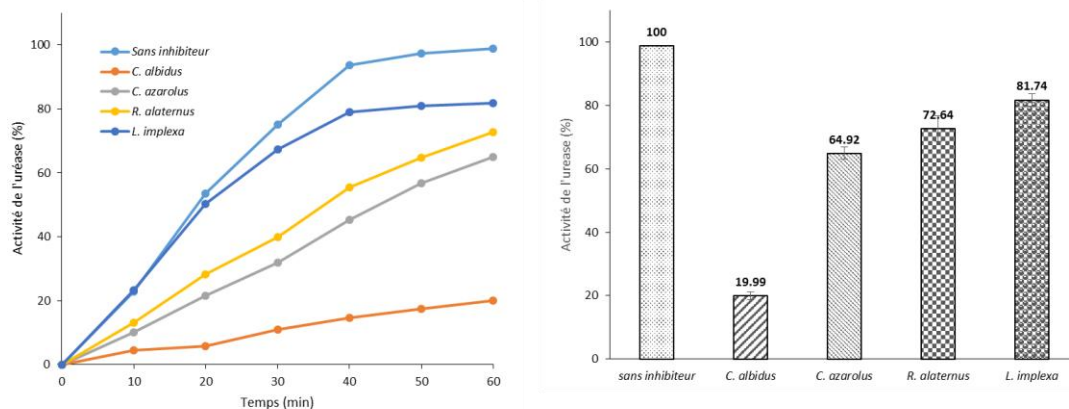
Le tableau ci-dessous montre une bonne corrélation, entre l'activité anti-ABTS et anti-DPPH des extraits des plantes et leurs teneurs en phénols totaux, avec des coefficients avoisinant de 0,9. Ceci suggère que environs 90% des composés phénoliques sont à l'origine de l'effet anti-radicalaire manifesté par les extraits brutes de nos plantes. Cependant, la teneur en flavonoides n'a pas montré une bonne corrélation avec l'activité anti-radicalaire des plantes.

**Tableau VIII:** Corrélation entre l'activité anti-oxydante et teneur en phénols totaux

	Coefficient de corrélation ( $R^2$ )	
	phénols totaux	Flavonoides
Test anti-DPPH	0,91	0,18
Test anti-ABTS	0,90	0,28

### IV.4. Activité inhibitrice anti-uréase

#### IV.4.1. Activité inhibitrice anti-uréase à la concentration de 500 $\mu$ g/ml



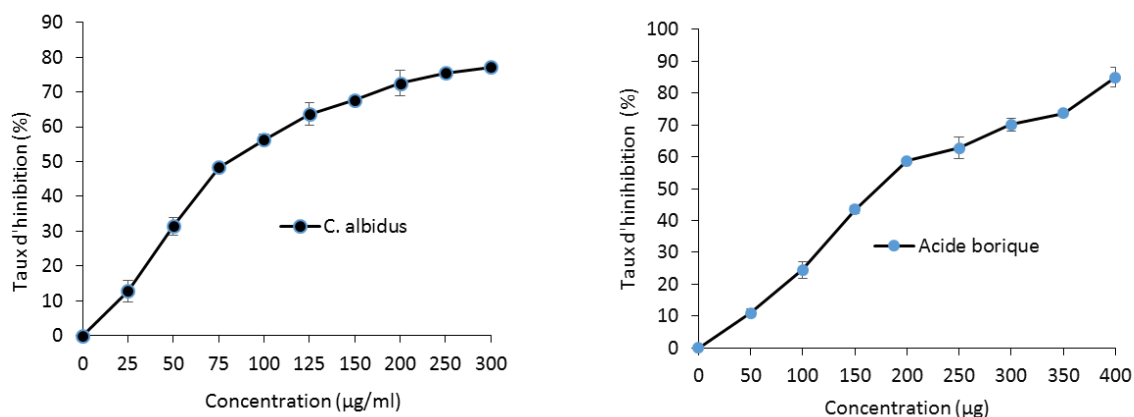
**Figure 19 :** Effet inhibiteur sur l'uréase des extraits des plantes à 500 $\mu$ g/ml.

L'évaluation de l'activité inhibitrice sur l'enzyme uréase par les extraits des plantes a été menée au préalable à une concentration de 500 $\mu$ g/ml, et ce, juste pour déterminer à titre préliminaire le pouvoir inhibiteur de nos plantes sur cette enzyme. Les résultats (**figure19**) montrent que l'effet inhibiteur des plantes est variable, et cela pourrait

être dû au contenu en molécules bioactives, de point de vue quantitatif et qualitatif au niveau des extraits des plantes. A partir de la (**figure 19**) on constate qu'après une heure d'incubation, l'activité enzymatique de l'uréase a atteint les niveaux les plus élevés sans inhibiteur, tandis que en présence des extraits des plantes, chacune à part, la réaction enzymatique de l'uréase a été réduite. En effet, en présence de l'extrait de *L. implexa* et *R. alaternus*, l'activité de l'uréase a été de 81.74 % et 72.64 % respectivement. D'autre part, avec l'extrait de *C. azarolus*, l'uréase a donné un taux d'activité de 64.92 % uniquement, alors que avec l'extrait de feuilles de *C. albidus*, l'uréase a donné un taux d'activité de 20% exclusivement, autrement dit l'activité enzymatique de l'uréase a été réduite 5 fois en comparaison au témoin positif (sans inhibiteur) ce qui indique que *C. albidus* est très efficace pour son pouvoir inhibiteur vis-à-vis de l'enzyme uréase.

#### **IV.4.2. Activité inhibitrice anti-uréase à différentes concentrations de l'extrait de *C. albidus***

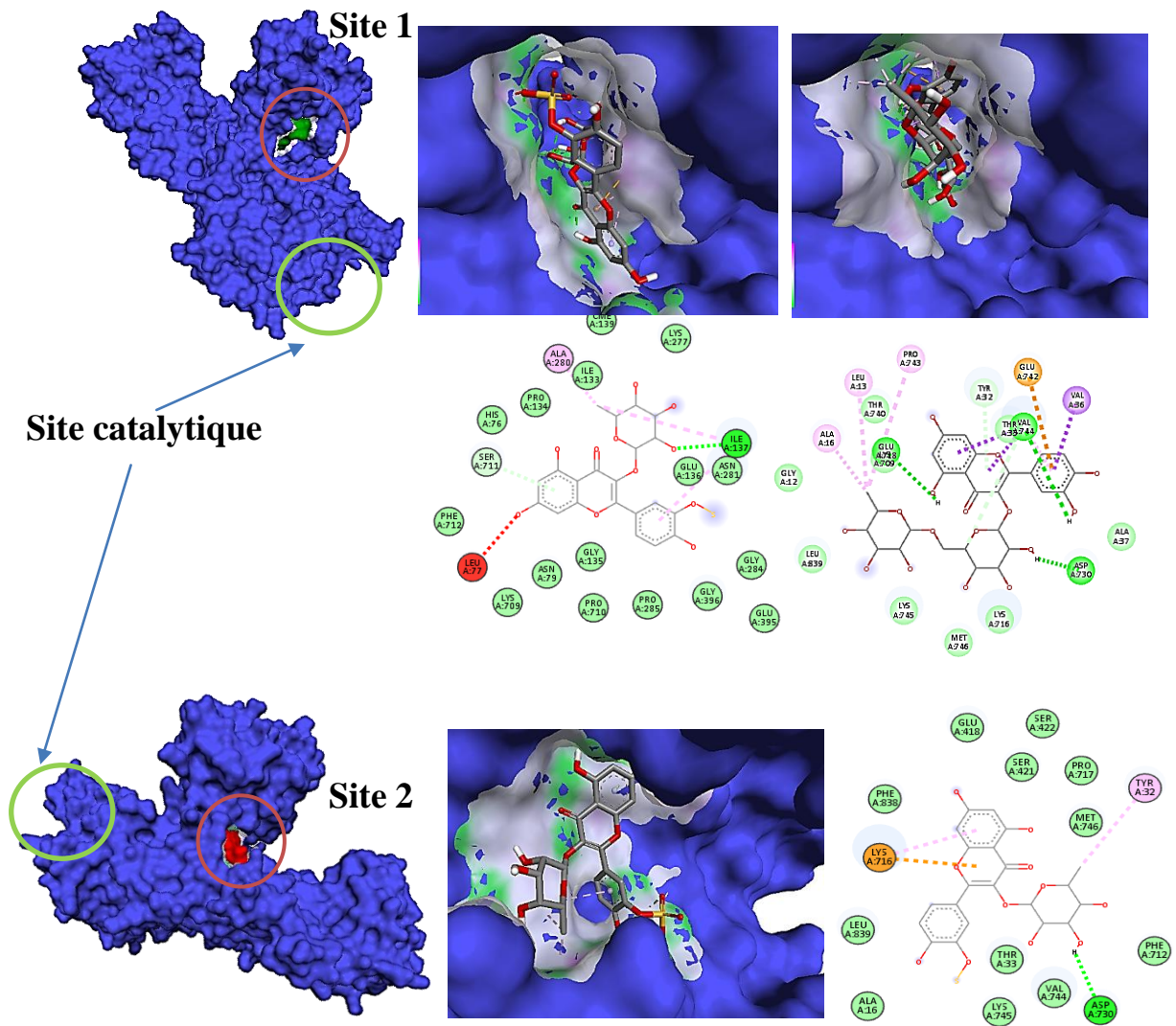
Sur la base des résultats précédents, l'extrait de feuilles de *C. albidus* a été sélectionné et testé à différentes concentrations dans le but de déterminer sa concentration inhibitrice à 50% (IC<sub>50</sub>). L'acide borique a été testé dans les mêmes conditions en tant que molécules standard. A partir de résultats obtenu, on a constaté que l'effet inhibiteur sur l'uréase est dépendant de la concentration qui s'étale sur une gamme de dilution allant de 25 à 250µg/ml. Ainsi, la concentration inhibitrice à 50% a été estimée à 77.56 µg/ml pour l'extrait de feuilles de *C. albidus*, alors que pour l'acide borique l'IC<sub>50</sub> est estimée à 175µg/ml ; soit disant deux fois supérieur à celle de la plante *C. albidus* pour atteindre le même effet de 50% d'inhibition ; autrement dit la plante *C. albidus* est deux fois plus efficace que la molécule standard ; l'acide borique. Des plantes médicinales des extraits de certaines herbes médicinales couramment consommées dans la médecine traditionnelle iranienne ont été examinées pour leur pouvoir d'inhibition sur l'uréase (**Mahernia et al., 2015**). Excepte la plante *Ginkgo biloba L.* qui a montré une IC<sub>50</sub> très faible (36.17µg/ml), l'extrait de notre plante ; *C. albidus* ; s'est avéré plus efficace. Une autre plante médicinale, dont le nom est *Scutellaria baicalensis Georgi* (famille des *Labiatae*), a été citée par **Tan et al., 2013**, pour être efficace contre l'uréase et cet effet serait du d'après la même étude à sa richesse en une molécule bioactive majoritaire ; Baicalin qui est un flavonoïde glycosylé . La quercétin glycoside qui a été isolée en grande quantité à partir de feuilles de *C. albidus* (**Tahiri et al., 2017**) a été rapportée comme un inhibiteur potentiel pour l'uréase (**Shabana et al., 2010**).



**Figure 20:** Effet inhibiteur sur l'uréase des extraits des plantes à différentes concentrations.

#### IV.5. Prédiction de mode de mécanisme d'action *in silico* de certaines molécules isolées de feuilles de *C. albidus*

Les molécules de nature flavonoïde glycosylé isolées à partir de feuilles de *C. albidus* ont été sélectionnées pour prédire leur mode d'action et leur affinité vis-à-vis de l'enzyme uréase. Effectivement ces molécules à savoir, la quercetin-3-O-rutinoside et quercetin-3-O-rhamnoside, ont montré respectivement des docking scores de -9.0 (kcal/mol) et -8.7 (kcal/mol) respectivement. Les deux molécules ont montré une affinité très importante pour le site indiqué sur la figure suggérant qu'ils exercent leur effet inhibiteur sur l'enzyme en occupant ce site. Des flavanoides étudiés par **Kataria, et Khatkar, 2019** sur l'inhibition de l'uréase ont montré des effets inhibiteurs très intéressants avec des valeurs de docking score entre -7 et -10 kcal/mol. Ces valeurs de docking score sont très proches de celles manifestées par les molécules sélectionnées de *C. albidus* ce qui nous laisse prédire qu'elles seraient de potentiels inhibiteurs sur l'uréase et qu'ils contribuent très probablement dans l'inhibition de l'uréase par *C. albidus*.



**Figure 21** : Prédiction de mécanisme moléculaire de la quercetin-3-O-rutinoside et quercetin-3-O-rhamnoside



## *Conclusion*

Dans ce travail nous avons porté intérêt sur quelques plantes médicinales sectionnées sur la base de leur utilisation par la population locale en Algérie dans le but de les mettre en valeur sur la base des preuves scientifiques en évaluant leur contenu en molécules bioactives notamment les composés phénoliques, et aussi en considérant leur pouvoir antioxydant ainsi que leur effet inhibiteur sur l'enzyme uréase.

De nos résultats, il s'est avéré que la plante *C. albidus* est une source inestimable en polyphénols en exhibant les taux les plus élevés en phénols totaux et en flavonoïdes et de même, comme c'est prévisible, cette plante a exprimé l'activité anti-radicalaire la plus efficace en comparaison à celle des plantes testées en parallèle. Cependant cette plante reste moins importante à la routine utilisée ici comme molécule anti-oxydante standard. De façon intéressante, nous avons constaté que l'extrait de feuilles de *C. albidus* a exprimé également l'effet inhibiteur le plus important. L'IC50 de l'inhibition de *C. albidus* pour l'enzyme uréase était plus significative en comparaison à l'acide borique utilisé ici comme inhibiteur standard de l'enzyme. Cet effet inhibiteur est tellement intéressant que nous avons tenté de prédire le mode d'action de certaines molécules déjà isolées à partir de feuilles de cette plante, à savoir la quercetin-3-O-rutinoside et quercetin-3-O-rhamnoside. Ces molécules sont sélectionnées en étant rapportées dans d'autres études comme inhibiteur potentiel de l'enzyme uréase. Les deux molécules sélectionnées pour prédire leur mode d'action sur l'enzyme ont montré une affinité très forte avec un site de liaison proche de site catalytique de l'enzyme ce qui laisse supposer que cela peut affecter la réaction catalytique de l'enzyme.

La plante qui mérite de l'intérêt est *C. azarolus* qui a montré des propriétés antioxydantes acceptables. Elle est venue en deuxième lieu après les feuilles de *C. albidus*. Alors que les feuilles de *L. implexa* et *R. alaternus* leur teneur en composés phénoliques et leur propriétés biologiques étaient faibles mais rien empêche que d'autres propriétés restent à confirmer pour ces plantes de moment qu'elles sont utilisées en médecine traditionnelle.

Dans cette étude nous avons apporté pour la première fois de nouveaux éléments sur les propriétés biologiques des plantes sélectionnées notamment l'effet inhibiteur vis-à-vis l'enzyme uréase. L'effet inhibiteur intéressant exprimé par les feuilles de *C. albidus* reste basé sur des généralités peu détaillées. Cela nous laisse dire que nos résultats restent partiels et que d'autres travaux sur ces plantes s'imposent aux niveaux pharmacologiques et chimiques. Il serait essentiel, à l'avenir de préciser la nature des composés phénoliques, en utilisant des méthodes plus avancées telles que l'HPLC, la GC-MS et la RMN. Aussi, il serait intéressant de tester les composés identifiés individuellement et déterminer leur mode d'action sur l'enzyme uréase. Finalement, il est impératif de vérifier l'absence d'effets cytotoxiques des composés.



## *Références bibliographiques*

- **Abderrazak M., Joël R. (2007).** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. pp. 177.
- **Adjadj, M. 2009.** Propriétés anti oxydantes et activité inhibitrice de la xanthine oxydase des extraits de la plante médicinale *ajugaiva*(l.) schreber. *Université Mentouri Constantin*.
- **Adjdir, S., Benariba, N., Laoufi, H., & Djaziri, R. (2018).** Phenolic content and antioxidant activity of *Ziziphus jujuba* Mill. Fruit extracts. *Phytothérapie*.
- **Afr J, Phil. Trans. R. Soc. B. (2007).** Herbal remedies and their adverse effects in Tem tribe traditional medicine in Togo. *innovation in China*; 362: 1093-1105..
- **Aganga, A. A., & Mosase, K. W. (2001).** Tannin content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capassa*, *Zizyphus mucronata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1-2), 107-113.
- **Aït Youssef, M. (2006).** Plantes médicinales de Kabylie. *Édition Ibis Press. Paris. 349p*
- **Ammar, RB, Kilani, S., I. Bouhlel, Shair, MB, I. Skandrani, J. Boubaker, ... et Chekir-Ghedira, L. (2007).** Etude chimique de différents extraits et huiles essentielles des tubercules de *Cyperus rotundus* (tunisien). Corrélation avec leurs propriétés antiradicalaires et antimutagènes. *Annals of microbiology* , 57(4), 657.
- **Aruoma, O.I. (1999).** Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific J Clin Nutr*, 8: 53-63
- **Atefeibu E.S.I. (2002).** Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'*Acacia Nilotica Var Andesonii*. Thèse de Doctorat, Université cheikh Anta Diop de Dakar. Pp 33.
- **Aziz, K et Bonnet, D. Foppa, B. (2012).** Hépto-gastro-entérologie. Paris : edition Masson. 2ème édition. P 322-323
- **Bae, E. A., Han, M. J., & Kim, D. H. (2001).** In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of irisolidone isolated from the flowers and rhizomes of *Pueraria thunbergiana*. *Planta medica*, 67(02), 161-163.
- **Bahorun T. (1997).** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius*. 83 94.
- **Barrajón-Catalán .E; S. Fernández-Arroyo; D. Saura; E. E. Guillén; A. A. Fernández-Gutiérrez; A. A. Segura-Carretero; V. (2010).** Les extraits aqueux de Cistaceae contenant des ellagitannins présentent une capacité antioxydante et antimicrobienne, ainsi qu'une activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses humaines. *Toxicologie alimentaire et chimique* , 48 (8-9), 2273-2282.
- **Beddou F. (2015).** Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius L.* et *Anvillea radiata Coss.* & Dur. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen, Algérie

- **Beers, H.M ; Fletcher, J. A. ; Jones, V. T.;Poter, R. ; kaplan,L. J. (2007).**Larousse, L'encyclopédie Médicale, *Le ManuleMerk. Les éditions Larousse.Paris.*1870p.
- **Berrin, Y. ; Ali, O. ;Umut, S. ; Meltem , E. ; Murat , B. ; Barut,Y.(2006).** Multi-organotoxicityfollowing ingestion of mixed herbal préparations : *unusual but dangerous adverse effect of phytotherapy. European Journal of InternalMedicine, 17 :130-132*
- **Bommelaer G et Stef A. (2009).** Ulcère gastroduodéal : avant et après *Helicobaceter pylori. Gastroentérologie Clinique et Biologique, 33 : 626-634.*
- **Bonfil R.D., Russo D.M., Binda M.M., Delgado F.M., Vincenti M. (2002)** Higher antitumor activity of vinflunine than vinorelbine hagainst an orthotopic murine model of transitional cell carcinoma of the bladder. *Urologic Oncology.;* 7 (4): 159-166.
- **Bontems P et Kalach N. (2009).** Ulcères et érosions gastroduodénaux chez l'enfant, ulcère gastrique chez l'enfant. *Archives de pédiatrie, 16: 861-862.*
- **Bordes, C., Bouarab-Chibane, L., Forquet, V., Lantéri, P., Clément, Y., LEONARD, L., ... & DEGRAEVE, P. (2019).** Antibacterial properties of polyphenols: characterization and QSAR (Quantitative structure–activity relationship) models. *Frontiers in microbiology, 10, 829.*
- **Bors, W. ;Michel, C. ; Stettmaier, K. (1997).** Antioxidant effects of flavonoids. *BritichLibrary, 6 :399\_402.*
- **Bouvenot G et Charles C. (2011).** Guide du bon usage du médicament. Paris:Lavoisier médecine sciences publications. 263 p.
- **Brown J. E. (1998). Khodr H. ; Hider R.C. ; Rice-Evans C. ; Biochem. J., 330, 1173-1178.**
- **Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 2ème Ed. Paris: Tec & Doc Lavoisier, P. 268-277.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed. Paris: Tec & Doc Lavoisier, P. 207-211.
- **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème Ed. Paris: Tec & Doc Lavoisier.
- **Carlini C et Ligabue-Braun R. (2016).** Ureases as multifunctional toxic proteins: a review. *Toxicon, 110: 90-109.*
- **Castillo-Reyes, F., Hern&andez-Castillo, F. D., Clemente-Constantino, J. A., Gallegos-Morales, G., Rodr&iguez-Herrera, R. U., & Aguilar, C. O. N. E. (2015).** In vitro antifungal activity of polyphenols-rich plant extracts against *Phytophthora cinnamomi Rands. African Journal of Agricultural Research, 10(50), 4554-4560.*
- **Catier O. and Roux D. (2007).** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie: Cahiers du préparateur en pharmacie. 3ème ed. France: *Wolters Kluwer.*
- **Chiou, BJ et Youngs, RR (2008).** Un modèle NGA pour la composante horizontale moyenne du mouvement maximum du sol et des spectres de réponse. *Spectre sismique , 24 (1), 173-215.*

- **Collin S. and Crouzet J. (2011).** Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Paris : Tec & Doc Lavoisier.
- **Cotelle, N.; Bernier, J. L.; Catteau, J.P.; Pommery, J.; C. ; Gaydou, E.M. (1996).** Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radical Biology&Medicine*, 20:35-43.
- **Cseke, J. L.; Kirakosyan, A.; Kaufman, P. B.; Warber, S.; Duke, J.A. ; Brielmann, H. L. (2006)** .Natural Products from Plants. Taylor& Francis Group.2<sup>nd</sup>ed.New York.551p.
- **Dacosta Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.
- **Diallo, D.; Sanogo, R.; Yasambou, H.; Traoré, A. ; Coulibaly, K.; Maïga, A. 2004.**Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (*Rhamnaceae*), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C. R. Chimie*, 7 :1073-1080.
- **Dimas K., Demetzos C., Angelopoulou D, Antonios K. et Mavromoustakos T. (2000).** Biological activity of myricetin and its derivatives against human leukemic cell lines *in vitro*. *Pharmacological Research*. 42: 467-478.Doc, Paris, p. 2-10.
- **Elicoh-Middleton J.R., Chithan K. and Theoharis C. (2000).** Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental therapeutics*, 4(52), 673-751.
- **Emle C. (2016).** *Helicobacter pylori* : actualités et nouvelles recommandation thérapeutiques. *Option Bio*, 27 : 21-22.
- **Erlund I. (2004).** Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*, 24, 851-874.
- **Fakim, G. A. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27 1–93.
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*.
- **Fiorucci S. (2006).** Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice, 211p.
- **Formica J-V and Regelson W., (1995).** Review of the Biology of quercétin and related Bioflavonoids. *Fd Chem.Toxic*, 33: 1061-1080.
- **Fragoso, R. L. ; Reyes, E. J.; Burchielb, S.; Herrera, R. D. ; Torresc, E.(2008).** Risks and benefits of commonly used herbal medicines in méxico. *Toxicol Appl pharmacol*, 227(1) :125-135.
- **Frantz S. (2004).** approvals: the demise of the blockbuster. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2005; 4 (2): 93-94.
- **Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A. And Fernández-Gutiérrez A. (2010).** Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, 15, 8813-8826.

- **Gay B., Jean-Noel B., Albert T et Jacques B. (2013).** Thérapeutique en médecine général. Paris : *Global média santé*. 844 p.
- **Goldberg B.** Alternative Medicine: The Definitive Guide. Tiburon, Calif: Future Medicine
- **Graul A.I. (2001).** The year's new drugs. *Drug News and Perspectives.*; 14(1): 12-31.
- **Guinard J. L. (1998).** Botanique. 11<sup>ème</sup> édition révisée. *Edition Masson*. 278p.
- **Hadi, M. (2004).** La quercetine et ses dérivés: molécules a caractère pro- oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. *Université Louis Pasteur*.
- **Hamza, N. (2011).** Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimentale induit par le régime « *high fat*» chez la souris C57BL/6J.
- **Hartmann T. (2007).** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Photochemistry*, 68, 2831-2846.
- **Heinrich M., Teoh H.L. (2004).** Galanthamine from snowdrop the development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge. *Journal of Ethnopharmacology.*; 92 (2 – 3): 147-162.
- **Iserin, P. ; Masson, M. ; Restellini, J. P. ; Ybert E. ; De Laage de Meux, A. ; Moulard, F. ; Zha, E., De la Roque, R. ; De la Roque, O. ; Vican, P. ; Féat, D.T. ; Biaujeaud, M. ; Ringuet, J. ; Bloth, J. ; Botrel, A. (2001) .** Larousse des plantes medicinales : identification,préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.
- **Javanovic, S.V. ; Steenken, S. ; Tosic, M. ; Marjanovic. ; B, Simic, M.J.( 1994).** Flavonoids as antioxydants. *Journal of the American Chemical Society*. 316: 4846-4851.
- **Jessica, T.( 2011).** Optimisation et caractérisation d'un extrait de cassis riche en antioxydants utilisable comme complément alimentaire et étude de ses effets sur la vasorelaxation dépendante de l'endothélium. *Académie Universitaire Wallonie-Europe*.
- **Joutei H., Hilali A., Fechтали T., Rhallabiet N et Benomar H. (2010).** L'infection à Helicobacter pylori chez 755 patients présentant des symptômes digestifs : Institut Pasteur du Maroc 1998-2007. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 16(7) :778-782.
- **Kataria, R., & Khatkar, A. (2019).** Molecular docking, synthesis, kinetics study, structure–activity relationship and ADMET analysis of morin analogous as Helicobacter pylori urease inhibitors. *BMC Chemistry*, 13(1), 45.
- **Kaur, R. ; Arora, S. ; Singh, B. (2008).** Antioxidant activity of the phenol rich fractions of leaves of *Chukrasia tabularis* A. Juss. *BioresourceTechnology*, 99 :7692-7698.
- **Khadri, A. ; Neffati, M. ; Smiti, S. ;Fale , P. ; lion ,A. ; Rosa L .;Serralheiro , M. ; Luisa M., Araujo, M. ; Eduarda, M. (2009).** Antioxidant, antiacetylcholinesterase and antimicrobialactivites of *Cymbopogonschoenanthus* L. Spreng (lemongrass) fromTunisia .*LWT-Food Science and Technology*, 43 :331-336.

- **Khan.A.N., Kumar.D., Arya.V., Bhat .Z.q.A., Prasad.D.N. ( 2012).** The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 22(5): 1187-1200.
- **Koosirirat C., Sukanya L., Don C., Kriangkrai C et Jiraprapa W. (2010).** Investigation of the anti-inflammatory effect of *Curcuma longa* in *Helicobacter pylori* infected patients. *International Immunopharmacology*, 10 (7): 815-818.
- **Korwin J. (1999).** Les maladies gastroduodénales et l'infection à *l'Helicobacter pylori*. *Revue française des laboratoires*, 1999 (316) : 41-46.
- **Kraft, K.(2009) .** Complementary/Alternative Medicine in the context of prevention of disease and maintenance of health. *PreventiveMedicine*, 49 :88-92.
- **Krief S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda, activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat. Brunoy, 237 p.
- **Krisa S., Waffo Teguo P., Decendit A., Deffieux G., Huguet F., Fauconneau B. and Mérillon J M. (1997).** Production, purification et activité biologique des picéïdes (stilbènes) extraits de cultures cellulaires de *vitis vinifera* L. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 136, 7-18.
- **Kubola, J. ; Siriamornpun, S. (2008).** Phenolic contents and antioxidantactivities of bitter gourd (*Momordicacharantia* L) leaf stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chemistry*, 110 :881-890.
- **Laghari, A. H., Memon, S., Nelofar, A., Khan, K. M., Yasmin, A., Syed, M. N., & Aman, A. (2010).** A new flavanone with urease-inhibition activity isolated from roots of manna plant camelthorn (*Alhagi maurorum*). *Journal of Molecular Structure*, 965(1-3), 65-67.
- **Lahsissene H., Kahouadji A., Tijane M. et Hseini S.N. (2009).** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). *Revue de botanique*. 186 :4-30.
- **Landolf R., Mower R. L., Steiner M., (1984).** Modification of plateletfunction and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids structure activity relation. *Biochem Pharmacol.*, 269: 2971-2979.
- **Loi, M. C.; Poli, F.; Sacchetti, G.; Seleno, M.B.; Ballero, M. (2004).** Ethnopharmacology of Ogliastra (Villagrande Strisaili, Sardinia, Italy). *University of Cagliari, Viale S. Ignazio 13, I-09123 Cagliari, Italy. Fitoterapia* 75. 277–295.
- **Lotsch J., Geisslinger G. ( 2001).** Morphine-6-glucuronide: an analgesic of the future? *Clinical Pharmacokinetics.*; 40(7): 485-499.
- **Macheix J.J., Fleuriet A. and Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, *Lausanne*, p. 4-5.

- **Mahassine Amensour, Samira Bouhdid, Juana Fernández-López, Mohamed Idaomar, Nadia Skali Senhaji et Jamal Abrini (2010)**, activité antibactérienne d'extraits de *Myrtus communis* contre les bactéries pathogènes et responsables de l'altération d'origine alimentaire, *International Journal of Food Properties*, 13: 6, 1215. -1224 .
- **Mahernia, S., Bagherzadeh, K., Mojab, F., & Amanlou, M. (2015)**. Urease inhibitory activities of some commonly consumed herbal medicines. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(3), 943.
- **Maisuthisakul, P., Suttajit, M. et Pongsawatmanit, R. (2007)**. Évaluation du contenu phénolique et de la capacité de piégeage des radicaux libres de certaines plantes indigènes thaïlandaises. *Chimie alimentaire*, 100 (4), 1409-1418.
- malaria: from medicinal herb to registered medication. *Trends in Pharmacological*
- **Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M. & Fritsch, P. (2004)**. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S :médecine sciences*, 20 (4), 458–463.
- **Marcy J., Balunas A. Douglas Kinghorn**. Drug discovery from medicinal plants. *Life*
- **Marles, RJ et Farnsworth, NR (1995)**. Plantes antidiabétiques et leurs composants actifs. *Phytomedicine*, 2 (2), 137-189.
- **Marrassini, C., Peralta, I., & Anesini, C. (2018)**. Comparative study of the polyphenol content-related anti-inflammatory and antioxidant activities of two *Urera aurantiaca* specimens from different geographical areas. *Chinese medicine*, 13(1), 22.
- **Masuelli, L., Benvenuto, M., Mattera, R., Di Stefano, E., Zago, E., Taffera, G., ... & Modesti, A. (2017)**. *In vitro* and *in vivo* anti-tumoral effects of the flavonoid apigenin in malignant mesothelioma. *Frontiers in pharmacology*, 8, 373.
- **McCord, J.M. (1995)**. Superoxide radical: Controversies, contradictions and paradoxes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 202, 112-117.
- **Medjdoub H. (2006)**. Etude phytochimique et activités biologiques de *Zygophyllum geslini* Coss. Mémoire de magistère, Université de Tlemcen.
- **Mitra, S.** Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry. John
- **Modolo, L. V., de Souza, A. X., Horta, L. P., Araujo, D. P., & de Fatima, A. (2015)**. An overview on the potential of natural products as ureases inhibitors: A review. *Journal of Advanced Research*, 6(1), 35-44. Morel, S. (2011). Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae). Université d'Angers.
- **Morenal. M, M.Martin-Mateo, J-P.Cristoll et B.Canaud.2002**. Stress oxydant ,hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours, *Néphrologie Vol. 23 n° 5*.201-208.
- **Morris C.J. ; Earl J.R. ; Trenam C.W. ; Blake D.R. (1995)**. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 27,109-122.

- **Muhammad A, Farooq A, Fauqia N, Tahir M et Nazamid S. (2013).** *Anti-Helicobacter pylori* and urease inhibition Activities of some traditional medicinal plants. *Molecules*, 18: 2135-21490.
- **Mundy C., Kirkpatrick P. Tiotropium bromide. Nature Reviews Drug Discovery.( 2004); 3 (8): 643.**
- **Nagai, T., Myoda, T., & Nagashima, T. (2005).** Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense* L. *Food chemistry*, 91(3), 389-394.
- **Nam-Chul H., Oh S., Sung J., Cha K., Lee M et Oh B. (2001).** Supramolecular assembly and acid resistance of *Helicobacter pylori* urease. *Nature Structural Biology*, 8: 505-509.
- **Novelli, G. P.( 1997).**Role of free radicals in septic shock. *J PhysiolPharmacol.* 48, 517- 527. p303-311.
- **O'kennedy R, Thornes R.D. (1997).** Coumarins–Biology, Applications and Mode of Action, John Wiley & Sons Ltd., *Chichester; Eds, p.* 315.
- **Okouneva T., Hill B.T., Wilson L., Jordan M.A. (2003);** The effects of vinflunine, vinorelbine, and vinblastine on centromere dynamics. *Molecular Cancer Therapeutics.* 2 (5): 427-436.
- **Palá-Paúl, J., MJ Perez-Alonso, A. Velasco-Negueruela, J., Vadaré, AM, Villa, et J. Brophy (2005).** Composition en huiles essentielles des différentes parties d'*Eryngium bourgatii* Gouan d'Espagne. *Journal of Chromatography A* , 1074 (1-2), 235-239.
- **Perveen, S., El-Shafae, A. M., Al-Taweel, A., Fawzy, G. A., Malik, A., Afza, N., ... & Iqbal, L. (2011).** Antioxidant and urease inhibitory C-glycosylflavonoids from *Celtis africana*. *Journal of Asian natural products research*, 13(9), 799-804.
- **Pietta, PG. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*;63: 1035–1042.
- **Pirttila T., Wilcock G., Truyen L., Damaraju C.V.( 2004);** Long-term efficacy and safety of galantamine in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: multicenter trial. *European Journal of Neurology.* 11(11): 734-741.
- **Publishing, Inc; 1999.**
- **Rakotoarison, DA, B. Gressier, F. Trotin, C. Brunet, T. Dine, M. Luyckx, ... & Pinkas, M. (1997).** Activités antioxydantes d'extraits polyphénoliques de fleurs, de cultures de cals in vitro et de suspensions cellulaires de *Crataegus monogyna*. *Die Pharmazie* , 52 (1), 60-64.
- **Ramawat, KG. ; Dass,S. ; Mathur,M. (2009).**Chapter 2 :The ChemicalDiversity of Bioactive Molecules and TherapeuticPotential of Medicinal. *HerbalDrugs : Ethnomedicine to Modern Medicine* : 7-32.
- **Rao, KS, Anand, S. et Venkateswarlu, P. (2010).** Adsorption des ions cadmium (II) d'une solution aqueuse par *Tectona grandis* LF (poudre de feuilles de teck). *BioResources* , 5 (1), 438-454.

- **Razafimahefa S., Rabenjanahary T., Rakotoarivelo R., Rakotozafindrabe R., Zerbib F., Ramanampamonjy R et Rajaona R. (2012).** Infection a *Helicobacter pylori*: revue de la littérature et réalités à Madagascar. La revue médicale de Madagascar, 2(2) : 125-131.
- **Robards, K., PD, Prenzler, G. Tucker, P. Swatsitang et W. Glover (1999).** Composés phénoliques et leur rôle dans les processus oxydatifs chez les fruits. *Chimie alimentaire* , 66(4), 401-436.
- **Rolland, Y.(2004).** Antioxydants naturels végétaux. *OCL*, 11 :419-424.
- **Salim, S., M. Asghar, M. Taneja, I. Hovatta, G. Chugh, C. Vollert et A. Vu (2011).** Contribution potentielle du stress oxydatif et de l'inflammation à l'anxiété et à l'hypertension. *Brain research* , 1404 , 63-71.
- **Sarni-Manchado P and Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Sciences. 1999; 20(5): 199-205.
- **Sciences. 2005;** 78: 431-441.
- **Shabana, A. Kawai, K. Kai, K. Akiyama, and H. Hayashi (2010).** Inhibitory activity against urease of quercetin glycosides isolated from *Allium cepa* and *Psidium guajava*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, vol. 74, no. 4, pp. 878–880.
- **Shabana, S., Kawai, A., Kai, K., Akiyama, K., & Hayashi, H. (2010).** Inhibitory activity against urease of quercetin glycosides isolated from *Allium cepa* and *Psidium guajava*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 74(4), 878-880.
- **Shaohua, Z. ; Ananda, S. ; Ruxia, Y. ; Liang, R. ; Xiaorui, C. ; Liang, L.( 2010).** Fatal renal failure due to the Chinese herb “GuanMu Tong” (*Aristolochiamanshuriensis*) : Autopsy findings and review of literature. *Forensic Science International*, xxx :xxx-xxx.
- **Siddhuraju, P. ; Becker, K.(2007).** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) seed extracts. *Food Chemistry* , 101(1), 10-19
- **Souchard, J.P. ; Arnal J.F. ; Rochette L. (2002).** Les radicaux libres et le stress oxydatif radicalaire. Techniques permettant la mise en évidence d'un stress oxydatif en biologie, In : « Biologie et Pathologie du Cœur et des Vaisseaux » (Pinet F., et al., eds) 245, *Médecine-Science Flammarion*.
- **Srivastava A., Vikas K et Bijoy K. (2015).** Insights from the molecular docking of curcumin to the virulent factors of *Helicobacter pylori*. *Bioinformatics*, 11(10): 447-453.
- **Stingl K et Hilde D. (2005).** Staying alive overdosed: How does *Helicobacter pylori* control urease activity. *International journal of medical microbiology*, 295 (5): 307-315.
- **Strang C. 2(006).** Larousse medical. Ed Larousse.
- **Strohl, W. R. (2000).** The role of natural products in a modern drug discovery program. *Drug discovery today*, 5(2), 39-41.

- **Tahiri, O., Atmani-Kilani, D., Sanchez-Fidalgo, S., Aparicio-Soto, M., Alarcón-de-la-Lastra, C., Barrajon-Catalán, E., ... & Atmani, D. (2017).** The flavonol-enriched *Cistus albidus* chloroform extract possesses in vivo anti-inflammatory and anti-nociceptive activity. *Journal of ethnopharmacology*, 209, 210-218.
- **Tan, L., Su, J., Wu, D., Yu, X., Su, Z., He, J., ... & Su, Z. (2013).** Kinetics and mechanism study of competitive inhibition of jack-bean urease by baicalin. *The Scientific World Journal*.
- **Tchacondo, T., Karou, S. D., Batawila, K., Agban, A., Ouro-Bang'na, K., Anani, K. T., ... & de Souza, C. (2011).** Herbal remedies and their adverse effects in Tem tribe traditional medicine in Togo. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*.
- **Tran T et Quandalle P. (2002).** Traitement des perforations d'ulcère gastroduodéal par suture simple suivie de l'éradication de *Helicobacter pylori*. *Éditions scientifiques et médicales Elsevier*, 127: 32-4.
- **Trott, O., & Olson, A. J. (2010).** AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461.
- **Van Agtmael, MA, Eggelte, TA et van Boxtel, CJ (1999).** Les médicaments à base d'artémisinine dans le traitement du paludisme: de la plante médicinale au médicament enregistré. *Trends in Pharmacological sciences*, 20 (5), 199-205.
- **Vansant, G. 2004.** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium «Antioxydants et alimentation ». *Institut Danone*.
- **Vermerris, W.; Nicholson, R. (2006).** Phenolic Compound biochemistry. *Springer Science. Netherlands*. 276p.
- **Villano, D., Fernández-Pachón, MS, Moyá, ML, Troncoso, AM et García-Parrilla, MC (2007).** Capacité de balayage radicalaire des composés polyphénoliques vis-à-vis des radicaux libres de DPPH. *Talanta*, 71 (1), 230-235.
- **Wang, MW, Hao, X. et Chen, K. (2007).** Criblage biologique de produits naturels et innovation pharmaceutique en Chine. *Transactions philosophiques de la Royal Society B: sciences biologiques*, 362 (1482), 1093-1105.
- **Weatherburn M. (1967).** Enzymatic method for urea in urine. *Analytical Chemistry*. 971-974 p.
- **Wojdylo, A.; Oszmianski, J.; and Czemerzys R. (2007).** Antioxidant activity and phenolic compound in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105 :940-949.
- **Wu, D. W., Yu, X. D., Xie, J. H., Su, Z. Q., Su, J. Y., Tan, L. R., ... & Su, Z. R. (2013).** Inactivation of jack bean urease by scutellarin: elucidation of inhibitory efficacy, *kinetics and mechanism*. *Fitoterapia*, 91, 60-67.
- **Xia, E. Q., G. F. Deng, Y. J. Guo et H. B. Li (2011).** "Biological activities of polyphenols from grapes." *International Journal of Molecular Sciences* 11(2): 622-646.

- **Xiao, Z. P., Wang, X. D., Peng, Z. Y., Huang, S., Yang, P., Li, Q. S., ... & Zhu, H. L. (2012).** Molecular docking, kinetics study, and structure–activity relationship analysis of quercetin and its analogous as *Helicobacter pylori* urease inhibitors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(42), 10572-10577.
- **Zeghad, N.(2008).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. *Université Mentouri Constantine*.
- **Zeitoun, J.C., Chryssostalis, A et Lefevre, A. (2014).** Chapitre 7 Anatomie de l'estomac. In : Hépatologie Gastro-entérologie Chirurgie digestive. Paris : édition *Vernazobres- Grego*. P 21.
- **Zhang,W. J. ; Olofs Bjorn , L.(2009).** The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia* ,80 :207-218.

## Evaluation de l'activité antioxydante et l'effet inhibiteur sur l'uréase, des extraits de quelques plantes médicinales locales et prédiction de leur mode d'action *in silico*.

**Résumé :** La présente étude nous a permis, de comparer les teneurs en polyphénols, flavonoïdes ainsi que l'activité antioxydante (activité antiradicalaire de DPPH et d'ABTS<sup>+</sup>) et antiulcéreuse (ulcère causé par *H. Pylori*) des extraits des quatre plantes : *Crataegus azarolu* ; *Lonicera implexa* ; *Rhamnus alaternus* et *Cistus albidus*. Les résultats montrent que l'extrait de *C. albidus* représente la teneur la plus élevée en polyphénols (384,22 mg EAG/g) et en flavonoïdes (188,47 mg ER/g) suivi par *C. azarolu* et les deux autres plantes. L'effet anti DPPH et anti ABTS des extraits à 100 µg/ml est variable d'une plante à une autre, *C. albidus* a montré un pourcentage assez important avoisinant une moyenne de 94.91%, L'extrait de *C. azarolu* a manifesté un effet moyen, alors que, les extraits correspondants à *R. alaternus* et *L. implexa* ont montré des pourcentages très faibles. L'évaluation de l'activité inhibitrice sur l'enzyme uréase a montré que *C. albidus* est très efficace pour son pouvoir inhibiteur vis-à-vis de l'enzyme uréase en réduisant 5 fois son activité en comparaison au témoin positif (sans inhibiteur), alors que *C. azarolu* présente une inhibition moyenne et *R. alaternus* et *L. implexa* se sont montrés de faible activité inhibitrice. L'IC<sub>50</sub> de l'extrait de feuilles de *C. albidus* a été estimée à 77.56 µg/ml, alors que pour l'acide borique l'IC<sub>50</sub> est estimée à 175µg/ml ; soit disant deux fois inférieure à celle de l'acide borique. La prédiction de mode d'action *in silico* de certaines molécules isolées de feuilles de *C. albidus* montre que deux molécules : la quercetin-3-O-rutinoside et quercetin-3-O-rhamnoside ont des docking scores de -9.0 (kcal/mol) et -8.7 (kcal/mol) respectivement. Il est supposé, que l'effet inhibiteur de ces molécules s'exerce sur l'enzyme en occupant un site de liaison proche de site catalytique de l'uréase.

**Mots clés :** Plantes médicinales ; polyphénols ; DPPH ; ABTS ; activité anti-oxydante ; activité anti-ulcéreuse.

## Evaluation of the antioxidant activity and the inhibitory effect on urease, extracts of some local medicinal plants and prediction of their mode of action *in silico*.

**Abstract:** The present study allowed us to compare the containment ratios of four plant extracts: *Crataegus azarolu*; *Lonicera implexa*; *Rhamnus alaternus* and *Cistus albidus* for polyphenols and flavonoids as well as the antioxidant and antiulcer activity (ulcer caused by *H. Pylori*). The results showed that the extract of *C. albidus* represents the highest content of polyphenols (384.22 mg EAG / g) and flavonoids (188.47 mg ER / g) followed by *C. azarolu* and the two other plants . The anti-DPPH and anti-ABTS effect of the extracts at 100 µg / ml differ from one plant to another, while *C. albidus* showed a high percentage averaging 94.91%. The extract of *C. azarolu* showed a mean effect, whereas the extracts corresponding to *R. alaternus* and *L. implexa* exhibited very low percentages. The evaluation of the inhibition activity on the urease enzyme indicated that *C. albidus* is very effective by reducing its activity 5 times compared to the positive control (without inhibitor), while *C. azarolu* has moderate inhibition and it was improved that *R. alaternus* and *L. implexa* had a low inhibitory activity. The IC<sub>50</sub> of leaves extract of *C. albidus* has been estimated at 77.56 µg / ml, whereas for boric acid the IC<sub>50</sub> is estimated at 175 µg / ml. The prediction *in silico* of action mode of certain isolated molecules from *C. albidus* shows that two molecules: quercetin-3-O-rutinoside and quercetin-3-O-rhamnoside have docking scores -9.0 (kcal / mol) and -8.7 (kcal / mol) respectively. It is expected that the inhibitory effect of these molecules is exerted on the enzyme by occupying site close to catalytic binding site of the urease.

**Key words :** Medicinal plants; polyphenols ;DPPH; ABTS; antioxidant activity; anti-ulcer activity.

## *in silico* لمستخلصات بعض النباتات الطبية المحلية والتنبؤ بأسلوب عملها Ureaseتقييم نشاط مضادات الأكسدة والتأثير المثبط على

**ملخص :** سمحت لنا هذه الدراسة بمقارنة نسب احتواء مستخلصات أربعة نباتات : *Crataegus azarolu* ; *Lonicera implexa* ; *Rhamnus alaternus* و *Cistus albidus* على مادة البوليفينول ، والفلافونويدات وكذلك مقارنة نشاطها المضاد للتأكسد (النشاط المضاد للجذرين لـ DPPH و ABTS) و مقارنة النشاط المضاد للالتهاب المعدي (القرحة الناتجة عن *H. Pylori*). أظهرت النتائج أن مستخلص *C. albidus* يمثل أعلى نسبة من البوليفينول (384.22 ملغ EAG / غ) والفلافونويد (188.47 ملغم ER / غ) متبوعاً *C. azarolu* و *L. implexa* والنبتين الأخرين . يختلف التأثير المضاد لـ DPPH ومضاد ABTS للمستخلصات عند 100 ميكروغرام / مل من نبات لآخر ، فيما أظهرت *C. albidus* نسبة عالية بمتوسط 94.91٪، أظهر مستخلص *C. azarolu* تأثير متوسط في حين أن المستخلصات الأخرى لـ *R. alaternus* و *L. implexa* أظهرت نسبة منخفضة جداً. أظهر تقييم النشاط المثبط على إنزيم Urease أن *C. albidus* فعال جداً لقوته المثبطة ضد الإنزيم و تقليل نشاطه 5 مرات مقارنةً بنشاطه بدون مثبط ، في حين أن *C. azarolu* لديها تثبيط معتدل و *R. alaternus* و *L. implexa* ثبت أن لديهم نشاط مثبط منخفض. تم تقدير IC<sub>50</sub> من مستخلص أوراق *C. albidus* عند 77.56 ميكروغرام / مل ، في حين أن حمض البوريك يقدر IC<sub>50</sub> بـ 175 ميكروغرام / مل أي مرتين أقل من حمض البوريك. يظهر التنبؤ عن طريق المحاكاة بالحاسوب (*in silico*) لبعض جزيئات معزولة من أوراق *C. albidus* أن الجزيئين quercetin-3-O-rutinoside et quercetin-3-O-rhamnoside يتألف 9.0- (سعر حراري / مول) و 8.7- (سعر حراري / مول) على التوالي. من المفترض أن التأثير المثبط لهذه الجزيئات تمارس على الإنزيم عن طريق احتلال موقع قريب من الموقع التحفيزي لـ urease.

**كلمات مفتاحية :** النباتات الطبية ، البوليفينول , ABTS ;DPPH ;النشاط المضادة للأكسدة, نشاط مضاد للقرحة.