

N° d'ordre...

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département des Sciences de l'Environnement  
Laboratoire de recherche d'écodéveloppement des espaces

# THESE DE DOCTORAT

## 3<sup>ème</sup> CYCLE LMD

Présentée par :

M. Benyamina Abdelfettah

*Spécialité : Sciences de l'environnement*

*Option : Gestion, valorisation des ressources naturelles et  
développement durable*

*Intitulé*

**ÉTUDE ETHNOPHARMACOLOGIQUE ET  
CARACTÉRISATION DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES DES  
ORGANES AÉRIENS DU *Tetraclinis articulata* (VAHL)  
MASTERS DE L'OUEST ALGÉRIEN.**

Soutenue le : 09/04/2019

Devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : Pr M. Mehdadi Zoheir .....(Professeur, UDL/SBA)  
Examineur : Pr Benali Mohamed ..... (Professeur, UDL/SBA)  
Dr Bensahla Talet Lotfi..... (Maître C. A, UABB/Oran)  
Dr Hachem Kadda ..... (Maître C. A, UMT/Saïda)  
Promoteur : Pr Toumi-Benali Fawzia ..... (Professeur, UDL/SBA)  
Co-Promoteur : Pr Koudache Fatiha .....(Professeur, UDL/SBA)

Année universitaire 2018 - 2019

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۱۴۳۸

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

*À ma Mère,*

*« Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir. Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte. En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entouré. »*

*À mon Père,*

*« L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que Dieu te préserve et te procure santé et longue vie. »*

*À mes frères Amine, Abd elhak, Said M. elamin et ma sœur Soltani Amina,*

*« Je vous porte toujours dans mon cœur, je vous souhaite bonheur, santé, succès et de la joie. »*

*À ma chère famille,*

*« Petit ou grand, proche soit-elle ou lointaine, pour leurs soutiens, amour et générosité. »*

*À tous mes professeurs, et tous mes amis,*

*« Pour leur sincérité, sacrifice et soutiens. »*

*Aussi à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

Tout d'abord, je tiens à remercier les membres du jury :

- M. **Mehdadi Zoheir**, Professeur à l'université de Sidi Bel Abbès qui nous fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Je lui adresse mes respectueux remerciements.

- M. **Benali Mohamed**, Professeur à l'université de Sidi Bel Abbès, M. **Bensahla Talet Lotfi**, Professeur à l'université d'Oran, M. **Hachem Kadda**, maître de conférences « A » à l'université de Saida, qui ont bien voulu examiner ce travail et d'avoir très aimablement consenti à prendre part au jury de cette thèse. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma très haute considération.

Je souhaiterais également remercier tous ceux qui m'ont apporté leur aide, leurs conseils et leur soutien, mais tout particulièrement :

- Madame **Toumi fawzia**, Professeur à l'université de Sidi Bel Abbès, directrice de ma thèse. Je suis ravi d'avoir travaillé en sa compagnie, car outre son appui scientifique, elle a toujours été là pour me soutenir et me conseiller au cours de l'élaboration de cette thèse. J'aimerais également lui dire à quel point j'ai apprécié sa grande disponibilité et son respect sans faille des délais serrés de relecture des documents que je lui ai adressés. Enfin, j'étais extrêmement sensible à ses qualités humaines d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail doctoral. Je lui en suis profondément reconnaissant.

- M. **Bouzidi M.Ali**, maître de conférences « A » à l'université de Sidi Bel Abbès, qui m'a aidé et aussi prodigué de nombreux conseils pour bien commencer le troisième cycle universitaire.

- Ma sœur **Soltani Amina**, avec laquelle j'ai partagé la paillasse et j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler. Nous avons formé une belle équipe, un grand merci donc pour tout ce qu'elle m'a apporté au cours de ces années, j'ai toujours pu compter sur elle. Je voulais qu'elle sache à quel point son soutien a été d'une grande aide pour moi. Une chose est sûre : je ne l'oublierai jamais.

- Mon ami, **Said M.Elamin**, qui a mis tous les moyens dont il dispose pour m'aider à finaliser ce travail.

- Madame **Megherbi Aicha**, directrice du laboratoire d'écodéveloppement des espaces, qui a mis tous les moyens du laboratoire à notre disposition.

- Madame **Koudache Fatiha**, Professeur à l'université de Sidi Bel Abbès, co-directrice de ma thèse, pour tous ses conseils et ses encouragements. Qu'elle trouve ici l'expression de ma très haute considération.

- Tous ceux que j'aurais malencontreusement oublié de citer en espérant qu'ils se reconnaîtront.

Et bien sûr, vous, pour le temps que vous allez consacrer en lisant mon manuscrit.

<b>Dédicace</b> .....	I
<b>Remerciement</b> .....	II
<b>Sommaire</b> .....	III
<b>Liste des tableaux</b> .....	VI
<b>Liste des figures</b> .....	VII
<b>Liste des abréviations</b> .....	VIII
<b>Résumé</b> .....	IX
<b>ملخص</b> .....	X
<b>Abstract</b> .....	XI
<b>Production scientifique</b> .....	XII

<b>Introduction générale :</b> .....	1
--------------------------------------	---

### **Chapitre I : Ethnopharmacologie**

1	Introduction : .....	3
2	Concepts et définitions : .....	3
3	Ethnopharmacologie en Afrique : .....	5
3.1	Rôle de la médecine traditionnelle en Afrique : .....	6
3.2	Recherche ethnopharmacologique en Afrique : .....	7
3.3	Les défis de la médecine traditionnelle en Afrique : .....	8
3.3.1	Préoccupations relatives à l'efficacité, à la toxicologie et à l'innocuité .....	8
3.3.2	Durée de conservation, physiologie post-récolte et stockage. ....	9
3.3.3	Les défis de conservation de la protection des ressources végétales .....	9
3.4	Perspectives d'avenir.....	10
4	Conclusion : .....	10

### **Chapitre II : *Tetraclinis articulata* : description et veille scientifique**

1	Introduction : .....	11
2	Considération générale sur le thuya de Maghreb : .....	11
2.1	Histoire : .....	11
2.2	Classification : .....	11
2.3	Aire de répartition géographique : .....	12
2.4	Biologie de l'espèce : .....	12
2.5	Écologie de l'espèce : .....	16

2.6	Usage et importance économique :.....	16
3	La veille scientifique :.....	18
3.1	État de l'art de la recherche sur le <i>T.articulata</i> : .....	19
3.1.1	Recherche de l'information :.....	19
3.1.2	Récapitulatif des travaux réalisés sur le <i>T.articulata</i> dans le domaine de pharmacognosie et de phytochimie en 21 <sup>e</sup> siècle : .....	21
3.1.3	Les huiles essentielles de <i>T.articulata</i> : .....	23
3.1.4	Les extraits de <i>T.articulata</i> : .....	24
4	Conclusion :.....	25

### Chapitre III : Matériel et méthodes

1	Introduction :.....	26
2	Étude ethnobotanique :.....	26
2.1	Principe :.....	26
2.2	Protocole :.....	26
2.3	Questionnaire :.....	27
2.4	Expression des résultats :.....	29
3	Échantillonnage et préparation de la matière végétale :.....	31
3.1	Récolte :.....	31
3.2	Séchage et calcul de la teneur en eau:.....	31
3.3	Broyage :.....	32
3.4	Extraction : .....	33
4	Activités biologiques :.....	34
4.1	Tests biologiques <i>In vivo</i> :.....	34
4.1.1	Étude de la toxicité aigüe : .....	35
4.1.2	Activité antiinflammatoire: .....	36
4.1.3	Activité antipyrétique :.....	38
4.1.4	Activité antinociceptive : .....	39
4.1.5	Activité analgésique :.....	40
4.2	Tests biologiques <i>In vitro</i> :.....	41
4.2.1	Activité antioxydante : .....	42
4.2.2	Activité antibactérienne : .....	44
5	Caractérisation des composés phénoliques :.....	46
5.1	Dosage des composés phénoliques :.....	46
5.1.1	Dosage des phénols totaux :.....	46
5.1.2	Dosage des flavonoïdes totaux :.....	47

5.1.3	Dosage des flavonols :.....	47
5.1.4	Dosage des tanins condensés : .....	48
5.1.5	Dosage des tanins hydrolysables :.....	48
5.2	Analyse chromatographique :.....	49
5.2.1	Préparation des extraits : .....	49
5.2.2	Conditions de CCM :.....	49
5.2.3	Expression des résultats : .....	50
6	Analyse statistique : .....	50
7	Conclusion :.....	51

### **Chapitre IV : Résultats et discussion**

1	Introduction :.....	52
2	Étude ethnobotanique :.....	52
2.1	Description de l'échantillon de la population interrogé : .....	52
2.2	Exploitation des réponses du questionnaire : .....	54
3	Teneur en eau et rendement d'extraction : .....	63
4	Activités biologiques :.....	64
4.1	Tests biologiques <i>In vivo</i> :.....	64
4.1.1	Étude de la toxicité aigüe : .....	64
4.1.2	Activité antiinflammatoire : .....	66
4.1.3	Activité antipyrétique :.....	71
4.1.4	Activité antinociceptive : .....	73
4.1.5	Activité analgésique :.....	75
4.2	Tests biologiques <i>In vitro</i> :.....	77
4.2.1	Activité antioxydante : .....	77
4.2.2	Activité antibactérienne : .....	83
5	Caractérisation de composés phénoliques :.....	86
5.1	Dosage des composés phénoliques :.....	86
5.2	Analyse chromatographique :.....	86
6	Conclusion :.....	88
	<b>Conclusion générale</b> .....	<b>90</b>
	<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>92</b>
	<b>Annexe</b> .....	<b>106</b>

<b>Tableau 1</b> Classification botanique de thuya du Maghreb (web master 1) .....	12
<b>Tableau 2:</b> Stratégies de collecte de l'information concernant l'état de connaissance sur le T.articulata.....	19
<b>Tableau 3:</b> Nombres de mortalités de l'étape 1 et doses correspondantes pour l'étape 2 (Lorke, 1983).....	37
<b>Tableau 4:</b> FLs de <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl). .....	61
<b>Tableau 5:</b> Nombre de mortalité en fonction des doses des extraits de T.articulata.....	65
<b>Tableau 6 :</b> Résultats de la deuxième étape du test de Lork .....	67
<b>Tableau 7:</b> Effet des traitements sur l'évolution du diamètre (mm) de l'œdème plantaire chez les souris.....	68
<b>Tableau 8:</b> Valeurs des IC50 des extraits de T.articulata et des standards de références .....	79
<b>Tableau 9:</b> Les pourcentages d'activité antioxydante des extraits de T. articulata .....	81
<b>Tableau 10:</b> <i>Diamètres d'inhibition des souches bactériennes</i> .....	84
<b>Tableau 11:</b> concentration des composés phénoliques dans les extraits de T. articulata.....	87
<b>Tableau 12:</b> Rapports frontaux des extraits et des témoins.....	88



<b>Figure 1:</b> Aire de répartition naturelle de Thuya de berberie (Roloff et al., 2009). .....	12
<b>Figure 2 :</b> Quelques parties de Tetraclinis articulata.....	14
<b>Figure 3:</b> Spicimen de Tetraclinis articulata dans le Jardin botanique Missouri. ....	15
<b>Figure 4:</b> La stratégie de la collecte d'information. ....	19
<b>Figure 5:</b> Volume des publications scientifiques sur le T.articulata par décennie.....	20
<b>Figure 6:</b> Volume des publications en relation avec le thème de recherche par décennie.....	21
<b>Figure 7:</b> Classement des références collectées entre 2000 et 2017 par contenu.....	22
<b>Figure 8 :</b> Station d'échantillonnage.....	31
<b>Figure 9:</b> Parties de la plante destinées au calcul de la teneur en eau. ....	32
<b>Figure 10:</b> Injection de la carraghénine. ....	37
<b>Figure 11 :</b> Formes de pattes avant et après l'injection de la carraghénine. ....	38
<b>Figure 12:</b> Injection sous cutané (a) et mesure de la température rectale (b).....	39
<b>Figure 13:</b> Léchage des pattes (a) et saut (b) sur la plaque chauffante.....	40
<b>Figure 14:</b> Contorsions abdominales et étirements des pattes postérieures.....	41
<b>Figure 15:</b> Tranches d'âges des informateurs.....	52
<b>Figure 16 :</b> Quelques données sociales de l'échantillon de population interrogée.....	52
<b>Figure 17 :</b> Les informateurs qui connaissent« Arrar, العرعار ». ....	54
<b>Figure 18:</b> Les taux d'informateurs qui connaissent « العرعار البرهوش ». ....	55
<b>Figure 19 :</b> domaine d'utilisation d'«Arrar, العرعار ». ....	56
<b>Figure 20:</b> Coffre fabriqué avec le bois du T.articulata.....	56
<b>Figure 21:</b> les parties des arbres utilisées en médecine.....	57
<b>Figure 22:</b> l'état d'utilisation des parties de T.articulata.....	57
<b>Figure 23:</b> modes de préparation d'« Arrar, العرعار ».....	58
<b>Figure 24:</b> modes d'administration d'« Arrar, العرعار ». ....	59
<b>Figure 25:</b> Effet secondaire d'« Arrar, العرعار ». ....	62
<b>Figure 26:</b> Teneur en eau des organes de T.articulata.....	63
<b>Figure 27:</b> Rendement d'extraction par solvant (Éthanol 80%). ....	64
<b>Figure 28:</b> Quelques signes de toxicité. ....	65
<b>Figure 29:</b> Pourcentage d'inhibition d'œdème par les extraits de T.articulata.....	68
<b>Figure 30:</b> Activité antipyrétique des extraits de T.articulata. ....	71
<b>Figure 31:</b> Temps de latence des souris sur la plaque chauffante. ....	74
<b>Figure 32:</b> Pourcentage d'inhibition des contorsions abdominales chez les souris.....	76
<b>Figure 33:</b> Pourcentage d'inhibition du DPPH par les extraits et les différents standards.....	77
<b>Figure 34:</b> Les concentrations de Fe <sup>++</sup> dans les mélanges en (mmol/g d'extrait). ....	79
<b>Figure 35:</b> Cinétique de blanchissement du β-carotène en fonction du temps.....	80
<b>Figure 36:</b> pourcentage de chélation des ions ferrique.....	81
<b>Figure 37:</b> photos des boîtes de Pétri après incubation .....	84
<b>Figure 38:</b> Plaque CCM (révélation sous UV 254 nm).....	87

**AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdien.

**AT**: acide tannique.

**ATCC**: *American Type Culture Collection*.

**C**: catéchine.

**COX** : Cyclooxygénase.

**DL<sub>50</sub>** la dose létale pour 50% des animaux d'expérience.

**DMSO** : DiMéthylSulfOxide.

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle.

**EDTA**: Ethylenediaminetetraacetic acid.

**Eq**: équivalent.

**FIC**: *Ferrous ion chelating*

**FL**: *Fidelity level*.

**FRAP**: *Ferric Reducing Antioxidant power*.

**GA**: acide gallique.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice de 50 %

**IL** : interleukine.

**IP** : voie intrapéritonéale.

**IV** : *Importance value*.

**M** : Myricétine.

**MTA** : médecine traditionnelle africaine.

**PG** : prostaglandine.

**TNF- $\alpha$**  : Facteur de nécrose tumorale

**TPTZ**: Tripyridyl-triazine.

**UV**: *Use value*.

Le présent travail a été mené dans le but de réunir, dans un premier temps, les informations concernant les usages thérapeutiques de *Tetraclinis articulata* (Vahl), pratiqués dans la région de Sidi Bel Abbes, puis tester empiriquement quelques propriétés médicinales des organes aériens de l'arbre (feuilles, rameaux, cônes) en utilisant des modèles expérimentaux *In vivo* et *In vitro*. La démarche expérimentale est achevée par des analyses quantitatives et qualitatives des composés phénoliques.

L'étude ethnobotanique a été réalisée dans la région de Sidi Bel Abbes auprès de 318 enquêtés. Les tests pharmacologiques ont été réalisés en utilisant des modèles animaux. La toxicité aigüe a été déterminée par la méthode de Lorke, l'activité antiinflammatoire a été évaluée en mesurant l'œdème plantaire des souris induit par la carraghénine, l'analgésique a été mené par le test des contractions abdominales et celui de la plaque chauffante, et l'activité antipyrétique a été testée en utilisant le modèle de pyrexie induite par la levure de bière, alors que l'activité antioxydante a été testée par plusieurs méthodes et l'effet antibactérien a été mesuré par la méthode des disques. La caractérisation chimique a été réalisée par des dosages spectrophotométriques et par chromatographie sur couche mince.

L'enquête ethnobotanique a révélé que la quasi-totalité des enquêtés connaît «Arrar, العرعار». D'après nos informateurs l'arbre est utilisé principalement dans le domaine de la médecine. Les valeurs d'utilisations et les niveaux de fidélités révèlent que ses parties aériennes sont utilisées principalement pour pallier les maladies respiratoires, dermatologiques, gastriques et inflammatoires. L'investigation pharmacologique a permis de dégager une multitude de résultats. Les extraits des parties aériennes ne sont pas toxiques dont la DL50 est supérieure à 1000 mg/kg chez les souris. Ces extraits ont révélé ainsi, des propriétés antiinflammatoires, analgésiques, antipyrétiques et antioxydantes considérables, à des doses qui ne dépassent pas les 300 mg/kg. Les tests de l'activité antibactérienne ont révélé que les souches testées ne sont pas sensibles à nos extraits. La caractérisation des composés phénoliques a révélé quelques différences quantitatives et qualitatives entre les trois extraits. La catéchine a été détectée dans tous les organes. La quercétine a été détectée dans les feuilles et les rameaux et l'acide tannique n'a été trouvé que dans les feuilles.

**Mots clés :** *Tetraclinis articulata* ; ethnobotanique ; antiinflammatoire ; analgésique ; antipyrétique ; antibactérien ; antioxydant, composés phénoliques.

الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن الاستعمالات التقليدية الطبية لنبته العرعار ثم تجربة فعاليتها عن طريق تجارب مخبرية.

لقد تم اجراء التحقيق حول النبتة في منطقة سيدي بلعباس مع حوالي 318 مخبر. التجارب الصيدلانية تم اجراؤها عن طريق نماذج حيوانية. فيما يخص النشاط المضاد للالتهاب تم اجراؤه عن طريق حقن القدم اليمنى للفأر بمحفز للالتهاب، اما النشاط المضاد للألم تم اختباره عن طريق تجربة التقلصات البطنية وكذلك الصفيحة الساخنة. النشاط المضاد للأكسدة تم اختباره بطرق مختلفة. النشاط المضاد للبكتيريا تم اختباره بواسطة تقنية الأقراص على وسط مغذي. في الأخير تم تحديد كمية المركبات الفينولية عن طريق المعايرة اللونية وكذلك الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.

نتائج التحقيق أظهرت ان نبتة العرعار تستعمل في ميدان الطب الشعبي. من بين الأمراض التي تستعمل النبتة في علاجها: الأمراض التنفسية، الأمراض الجلدية، المعديّة وكذلك الالتهابية. الأبحاث والتجارب الصيدلانية مكنتنا من الحصول على عدة نتائج، أهمها ان الأجزاء العلوية للنبتة كالأوراق والاعصان ليست سامة. المستخلصات النباتية أظهرت عدة خواص طبية كالنشاط المضاد للالتهاب والمضاد للألم والحمي وكذلك المضاد للأكسدة. تجربة النشاط المضاد للبكتيريا أظهرت ان البكتيريات الخاضعة للتجربة ليس لها اي حساسية اتجاه مستخلصات نبتة العرعار. كما أن الكشف عن المركبات الفينولية أظهر بعض الاختلافات في الكم والنوع بين هذه المستخلصات. تم الكشف أيضا عن الكاتشين في جميع الأجزاء العلوية للنبتة. أما الكارستين فقد تم الكشف عنه في الأوراق والاعصان. في الأخير تم الكشف عن الحمض التان في الأوراق فقط.

**الكلمات المفتاحية:** المعارف النباتية الشعبية، مضاد الالتهاب، مضاد الألم، مضاد الحمى، مضاد للبكتيريا، مركبات فينولية، مضاد الأكسدة.

This work was carried out with the aim of first gathering information on the therapeutic uses of *Tetraclinis articulata* (Vahl), practiced in the Sidi Bel Abbes region, and then empirically tested some medicinal properties of the tree's aerial organs (leaves, twigs, cones) using experimental In vivo and In vitro models. The experimental process is completed by quantitative and qualitative analyses of phenolic compounds.

The ethnobotanical study was carried out in the Sidi Bel Abbes region with 318 respondents. Pharmacological tests were performed using animal models. Acute toxicity was determined by Lorke's method, anti-inflammatory activity was assessed by measuring carrageenan-induced plantar edema in mice, analgesia was performed by the abdominal contraction and hot plate tests, and antipyretic activity was tested using the brewer's yeast induced pyrexia model. Antioxidant activity was tested by several methods and the antibacterial effect was measured by the disc method. Chemical characterization was performed by spectrophotometric assays and thin layer chromatography.

The ethnobotanical survey revealed that almost all respondents know "Arrar, العرعار". According to our informants, the tree is used mainly in the field of medicine. The use values and fidelity levels reveal that its aerial parts are mainly used to treat respiratory, dermatological, gastric and inflammatory diseases. The pharmacological investigation has made it possible to identify a multitude of results. Extracts from aerial parts are not toxic with LD50s greater than 1000 mg/kg in mice. The extracts thus revealed considerable anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and antioxidant properties at doses not exceeding 300 mg/kg. Antibacterial activity tests have revealed that the strains tested are not sensitive to our extracts. The characterization of phenolic compounds revealed some quantitative and qualitative differences between three extracts. Catechin was detected in all organs. Quercetin was detected in leaves and twigs and tannic acid was only found in leaves.

**Keywords:** *Tetraclinis articulata* ; ethnobotany; anti-inflammatory; analgesic; antipyretic; antibacterial; antioxidant, phenolic compounds.

### **Publication parue**

- ***Toxicité aiguë et activité anti-inflammatoire et analgésique des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. In vivo.***  
Phytothérapie 2018 (*Lavoisier*).  
A. BENYAMINA, F. TOUMI, Y. SOLTANI.

### **Publication à venir**

- ***Effect of the *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. cones in the decrease of the inflammation signs (oedema, pain and fever).***  
*Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants (Taylor and Francis).*  
A. BENYAMINA, F. TOUMI, Y. SOLTANI.
- ***Characterisation of phenolic compounds and determination of the antioxidant power of leaves, twigs and cones of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.***  
*Phytothérapie (Lavoisier).*  
A. BENYAMINA, F. TOUMI, Y. SOLTANI, M.A. SAID, M.A Bouzidi.

### **Communications internationales**

- ***Congrès International sur la Valorisation et la Préservation de la Biomasse.***  
*5 et 6 Novembre 2017, Boumerdes (Algérie).*  
« Toxicité aiguë et activité anti-inflammatoire et analgésique in vivo des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast de la région d'Oran »  
A. BENYAMINA, F. TOUMI, Y. SOLTANI.
- ***VI' congrès international de Biotechnologie et Valorisation des Bio-Ressources.***  
*20 au 23 Mars 2018, Tabarka (Tunisie).*  
« Effet antioedemateux, antinociceptif et antipyrétique des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. »  
A. BENYAMINA, F. TOUMI, Y. SOLTANI
- ***Colloque International Biosciences « Génie enzymatique et production de métabolites »***  
*28 et 29 Octobre 2018, Oran (Algérie).*  
« Effet des métabolites contenus dans l'extrait des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast dans la réduction de l'inflammation chez les souris albinos »  
A. BENYAMINA, F. TOUMI, Y. SOLTANI, M.A. SAID, M.A Bouzidi.

**Communications nationales**

- **4<sup>ème</sup> Journée scientifique : « écosystèmes aquatiques et terrestres ».**

14 Avril 2016, Sidi Bel Abbes.

« Quantification des composés phénoliques dans trois organes de *Tetraclinis articulata* et activité antioxydante »

A. BENYAMINA, F. TOUMI, Y. SOLTANI

- **1<sup>ère</sup> journée scientifique sur « Biodiversité, Protection des milieux naturels et Écodéveloppement ».**

14 décembre 2016, Sidi Bel Abbes.

« Évaluation par différentes méthodes de l'activité antioxydante d'une Cupressacée de la région d'Oran ».

A. BENYAMINA, F. TOUMI, Y. SOLTANI

- **2<sup>ème</sup> Séminaire National Biologie et Santé.**

19 décembre 2017, Sidi Bel Abbes.

« L'effet de l'extrait des feuilles de *Tetraclinis articulata* (vahl) Mast dans la réduction des signes de l'inflammation (oedème, douleur et fièvre) ».

A. BENYAMINA, F. TOUMI, Y. SOLTANI, M.A Bouzidi.

- **2<sup>ème</sup> journée scientifique sur « Biodiversité, Protection des milieux naturels et Écodéveloppement ».**

19 décembre 2018, Sidi Bel Abbes.

« Thuya de berberie : Analgésique antipyrétique des ancêtres »

A. BENYAMINA, F. TOUMI, Y. SOLTANI, M.A. SAID, M.A Bouzidi.

---

---

# *Introduction générale*

---

---



Dans sa quête de nourriture, l'Homme primitif a fait l'essai de toutes sortes de plantes. Certaines l'ont nourri, d'autres l'ont guéri de ses maux, quelques-unes ont entraîné sa mort. Au cours des siècles, l'Homme grâce à ses expériences a développé la connaissance et l'utilisation des plantes dans tous les domaines de sa vie ; y compris la médecine (Fakchich and Elachouri, 2014). À l'heure actuelle, et malgré les progrès réalisés en médecine, la majorité de la population mondiale, en particulier dans les pays en voie de développement, se réfère à des pratiques traditionnelles à base de plantes pour se guérir, dont les connaissances dans ce domaine appartiennent essentiellement aux personnes âgées et aux praticiens traditionnels, et elles sont encore transmises oralement (Boudjelal et al., 2013). Par conséquent, ces pratiques ancestrales à base de plantes risquent de disparaître et tomber dans l'oubli.

L'Algérie par sa position biogéographique, non seulement, offre une très grande diversité écologique et floristique, et aussi, l'un des pays méditerranéens qui ont une longue tradition médicale qui s'est accumulée grâce au contact avec de nombreuses civilisations (berbères, romains, arabes, ottomans et français). Par ailleurs, cette tradition ethno médicinale est encore vivante dans toutes les régions du pays, mais elle risque de plus en plus de ne plus être transmise, en cas ou aucune sauvegarde n'est entreprise.

Parmi les plantes médicinales qu'héberge l'Algérie : le *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. C'est un arbre qui fait partie de la famille des cupressacées, dont l'*articulata* est le seul représentant du genre *Tetraclinis*. Cette espèce est endémique à la région méridionale du bassin méditerranéen occidental à l'exception de deux stations, l'une au sud de Carthagène en Espagne, et l'autre très restreinte dans l'île de Malte. Cette essence n'atteint son plein développement que dans le nord-ouest de l'Afrique, c'est-à-dire dans les pays du Maghreb, d'où son appellation : Thuya de Maghreb (Villar, 1938). En médecine populaire, les feuilles et les rameaux de Thuya sont utilisés pour arrêter les hémorragies, traiter les maladies vénériennes et l'hypertrophie prostatique (Baba aissa, 2000). Au Maroc, les populations locales utilisent cette essence forestière dans la médecine traditionnelle, pour traiter les infections intestinales et respiratoires (Bellakhdar et al., 1991). Les gens du Moyen-Orient emploient la poudre des feuilles comme hémostatique en recouvrant la plaie produite par la circoncision. Des propriétés sudorifiques, diurétiques et antirhumatismales sont accordées aux feuilles et aux rameaux de l'arbre. Ils sont aussi préconisés pour pallier les maladies cardiovasculaires et le diabète (Bourkhiss et al., 2016). Les propriétés thérapeutiques multiples de *Tetraclinis articulata* (Vahl), lui accordent le nom de l'arbre de vie (Rebahi, 2015).

Dans le cadre de la sauvegarde du savoir traditionnel et la valorisation de nos ressources naturelles nous avons entrepris une investigation ethnopharmacologique sur le *Tetraclinis articulata* (Vahl). Notre étude vise la recherche du savoir ethnométrical sur le Thuya de Maghreb. Ensuite, l'investigation du potentiel pharmacologique par des tests empiriques des activités biologiques des organes de l'arbre utilisés en médecine traditionnelle. Enfin, le travail expérimental sera achevé par une caractérisation chimique des composés phénoliques du fait que l'explication de l'efficacité supposée de nombreuses plantes médicinales repose, en tout ou partie, sur leurs présence dans ces plantes (Hennebelle et al., 2004).

Ce manuscrit est composé de deux parties :

La première est consacrée pour les données bibliographiques dont le premier chapitre est destiné à des notions sur l'ethnopharmacologie et le deuxième est une veille scientifique sur le *Tetraclinis articulata* (vahl).

La deuxième partie est consacrée pour la démarche expérimentale. Le premier chapitre présente le matériel et les méthodes utilisées pour mener à bien l'étude. Dans le deuxième chapitre, l'ensemble des résultats est présenté et discuté. Enfin, les conclusions essentielles sur l'ensemble de ce travail ainsi que les perspectives de sa continuité sont dégagées.

# *Chapitre I*

---

## *Ethnopharmacologie*

---

## **1 Introduction :**

L'ethnopharmacologie est un concept qui fait couler beaucoup d'encre, et le nombre de chercheurs actifs dans ce domaine augmente exponentiellement ces dernières décennies grâce à l'importance accordée à la médecine populaire par de nombreuses institutions de recherche dans le monde entier. Du fait que notre travail de thèse s'inscrit dans ce domaine, nous avons jugé utile d'entamer la synthèse bibliographique par quelques notions de l'ethnopharmacologie et son état en Afrique. En fait, ce chapitre est composé de quelques passages qu'on a traduits en langue française de l'ouvrage "*Ethnopharmacology*" édité par Heinrich et Jäger en 2015 avec la contribution de plus de 80 chercheurs de différentes nationalités.

## **2 Concepts et définitions :**

L'ethnopharmacologie est un domaine de recherche interdisciplinaire et, à ce titre, elle est définie par des concepts issus d'un éventail de disciplines et de méthodologies utilisées. Il ne fait aucun doute qu'il s'agit d'une discipline qui se développe et prospère rapidement. De façon confuse, un grand nombre de termes sont utilisés pour décrire la recherche, qui utilise souvent des méthodes et des concepts relativement similaires. Cependant, chacune d'entre elles se distingue en se situant dans une certaine tradition de recherche. Ces termes comprennent :

- La pharmacognosie, utilisée pour la première fois en 1811 par Johann Adam Schmidt et très largement utilisée pour décrire le domaine de la recherche sur les plantes médicinales et les produits naturels.
- La recherche phytothérapeutique, dérivée du concept français 'phytothérapie' introduit par Henri Leclercq en 1913 et utilisé dans diverses éditions de son Précis de Phytothérapie.
- Phytomédecine, un terme introduit récemment et moins bien établi sur le plan international.

En outre, il existe un large éventail de termes plus descriptifs, y compris la recherche sur les plantes médicinales ou la recherche sur les produits naturels, et il existe un chevauchement considérable entre ces termes. La recherche en phytothérapie, par exemple, se concentre sur les formes de traitement à base de plantes dans le cadre d'une pratique médicale basée sur la science. Elle distingue ainsi ce qui est également appelé " phytothérapie rationnelle " d'autres approches plus traditionnelles comme l'herboristerie médicale, qui s'appuie sur une appréciation empirique des " herbes médicinales ". La recherche en phytothérapie est mieux décrite comme une science intégrée dans le domaine médical et pharmaceutique. Contrairement à cela,

l'ethnopharmacologie incorpore des concepts et des méthodes socioculturels. Au sens large, l'ethnopharmacologie s'appuie sur des approches issues des sciences socioculturelles et des sciences naturelles/médecine. Par rapport à la pratique médicale, que ce soit dans le contexte de son utilisation en biomédecine ou dans l'une des traditions régionales, l'ethnopharmacologie met davantage l'accent sur une évaluation empirique (p. ex. pharmacologique, phytochimique, toxicologique) des utilisations thérapeutiques de plantes. En termes très généraux, toute forme d'utilisation empirique et d'"essais médicaux" d'une plante à des fins nouvelles peut être considérée comme une approche ethnopharmacologique.

L'ethnopharmacologie étudie les activités pharmacologiques et toxicologiques de toute préparation utilisée par l'homme qui a - au sens le plus large - des effets bénéfiques ou toxiques ou d'autres effets pharmacologiques directs. Ce champ de recherche n'est donc pas exclusivement descriptif (c'est-à-dire décrivant les usages locaux ou traditionnels ou les pratiques médicales), mais l'étude anthropologique (au sens large) et pharmacologique-toxicologique de ces préparations. Aujourd'hui, les études décrivant l'utilisation des plantes médicinales et autres plantes utiles sont incluses dans la recherche ethnopharmacologique. La définition utilisée ici est donc un peu plus ciblée et met en évidence l'intégration de la recherche expérimentale sur les effets d'une médecine locale ou traditionnelle avec les approches socioculturelles.

Aujourd'hui, la recherche qui prétend utiliser une approche ethnopharmacologique est couramment menée dans les économies émergentes de l'Asie, l'Amérique du Sud (Brésil et Mexique) et l'Afrique. Les pays occidentaux actifs dans la recherche classique (États-Unis, Royaume-Uni, Espagne, France, Allemagne et Italie) ont également des groupes actifs dans ce domaine. La production globale de la recherche a également grimpé en flèche, avec une augmentation spectaculaire du nombre d'articles publiés. Une analyse détaillée du contenu de ce qui est publié sur le terrain dépasse la portée de cet aperçu, mais si l'on prend les plus de 2000 éléments sources qui incluent le terme " ethnopharmacologie " dans les mots-clés, résumé ou titre, il ressort que les deux domaines thérapeutiques les plus étudiés sont les effets anti-inflammatoires et anticancéreux et qui sont incluses dans un tiers et un quart de ces études respectivement. Les affections gastro-intestinales, respiratoires et dermatologiques sont abordées dans environ 10 % de ces études. L'ethnopharmacologie vétérinaire représentant une part similaire. Tous les autres domaines sont de moindre importance, et il est intéressant de noter qu'environ 5 % seulement de toutes les études intègrent des activités du système nerveux

central. Les questions relatives à la toxicité des médicaments traditionnels sont abordées dans un certain nombre d'études (environ un quart).

Ces dernières années, on assiste aussi à une prise de conscience croissante des normes conceptuelles et méthodologiques de base dans le domaine d'ethnopharmacologie. Un aspect abordé non seulement par de nombreux auteurs, mais aussi dans une série d'études critiques visant à définir les bonnes pratiques en ce qui concerne les fondements méthodologiques et conceptuels spécifiques du domaine (Bennett and Balick, 2014; Rivera et al., 2014; Chan et al., 2012; Sheridan et al., 2012; Uzuner et al., 2012; Cos et al., 2006; Verspohl, 2002)

### **3 Ethnopharmacologie en Afrique :**

L'importance des plantes médicinales dans la médecine traditionnelle africaine (MTA) et leur contribution aux soins de santé primaires à travers le continent est bien reconnue. La MTA a complété le système médical occidental orthodoxe dans la lutte contre diverses maladies. L'importance croissante des plantes médicinales dans les soins de santé primaires est basée sur les expériences de la médecine populaire et les propriétés prophylactiques (Houghton et al., 2007). La philosophie thérapeutique de la MTA repose essentiellement sur la prévention, c'est pourquoi des mélanges d'extraits et de préparations à base de plantes sont parfois consommés régulièrement en tant que rajeunisseurs, toniques et/ou compléments nutritionnels (Amoo et al., 2012). Ainsi, les soins de santé traditionnels africains sont généralement caractérisés par une philosophie de polychimiothérapie, contrairement à l'approche unidroge dans la médecine orthodoxe. Au cours des 20 dernières années, la MTA a connu un renouveau et une transformation remarquables grâce à d'importants investissements dans la recherche, en particulier en Afrique du Sud, qui est sans doute l'épicentre de l'innovation en ethnopharmacologie africaine. Plus important encore, l'ethnopharmacologie est devenue une composante à part entière des programmes universitaires de pharmacie et de sciences médicales dans de nombreux États membres de la Communauté économique des États de l'Afrique de l'Ouest (CEDEAO), de la République démocratique du Congo, de l'Afrique du Sud et de la Tanzanie. La grande richesse et la diversité des plantes médicinales africaines est une ressource pharmaceutique avec le potentiel de sauver les systèmes de santé en ruines de la plupart des pays africains (Busia, 2005).

### **3.1 Rôle de la médecine traditionnelle en Afrique :**

À l'échelle mondiale, on ne saurait trop insister sur l'importance des produits naturels, en particulier les matières végétales dans la découverte de médicaments (Gurib-Fakim, 2006; Newman and Cragg, 2012). L'Afrique est dotée de plus de 60 000 taxons, ce qui équivaut à environ 25 % des espèces végétales les plus cultivées du monde, et une partie importante de ces plantes ont un potentiel thérapeutique (van Wyk, 2008). Les préparations locales de plantes médicinales constituent toujours la seule option thérapeutique pour environ 80 % de la population (Ibrahim et al., 2014), une situation aggravée par un faible ratio médecin-patient d'environ 1/40 000 dans quelques pays (Abdullahi, 2011). Ceci contraste avec le ratio plus favorable d'un praticien de médecine traditionnelle pour 500 patients pour l'Afrique subsaharienne (Albertyn et al., 2014). En plus d'être un aspect fondamental de la culture, la MTA reste le système de soins le plus économique et le plus accessible pour une grande partie de la population africaine dans les zones rurales et semi-urbaines (Gurib-Fakim, 2006). De plus, dans certains endroits, l'inaccessibilité aux soins de santé primaires est aggravée par de longs temps d'attente à l'hôpital de 6 à 12 heures (Busia, 2005).

Comme l'a documenté Neuwinger (2000), le continent compte environ 5400 taxons de plantes médicinales avec plus de 16 300 utilisations thérapeutiques. Récemment, les scientifiques ont identifié plusieurs espèces végétales ayant un potentiel contre les maladies courantes, y compris les infections microbiennes, le paludisme, le diabète sucré, la tuberculose, la diarrhée, l'helminthiase, la trypanosomiase, le cancer, la douleur, l'inflammation et les brûlures. La diversité des plantes médicinales représente une ressource précieuse tant du point de vue du développement commercial que du point de vue de la science fondamentale.

De plus, les plantes africaines sont une source de matières premières pour les industries pharmaceutiques, alimentaires, cosmétiques et des huiles essentielles. En particulier, les industries pharmaceutiques et phytothérapeutiques utilisent des plantes fraîches ou séchées, des extraits ou des ingrédients actifs isolés pour fabriquer des médicaments. De nombreux pays africains, notamment le Mali, le Burkina Faso, le Ghana, le Cameroun, l'Afrique du Sud et le Nigeria, ont connu une augmentation drastique du nombre d'entreprises artisanales enregistrées et non enregistrées qui participent à la fabrication de formulations à base de plantes médicinales basées sur la MTA (Ndhlala et al., 2011; Obi et al., 2006). Inévitablement, les études visant à établir les bases scientifiques au potentiel de ces médicaments à base de plantes sont de plus en plus nombreuses sur tout le continent.

### **3.2 Recherche ethnopharmacologique en Afrique :**

En Afrique, l'information ethnobotanique populaire est recueillie par le biais d'enquêtes et constitue une base solide pour de nombreuses études ethnopharmacologiques. Grâce à l'approche ethnobotanique, de nombreuses plantes médicinales africaines ont trouvé leur place dans des laboratoires scientifiques modernes dotés d'installations et de technologies de pointe pour la découverte de médicaments et la recherche médicale, tant sur le continent africain que dans les pays développés. La plupart des recherches sur les plantes médicinales africaines se sont concentrées sur la validation de leurs utilisations en médecine traditionnelle en évaluant leurs activités pharmacologiques correspondantes dans des modèles *In vitro* et *In vivo*. En conséquence, de nombreuses plantes ont été évaluées pour une gamme de propriétés pharmacologiques, y compris les activités antimicrobiennes, anthelminthiques, antipaludiques et anti-inflammatoires. Le sujet parfois controversé des bienfaits antioxydants des plantes médicinales pour la santé a également reçu une attention appréciable. Outre l'accent mis principalement sur les études antimicrobiennes, la recherche ethnopharmacologique en Afrique s'oriente progressivement vers d'autres maladies majeures affectant le continent, telle que le VIH/SIDA, la tuberculose, les infections respiratoires, le paludisme, la diarrhée et la drépanocytose. Par exemple, le paludisme demeure un problème de santé majeur dans la plupart des régions de l'Afrique subsaharienne, avec des taux de mortalité sans précédent. Il est encourageant de constater que la recherche active sur les nouveaux composés antipaludiques donne des résultats prometteurs. Dans l'ensemble, les efforts accrus de recherche dans le domaine de l'ethnopharmacologie en Afrique ont conduit à une augmentation progressive des publications scientifiques du continent. Bien que des progrès significatifs aient été réalisés dans la recherche ethnopharmacologique, il y a un manque évident de données scientifiques sur les études cliniques pour évaluer l'efficacité des extraits ou de composés prometteurs (Busia, 2005; Ibrahim et al., 2014).

La pratique de la MTA a été largement soutenue par la transmission orale des connaissances autochtones, ce qui la rend très sensible à la perte d'informations d'une génération à l'autre. Ainsi, ce mode de transfert de connaissances accentue la fragilité de la MTA. Pour freiner la perte croissante des connaissances ethnopharmacologiques, plusieurs démarches sont entreprises. Des numéros spéciaux dans les revues scientifiques sur l'ethnobotanique en Afrique (*Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 119, 2008), la botanique économique (*South African Journal of Botany*, Vol. 77, 2011) et le contrôle de la qualité (*South African Journal of Botany*, Vol. 82, 2012) ont été publiés, couvrant divers aspects de la recherche ethnopharmacologique. Un certain nombre de pays, notamment le Bénin, le Burkina Faso, le Cameroun, la Côte



d'Ivoire, la Guinée, Madagascar, le Mali, le Sénégal et l'Afrique du Sud, ont développé des monographies sur leurs plantes médicinales et aromatiques. Le nombre de livres entièrement consacrés à l'ethnopharmacologie en Afrique a également augmenté au cours des deux dernières décennies pour compléter les ouvrages de référence classiques. Ces publications scientifiques détaillées et complètes sur les plantes médicinales africaines constituent un matériel de référence précieux pour guider les recherches futures.

### **3.3 Les défis de la médecine traditionnelle en Afrique :**

En raison de la dépendance croissante à l'égard des plantes médicinales, les principales parties prenantes ont intensifié leurs efforts pour surmonter les principaux défis associés à la pratique de la MTA. Souvent, ces défis sont liés au statut réglementaire, à l'évaluation de la sécurité et de l'efficacité, au contrôle de la qualité et au manque de connaissances sur la MTA au sein des autorités nationales de réglementation des médicaments (Fennell et al., 2004; Street et al., 2008). Afin de mieux comprendre et d'identifier les lacunes existantes en matière de connaissances, une vue d'ensemble des défis communs affectant la MTA est mise en évidence ci-dessous.

#### **3.3.1 Préoccupations relatives à l'efficacité, à la toxicologie et à l'innocuité**

La plupart des pays africains sont encore en retard dans le développement et le contrôle de leur industrie des plantes médicinales par rapport à la Chine, réputée pour son excellente médecine traditionnelle. Les chercheurs africains étudient fréquemment plusieurs aspects nécessaires au développement de la MTA, en particulier la pharmacologie et la toxicologie des plantes médicinales (Fennell et al., 2004). Même si l'on ne manque pas de données (préliminaires) démontrant les effets pharmacologiques de nombreuses plantes contre différentes maladies, la principale préoccupation reste la fiabilité de la majorité de ces résultats, qui sont souvent des essais *In vitro*. Idéalement, les essais *In vitro* donnant des résultats prometteurs devraient être suivis d'études *In vivo* et finalement d'études cliniques (Houghton et al., 2007).

Dans de nombreux pays africains, les effets indésirables et même la mort associée à l'ingestion de plantes médicinales restent encore largement non déclarés et mal documentés (Steenkamp et al., 2002). Malgré l'hypothèse générale selon laquelle les plantes médicinales d'usage courant sont sûres (Gurib-Fakim, 2006), des recherches scientifiques récentes ont montré que certaines plantes couramment utilisées comme compléments alimentaires ainsi que dans la MTA sont potentiellement toxiques, mutagènes et cancérigènes (Verschaeve and Van Staden, 2008). La

disponibilité d'un nombre relativement faible d'études axées sur la sécurité de la MTA est associée à l'insuffisance et/ou au manque de ressources pour les enquêtes médico-légales ainsi qu'à la rareté relative des méthodes de détection des toxines végétales (Kamsu-Foguem and Foguem, 2014). Souvent, une mauvaise identification, une substitution involontaire ou délibérée de produits à base de plantes, une préparation incorrecte, une administration inappropriée et des dosages non normalisés sont les causes principales de la toxicité de la phytothérapie. En outre, les commerçants de la MTA conservent souvent ces plantes médicinales dans de vieux conteneurs recyclés utilisés auparavant pour les produits chimiques dangereux, et ces pratiques posent un grand risque pour la santé des consommateurs en raison de la contamination croisée (Street et al., 2008).

### **3.3.2 Durée de conservation, physiologie post-récolte et stockage.**

Bien que la documentation sur la botanique, la bioactivité et la chimie des plantes médicinales ne soit pas rare, il existe relativement peu d'informations sur d'autres aspects tout aussi importants comme la durée de conservation, la physiologie post-récolte et le stockage (Street et al., 2008). Par exemple, la durée de conservation indique essentiellement le point auquel un produit ne répond plus aux exigences auxquelles il est soumis et peut même être considéré comme dangereux lorsqu'il est consommé. De plus, la collecte accrue d'espèces végétales à forte demande entraîne une récolte non durable, ce qui entraîne des périodes de stockage de matériel végétal plus longues que prévu (Fennell et al., 2004). Cependant, le manque d'installations de stockage et d'infrastructures commerciales provoque souvent la détérioration des plantes médicinales, ce qui entraîne un gaspillage et/ou une diminution de la qualité des produits.

### **3.3.3 Les défis de conservation de la protection des ressources végétales**

Des pays comme Madagascar, l'Afrique du Sud, la Tanzanie et le Congo font partie des points chauds reconnus de la biodiversité en Afrique. Ces zones, en particulier Madagascar, qui est dotée d'un haut niveau d'endémisme (environ 90% des taxons végétaux), fournissent des trésors inestimables qui nécessitent des lois et des réglementations strictes pour assurer leur protection. Cependant, ces lois et règlements sont inexistantes ou mal appliqués dans de nombreux pays d'Afrique. Actuellement, un certain nombre d'espèces de plantes médicinales sont gravement menacées dans la nature et sont souvent difficiles à trouver en dehors des zones protégées (Williams et al., 2013).

### **3.4 Perspectives d'avenir**

Suite à l'adoption de cadres politiques et législatifs pour réglementer, promouvoir, développer et normaliser la pratique de la MTA par certains pays, il devient de plus en plus clair que la fourniture de soins de santé au 21<sup>ème</sup> siècle sera guidée par une approche préventive basée sur des produits naturels et des modes de vie sains. La réussite de l'intégration de la phytothérapie dans les soins de santé traditionnels en Afrique dépendra en partie de la recherche interdisciplinaire en ethnopharmacologie qui englobe diverses disciplines, à savoir l'ethnobotanique, la pharmacologie, la phytochimie et la toxicologie.

Parmi les défis complexes liés à l'utilisation de plantes indigènes comme plantes médicinales, il y a la question des droits de propriété intellectuelle. Dans une étude sur l'utilisation des plantes médicinales en Afrique de l'Est, Schlage et al. en 2000 ont réitéré que les communautés locales devraient être financièrement récompensées en termes de redevances pour avoir partagé leurs connaissances avec des scientifiques et d'autres personnes de l'extérieur. Ces questions peuvent être abordées par le biais d'une politique globale et d'un cadre juridique sur l'MTA. En fonction de leur situation particulière, les pays africains doivent également se concentrer sérieusement sur la conservation des plantes médicinales. La demande commerciale croissante de certaines plantes pour approvisionner les marchés locaux et internationaux a conduit à une exploitation localisée incontrôlée, aveugle et parfois illégale des plantes, entraînant même l'extinction de certains taxons. Que ce soit par ignorance ou par cupidité, les impacts à long terme des pratiques actuelles de surexploitation et de destruction de l'habitat sont réels et effrayants. Par conséquent, il y a un besoin urgent de stratégies de conservation et de promotion de l'utilisation durable des plantes médicinales. A cet égard, les récents appels à la culture systématique de nombreuses autres espèces de plantes médicinales doivent être sérieusement pris en considération.

## **4 Conclusion :**

L'importance des plantes médicinales et leur contribution à la fourniture de soins de santé primaires en Afrique est bien reconnue, mais d'après les travaux de certains auteurs cités ci-dessus le paradoxe de l'ethnopharmacologie en Afrique est qu'en dépit de la richesse et de la diversité végétale immensément unique et de son potentiel inhérent pour la découverte de nouveaux composés pharmaceutiques, la plupart des recherches sont largement basées sur des modèles *In vitro* et restent préliminaires et incomplètes.

## *Chapitre II*

---

*Tetraclinis articulata : description  
et veille scientifique*

---

## **1 Introduction :**

La première partie de ce chapitre est une considération générale sur le Thuya de Maghreb, dans laquelle on décrit la plante sur plusieurs aspects (botanique, biologique, usage...). La seconde partie est consacrée à l'état de l'art de la recherche sur la plante, et afin d'avoir la bonne information au lieu de toute l'information qui existe sur le web nous avons opté à une veille scientifique en utilisant une méthodologie de collecte de données ordonnée. L'objectif de la veille est non seulement afin de positionner notre recherche dans son environnement scientifique, mais aussi pour rendre compte des travaux de recherches sur le *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, et plus précisément ceux qui sont proches de notre thématique générale.

## **2 Considération générale sur le thuya de Maghreb :**

### **2.1 Histoire :**

Le Thuya de Maghreb dont le nom scientifique est le *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, a été décrit par Vahl en 1791 sous le nom de *Thuya articulata*, puis il a été reporté au genre *Tetraclinis* par Benth (1883) (Toumi, 2009). Elle est appelée « Thuya de Maghreb » « Thuya de Berberie » l'arbre de vie mauresque, en arabe on l'appelle « Araar Berhouch » que l'on peut traduire par « le faux cyprès ».

Les botanistes arabes ont connu et décrit l'arbre bien avant Vahl. Parmi les manuscrits les plus anciens qu'on a pu consulter c'est celui d'*Ibn al-Baitar*. Ce médecin botaniste andalou, qui a vécu en 12<sup>ème</sup> siècle, a décrit « Araar » et ces propriétés thérapeutiques dans son ouvrage « *Kitāb al-Jāmi'l-Mufradāt al-Adwiya wa-l-Aghdhiya* » et il a même annoncé que d'autres médecins musulmans qui ont vécu avant lui comme Avicenne, connaissaient l'arbre et ces vertus médicinales.

### **2.2 Classification :**

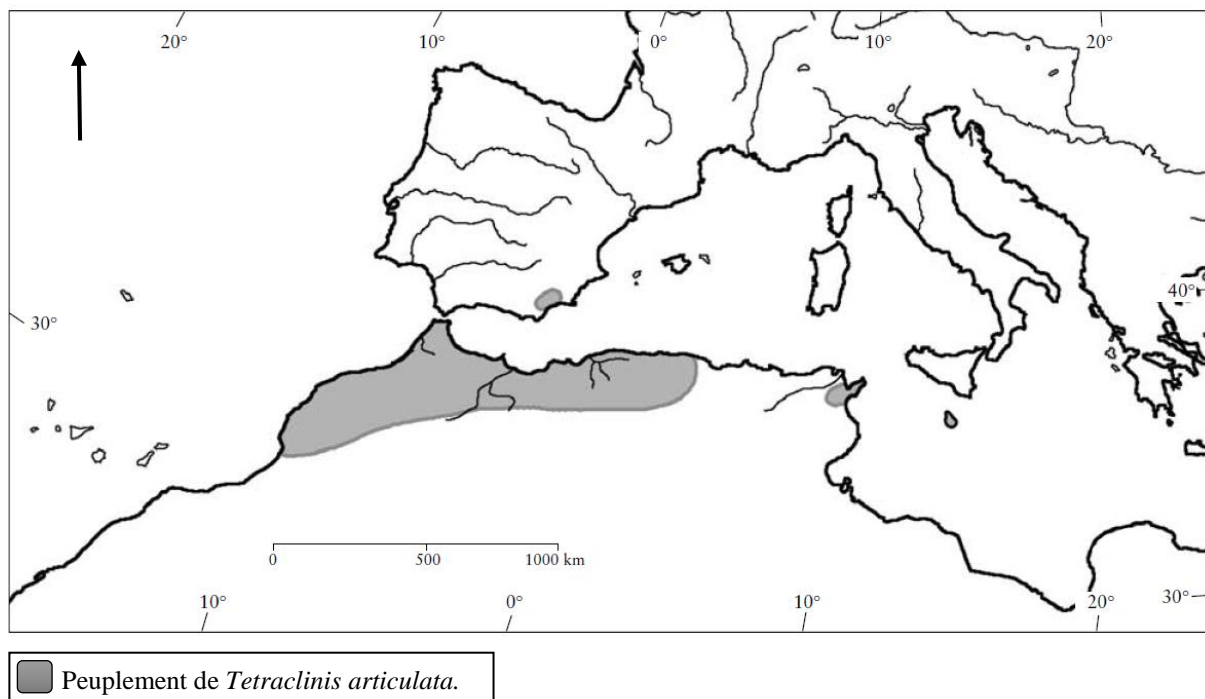
En ce qui concerne la classification botanique, le *T.articulata* fait partie de la famille des cupressacées qui comprend six genres dont l'*articulata* est le seul représentant du genre *Tetraclinis*. Le tableau ci-dessous présente la classification de l'espèce :

**Tableau 1** Classification botanique de thuya du Maghreb (web master 1)

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Division</b>	<i>Pinophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Pinopsida</i>
<b>Ordre</b>	<i>Pinales</i>
<b>Famille</b>	<i>Cupressaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Tetraclinis</i>
<b>Espèce</b>	<i>Tetraclinis articulata</i>

### 2.3 Aire de répartition géographique :

Le Thuya est une espèce endémique à la région méridionale du bassin méditerranéen occidental (Afrique du Nord) à l'exception de deux stations, l'une au sud de Carthagène en Espagne, et l'autre très restreinte dans l'île de Malte (**Fig 1**). Cette essence n'atteint son plein développement que dans le nord-ouest de l'Afrique, c'est-à-dire dans les pays du Maghreb, d'où son appellation : Thuya de Maghreb. Il a une zone naturelle qui couvre l'Afrique du Nord avec une superficie d'environ 1 million d'hectares (Roloff et al., 2009).



**Figure 1:** Aire de répartition naturelle de Thuya de berberie (Roloff et al., 2009).

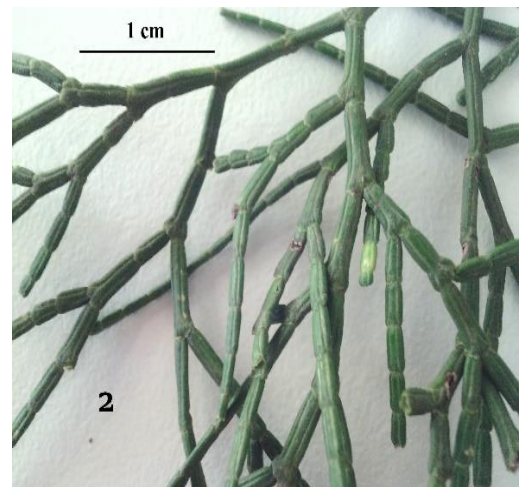
#### 2.4 Biologie de l'espèce :

L'écologiste Hadjadj-Aoul en 2009 a décrit le *Tetraclinis articulata* comme une essence monoïque qui dépasse rarement 6 à 8 m de haut et 0,30 m de diamètre en moyenne. Il existe néanmoins quelques peuplements difficiles d'accès où les dimensions peuvent être plus importantes (12 m pour 0,50 m). Il existe également quelques vieux sujets allant jusqu'à 20 m de haut pour 1 m de diamètre, mais cela reste très rare. L'arbre fleurit en automne (octobre) et fructifie l'été suivant (juin-juillet). Cette fructification démarre vers l'âge de 15 ans et se répète tous les deux à trois ans jusqu'à un âge très avancé. L'ouverture des cônes reste, comme pour beaucoup d'espèces, conditionnée par la chaleur, n'a lieu qu'à la fin de l'été. La production de graines de cette essence est relativement bonne, voire très bonne, et le problème de sa régénération naturelle ne semble pas être freiné par la quantité de semences produites. La dissémination de ces graines reste assez limitée et le plus gros des semences se retrouvent au pied même de l'arbre contrairement au pin d'Alep beaucoup qui est plus expansionniste. D'autre part, les plantules sont très semblables à celles du pin d'Alep, avec lesquelles d'ailleurs elles peuvent être confondues. En effet, toutes deux présentent durant la première année des petites feuilles en aiguilles d'un centimètre environ. Ce n'est que plus tard que les petites feuilles de la plantule du thuya s'imbriquent telles des écailles par quatre pour donner de petits rameaux articulés caractéristiques et cela donne un feuillage très léger. Par ailleurs, l'auteur rappelle que le thuya de Berberie est l'un des rares résineux à rejeter de souches jusqu'à un âge très avancé, 400 ans environ, c'est ce qui donne la physionomie de taillis à ses peuplements et a sans doute contribué de manière significative à son maintien dans les massifs boisés nord-africains.

La figure 2 ci-dessous représente des photos des différentes parties de l'arbre et la figure 3 est un spécimen de Thuya récolté au Maroc est déposé dans l'herbier du Jardin botanique Missouri dans les États-Unis de l'Amérique avec un numéro de référence de MO-2536592.



*Tetraclinis articulata* : description et veille scientifique



1 : cônes femelles 2 : feuilles 3 : graines.

**Figure 2** : Quelques parties de *Tetraclinis articulata*..



*Tetraclinis articulata* : description et veille scientifique



Figure 3: Spicimen de *Tetraclinis articulata* dans le Jardin botanique Missouri.

## **2.5 Écologie de l'espèce :**

Le Thuya de berbérie est un arbre presque exclusivement nord-africain. Si son optimum écologique se situe dans le semi-aride, il est néanmoins tolérant à d'autres milieux comme le subhumide et l'aride. Il accepte tous les sols et peut croître dans une amplitude altitudinale allant du niveau de la mer à 1600 m. C'est au Maroc, qui' il occupe les plus grandes surfaces, mais il est aussi bien répartie en Oranie littorale. Dans la basse vallée Moulouya (Maroc), où il arrive à pénétrer malgré des conditions pluviométriques plus difficiles, il constitue des formations pré steppiques au milieu des nappes d'alfa. Parmi les espèces qui l'accompagnent généralement, il faut citer le caroubier (*Ceratonia siliqua*), l'oléastre (*Olea europea* var. *oleaster*), le phillaria (*Phillyrea media*), le nerprum (*Rhamnus oleoides*), le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*), le jasmin sauvage (*Jasminum fruticosum*), la clématite (*Clematis cirrhoisa*). Il est aussi possible de le rencontrer dans certaines formations du romarin (*Rosmarinus officinalis* et *R. tournefortii*), du pin d'Alep (*Pinus halepensis*), l'arganier (*Argania spinosa*), l'aubépine (*Crataegus monogyna*), la bruyère (*Erica multifolia*), la lavande dentée (*Lavandula dentata*), l'acacia gummifère (*Acacia gummifera*) et bien d'autres espèces, car la tétraclinis peut se développer dans des milieux écologiques très différents (Bellakhdar, 2003).

## **2.6 Usage et importance économique :**

Le peuplement de Thuya assure un rôle très important dans la vie économique et sociale des populations. Dans le secteur artisanal, le bois de *T. articulata*, par sa rusticité et sa résistance aux agents de destruction est considéré comme excellente matière de technologie pour l'ébénisterie dure et moderne qui supporte très bien l'écrasement, et comme un très beau matériau susceptible à de nombreux usages dans la menuiserie fine. Ce bois est très recherché par la marqueterie artisanale. Ainsi, les loupes de thuya sont devenues très rares à cause de leur exploitation abusive dans les vieux peuplements et qui a contribué à la diminution de la densité de ces forêts. Au Maroc, le travail du bois de Thuya est localisé principalement dans la ville d'Essaouira, ce secteur emploie environ 1690 ouvriers, dont 25% sont formés au centre de formation professionnelle, créée en 1984 à Essaouira. Les exploitations des produits artisanaux sont de l'ordre de 3134776 dH en 1990 (Toumi, 2009).

La gomme sandaraque, de couleur jaunâtre, produite particulièrement par le Thuya est utilisée dans la fabrication de vernis de luxe, des produits pharmaceutiques et dans d'autres usages industriels, elle est aussi utilisée sous forme de poudre pour préparer la surface de certain papier. Le goudron végétal est obtenu par distillation et exploité en faible quantité dans des besoins locaux. L'écorce de Thuya est riche en extraits de résine qui forme la sandaraque de grande

valeur. Son tannin est utilisé dans la fabrication de certaines encres. La richesse des Tetraclinaies en Lamiacées (Thymus, lavande et autres), permet une production et un rendement élevés en nectar, ce qui donne au miel qui en résulte une excellente qualité (Toumi, 2009).

En médecine populaire, les feuilles et les rameaux de Thuya sont utilisés pour arrêter les hémorragies, traiter les maladies vénériennes et l'hypertrophie prostatique (Baba aissa, 2000). Au Maroc, les populations locales utilisent cette essence forestière dans la médecine traditionnelle, pour traiter les infections intestinales et respiratoires (Bellakhdar et al., 1991). Les gens du Moyen-Orient emploient la poudre des feuilles comme hémostatique en recouvrant la plaie produite par la circoncision. Des propriétés sudorifiques, diurétiques et antirhumatismales sont accordées aux feuilles et aux rameaux de l'arbre. Ils sont aussi préconisés pour pallier les maladies cardiovasculaires et le diabète (Bourkhiss et al., 2016). La plante est aussi considérée comme un agent aromatisant important, couramment utilisé dans les tisanes et très apprécié pour son odeur et ainsi pour ses propriétés anti-inflammatoires. De plus, les feuilles de cet arbre sont employées en cataplasmes contre les vertiges, les maux de tête et les douleurs de cou (El Jemli et al., 2017a). Les propriétés thérapeutiques multiples de *Tetraclinis articulata* (Vahl) lui accordent le nom de l'arbre de vie (Rebahi A, 2015).

### 3 La veille scientifique :

La veille scientifique est définie comme « une activité mettant en œuvre des techniques d'acquisition, de stockage et d'analyse d'information, concernant un sujet, un produit ou un procédé, sur l'état de l'art et l'évolution de son environnement scientifique, technique, industrielle et commerciale afin de collecter, organiser puis analyser et diffuser les informations pertinentes qui vont permettre d'anticiper l'évolution et qui vont faciliter l'innovation » (Said, 2016). Notre veille scientifique sur le *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast couvre une période qui s'étale de l'année 1900 jusqu'à 2017. Pour ce faire, nous avons suivis l'approche reportée par Said (2016), et qui consiste à répondre aux questions suivantes : Quoi (What) ? Pourquoi (why) ? Qui (who) ? Quand (When) ? Où (where) ? et comment (How) ? (**Tableau 2**)

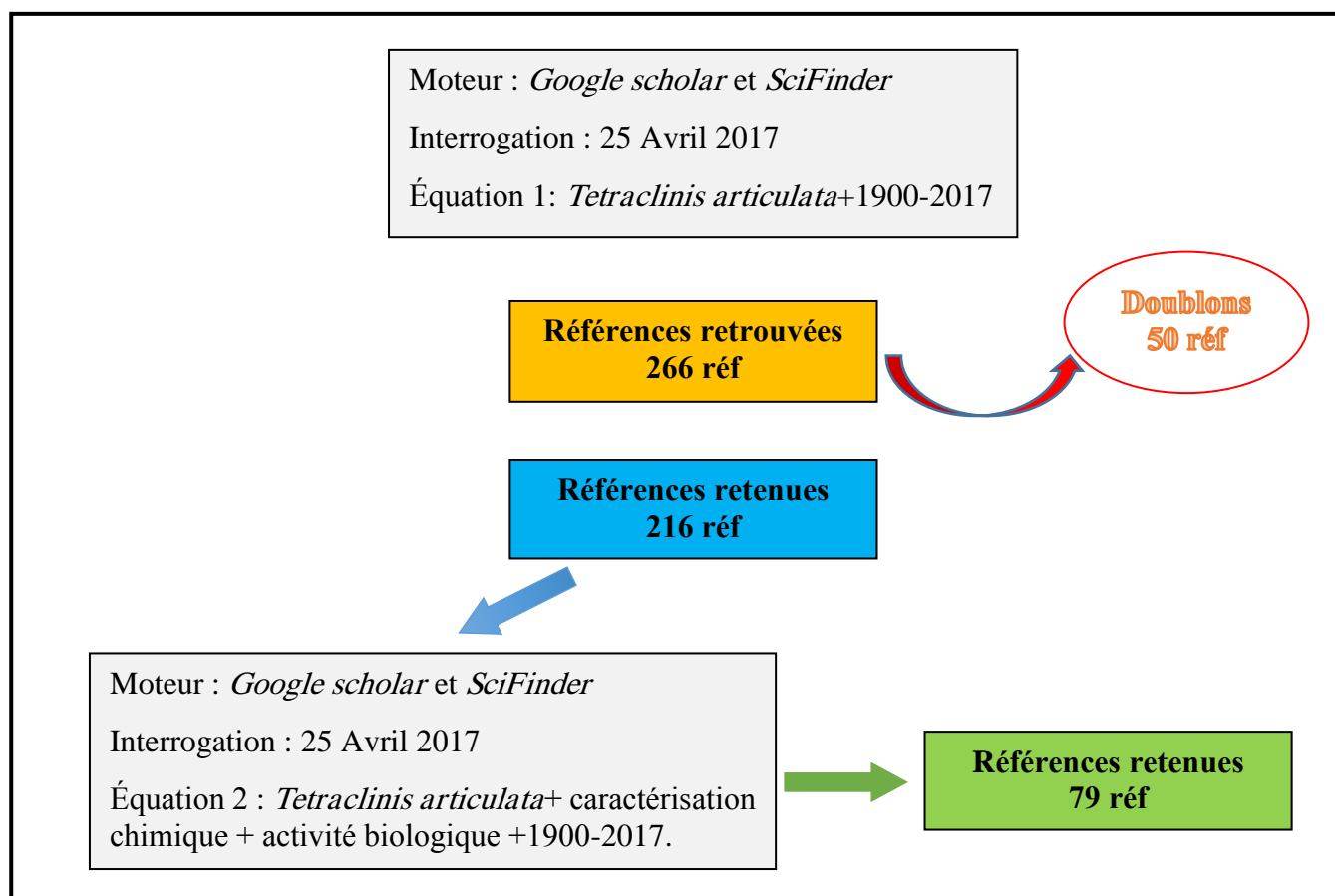
**Tableau 2:** Stratégies de collecte de l'information concernant l'état de connaissance sur le *T.articulata*.

<i>What</i>	<b>Définit les éléments du sujet à analyser :</b> L'étude de ses activités biologiques <i>In vivo</i> et <i>In vitro</i> du <i>T.articulata</i> . La composition et la teneur en métabolites secondaires du <i>T.articulata</i> ..
<i>Why</i>	<b>Définit les objectifs du sujet :</b> Positionner notre recherche dans une nouvelle niche.
<i>Who</i>	<b>Définit les acteurs impliqués dans le projet :</b> Benyamina Abdelfettah, Toumi Fawzia.
<i>When</i>	<b>Définit la période couverte par la veille :</b> <i>T.articulata</i> : période de 1900 à 2017. Composition chimique de <i>T.articulata</i> : période de 1900 à 2017. Activité biologique de <i>T.articulata</i> : période de 1900 à 2017.
<i>Where</i>	<b>Définit le secteur de surveillance :</b> Domaine général : Pharmacognosie. Domaine spécifique : caractérisation des métabolites secondaires et activités biologiques du <i>T.articulata</i> . Couverture : mondiale.
<i>How</i>	<b>Définit la méthodologie mise en œuvre pour la veille :</b> Étude bibliographique : état de l'art de la recherche. Analyse bibliométrique : les tendances scientifiques et les niches. Serveurs de données : <i>Google scholar</i> et <i>Science Finder</i> .

### 3.1 État de l'art de la recherche sur le *T.articulata* :

#### 3.1.1 Recherche de l'information :

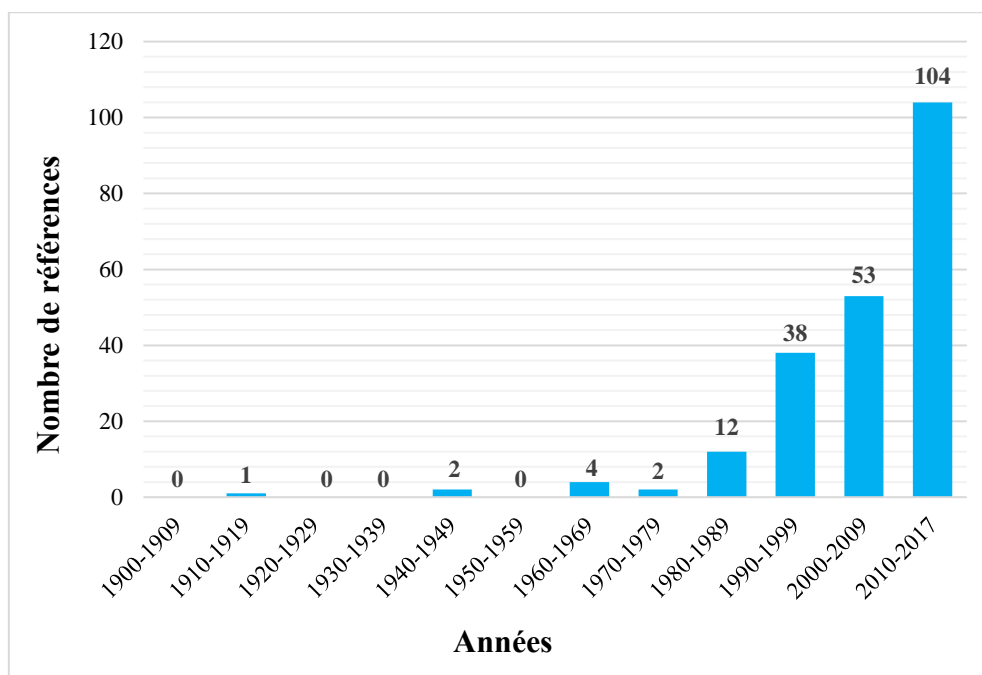
La recherche de l'information sur le *T.articulata* est réalisée en interrogeant deux moteurs de recherche : *Google scholar* et *Science Finder*. Le premier à accès gratuit est multidisciplinaire et permet de ressortir tout genre de document scientifique. Le deuxième est payant et il est conçu notamment pour la recherche dans les domaines de la chimie et des sciences connexes. Dans un premier temps, toutes les références dont le *T.articulata* fait l'objet de l'étude ont été retenues et superposées afin d'éliminer les doublons ressortis par les deux moteurs. Ensuite, un deuxième filtrage est réalisé afin de ressortir uniquement les références ayant une relation avec le sujet à analyser et qui est déjà défini dans le **tableau 2**. La stratégie de la collecte d'information est illustrée dans la **figure 4**.



**Figure 4** : Stratégie de la collecte d'information.

- **Équation 1** : *Tetraclinis articulata*+1900-2017

Les références retenues par l'équation 1 sont classées par décennie dans la figure 5 ci-dessous.

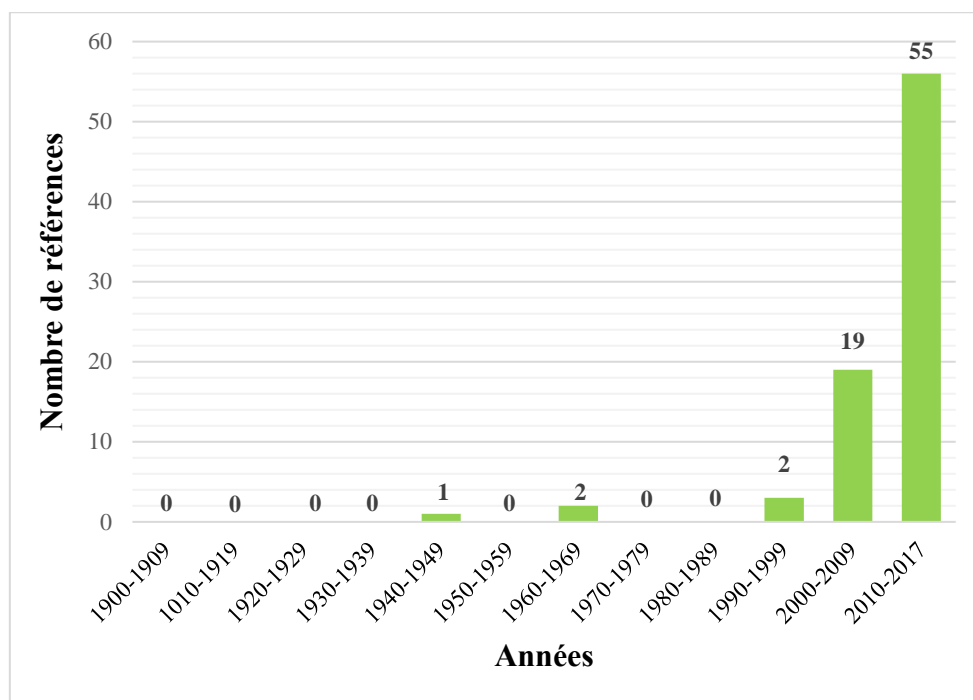


**Figure 5** : Volume des publications scientifiques sur le *T.articulata* par décennie.

La première publication retrouvée sur le *T.articulata* remonte à 1913. Il s'agit d'une contribution à l'histoire de l'arbre par phylogénie, publié par "Saxton" dans la revue *Annals of Botany*. Le Thuya de berberie devrait attendre 36 ans plus tard pour que le premier travail sur son activité biologique voie le jour grâce aux travaux de Erdtman et Rennerfelt en 1949 sur l'effet fongicide de son bois. Erdtman revient en 1960, mais cette fois-ci en collaboration avec Chow yung, pour mettre en évidence le Totarolone : un nouveau diterpène isolé pour la première fois à partir du bois de *T.articulata*. Deux ans plus tard, les deux chercheurs ont identifié plusieurs composés terpéniques du bois de l'arbre par chromatographie sur papier. Depuis, peu de travaux scientifiques ont été publiés et aucun d'entre eux n'a abordé la phytochimie ou les activités biologiques de l'arbre jusqu'à 1990. À partir de cette année, les travaux commencent à se multiplier et se diversifier dont la moitié des études sur le Thuya ont été réalisées à partir de 2010.

- **Équation 2** : *Tetraclinis articulata*+ caractérisation chimique + activité biologique +1900-2017.

Cette équation nous a permis de filtrer que les travaux ayant une relation directe avec nos objectifs de recherches. Ces travaux qui représentent presque le un tiers (80 réf) des références retenues ont été classés tout d'abord par décennie (**Fig 6**) et ensuite par contenus (**Fig 7**) afin d'atteindre l'objectif visé par cette veille scientifique.



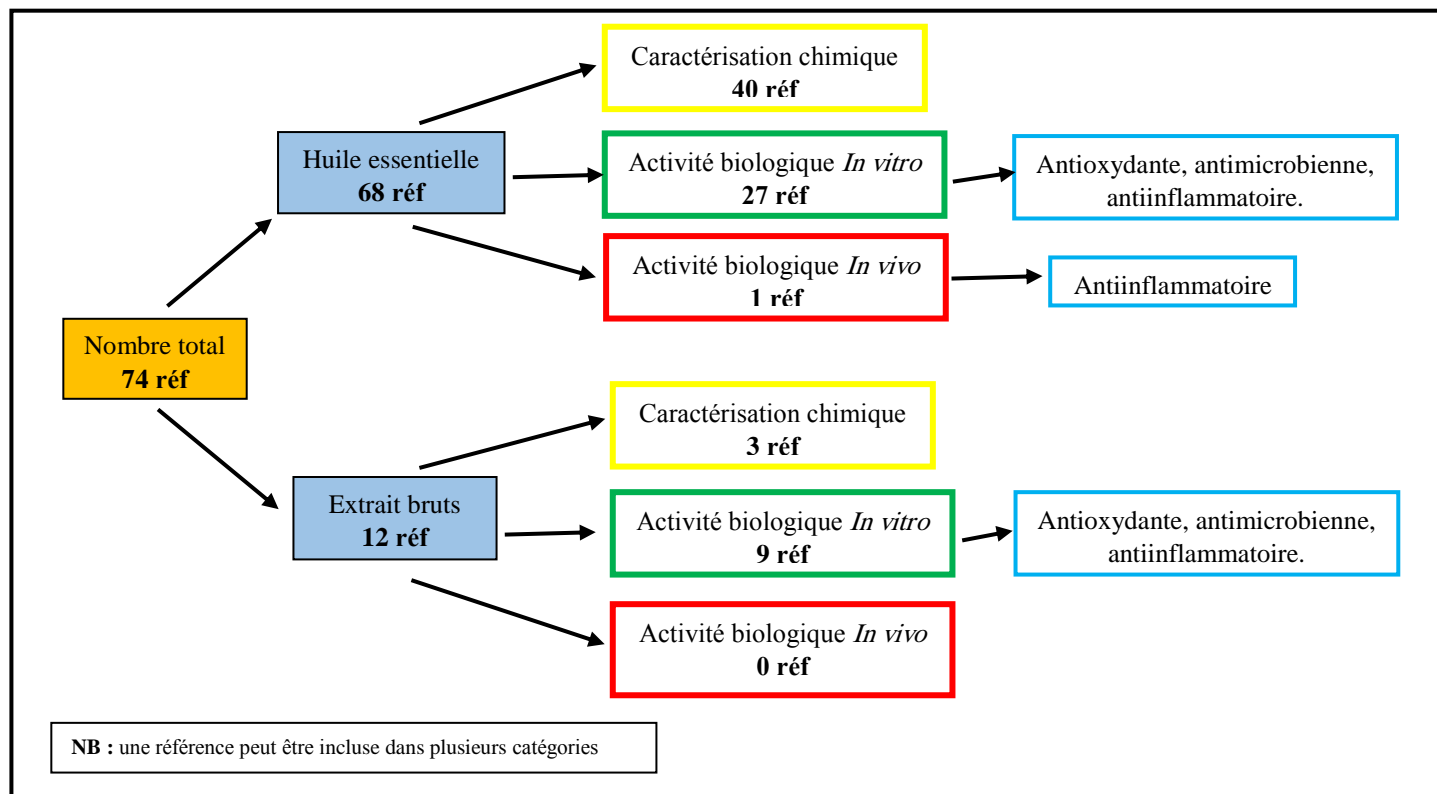
**Figure 6** : Volume des publications en relation avec le thème de recherche par décennie.

Après les travaux d' Erdtman qui a traité l'aspect phytochimique du *T.articulata* aucune publication dans ce sens n'est apparue jusqu'à l'étude du Ait et al en 1990. Cette équipe de recherche marocaine a contribué toujours à l'analyse chimique du bois de l'arbre. En 1999, le *T.articulata* des îles de Maltes a fait l'objet d'une étude réalisée par Buhagiar et al. Il s'agit d'un premier test de l'effet cytotoxique de l'huile essentielle de l'arbre sur un certain nombre de lignées cellulaires cancéreuses humaines. Leurs résultats ont révélé que toutes les lignées cellulaires testées ont été inhibées de manière dose-dépendante et dans un temps de contact de moins de huit heures. Alors l'équipe a conclu que l'huile essentielle contient des composants qui sont efficaces pour induire l'apoptose. Grâce à cette publication, le Thuya a commencé de susciter plus d'intérêt et les travaux consacrés à l'étude de ses activités biologiques et la caractérisation notamment de ces huiles essentielles ont exponentiellement augmenté à partir des années 2000.

### **3.1.2 Récapitulatif des travaux réalisés sur le *T.articulata* dans le domaine de pharmacognosie et de phytochimie en 21<sup>e</sup> siècle :**

Comme il a été déjà indiqué auparavant, les travaux en relation avec notre thème de recherche (du 2000 au 2017) ont été classés par contenu (**Fig 7**) :





**Figure 7:** Classement des références collectées entre 2000 et 2017 par contenu.

Le classement des références par contenu a montré que la majorité de ces dernières concernent l'étude des huiles essentielles. Cette fraction volatile a fait l'objet de nombreuses analyses chromatographiques. La composition chimique des huiles essentielles de tous les organes de *T.articulata* a été identifiée à plusieurs reprises. Leurs activités biologiques ont fait l'objet de plusieurs tests *In vitro*, notamment le test de l'activité antioxydante, antimicrobienne et antiinflammatoire. Un seul travail a été publié sur l'activité antiinflammatoire les huiles essentielles des feuilles *In vivo* par El Jemli et al en 2017.

Pour les extraits bruts de l'arbre, douze références uniquement ont été retrouvées. Deux chercheurs seulement ont tenté de caractériser les composés phénoliques dans les feuilles de Thuya. Certains travaux ont testé les activités antioxydantes, antimicrobiennes et antiinflammatoires de quelques extraits *In vitro*. Les activités biologiques des organes de l'arbre n'ont été jamais testées *In vivo*.



### 3.1.3 Les huiles essentielles de *T.articulata* :

- **Composition chimique :**

En termes de composition chimique, Buhagiar et al. (2000) est parmi les pionniers qui ont fait une analyse complète de tous les organes de l'arbre et ces travaux sont beaucoup cités par les chercheurs. Il a évalué le rendement et la composition de l'huile essentielle extraite des branches feuillues et ligneuses, des cônes et des graines d'un peuplement cultivé de *T.articulata* croissant à Malte. Les principaux composants identifiés étaient l' $\alpha$ -pinène, le limonène, le camphre, l'acétate de bornyle, le bornéol et le germacrène D.

Bourkhis aussi a énormément travaillé sur la caractérisation des huiles essentielles de *T.articulata* poussant au Maroc. Dans l'un de ces travaux les plus cités, il a identifié 34 composés dans les feuilles de l'arbre, dont l'acétate de bornyle,  $\alpha$ -pinène, le camphre et le limonène sont les constituants majoritaires (Bourkhis et al., 2007).

En Algérie, la qualité et la variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *T. articulata* ont été étudiées, pour la première fois, dans trois régions différentes par Toumi et al. en 2011. Leurs analyses ont permis d'identifier jusqu'à 43 composés dont les majoritaires sont le camphre, l'acétate de bornyle, le bornéol, le limonène et l' $\alpha$ -pinène. En outre, leurs résultats ont révélé une teneur non négligeable de l'Abiétal : un diterpène identifié pour la première fois dans les feuilles de *T.articulata*.

En Tunisie, Herzi a adopté une nouvelle approche d'étude de la fraction volatile de Thuya. Elle a tenté une optimisation d'extraction en variant certains paramètres tel que la température, le temps, la pression et la technique d'extraction. Dans l'un de ses travaux les plus cités, elle a identifié jusqu'à 86 composés en mettant en évidence quelques différences entre les composés obtenus par différentes techniques, mais qui ne sont pas significatives (Herzi et al., 2013b).

D'une manière générale, la majorité des travaux de caractérisation des huiles essentielles n'ont pas révélé des différences en termes de composés majoritaires. La proportion de ces derniers varie en fonction des localités géographiques des arbres et aussi l'efficacité des programmes utilisés lors de l'analyse chromatographique.

- **Activités biologiques :**

L'activité antioxydante des huiles essentielles de *T. articulata* a été testée *In vitro* par plusieurs chercheurs et par différentes méthodes. Les principaux résultats ont montré que les fractions volatiles de thuya ne sont pas actives en utilisant les méthodes DPPH, FRAP et ATBS. En

revanche les tests avec la méthode de  $\beta$  carotène ont révélé un pouvoir antioxydant considérable. Les auteurs ont expliqué ces résultats par le caractère lipophile des huiles essentielles (Ben Jemia et al., 2013; Chikhouné et al., 2013; Herzi et al., 2013b).

L'activité antimicrobienne a fait l'objet de quelques publications. Une certaine variabilité a été constatée entre les résultats de ces travaux et qui peut être due à plusieurs facteurs, notamment la nature des souches et les conditions opératoires. D'une manière générale, l'effet antibactérien et antifongique vis-à-vis certaines souches a été démontré à plusieurs reprises ( Bahri et al., 2016; Ghnaya et al., 2016; Abi-Ayada et al., 2011; Moussaouiti et al., 2010; Bourkhiss et al., 2007).

L'effet antiinflammatoire des huiles a été testé *In vitro* par Bourkhiss et al. en 2010 et Djouahri et al. en 2015. Les deux auteurs ont mis en évidence une inhibition considérable de la lipooxygénase et de la xanthine oxydase par les huiles essentielles des feuilles de l'arbre. Cette activité n'a été testée qu'une seule fois *In vivo* par El Jemli et al. en 2017. Dans son test basé sur l'induction d'oedème chez les rats par un stimulus chimique et aussi mécanique, l'huile essentielle de *T. articulata* a montré une réduction efficace du gonflement après environ 6 h de son administration par voie orale à la dose de 200 mg / kg. Dans ce même travail, les auteurs ont aussi démontré que cette fraction volatile des feuilles n'est pas toxique après avoir testé sa toxicité générale sur les rats.

### **3.1.4 Les extraits de *T.articulata* :**

- **Composition chimique :**

La composition chimique des extraits bruts de *T.articulata* demeure mal connue. Il existe 3 références qui rapportent une composition des feuilles de l'arbre. Zidane et al., en 2014 a analysé des extraits de feuille obtenus par 3 solvants en utilisant la chromatographie sur couche mince et la chromatographie liquide avec détection par réseau de diodes et parfois par spectrométrie de masse. Il a pu identifier six composés dans fournir des proportions et qui sont : la myricitrin, catéchine, quercitrin, afzelin, cupressuflavone et amentoflavone. En 2016 , l'analyse de l'extrait méthanolique des feuilles par UPLC-MS effectué par Dane et al. a décelé une composition à moitié différente de celle de Zidane. Les constituants identifiés sont :la myricetin-rhamnoside (42.76%), quercetin-3-O-rhamnoside (31.05%), catéchine (18.83%), myricetin-hexose (4.58%), kaempferol-deoxyhexose (2.03%), quercetin-3-O-glucoside (0.5%) et le kaempferol-hexose (0.20%). En fait, les trois composés majoritaires ont été ainsi identifiés par Zidane. Djouahri et al. en 2014 a caractérisé quelques composés, mais cette fois-ci dans

l'extrait des cônes. Son analyse HPLC a révélé la présence de l'acide tannique, acide Caffeique, Catéchine, acide gallique, rutine et la quercétine.

- **Activités biologiques :**

Les publications de Djouahri sur les extraits bruts de *T.articulata* sont les plus citées. Il a testé à la fois l'activité antioxydante, antibactérienne et antiinflammatoire *In vitro*. Dans l'un de ces travaux, il a testé la sensibilité de douze souches microbiennes en utilisant la méthode de disques. *Listeria monocytogenes* était le plus sensible vis-à-vis des différents extraits. Cependant, les autres résultats montrent l'inefficacité des extraits contre *Klebsiella pneumoniae*, *Fusarium culmorum*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus* et *Candida albicans* (Djouahri et al., 2013). Dans un autre travail, il mit en évidence un effet antioxydant considérable des extraits en utilisant le test de DPPH et de FRAP (Djouahri and Boudarene, 2012). En ce qui concerne l'activité antiinflammatoire, ces travaux ont révélé que l'extrait hydroalcoolique des feuilles inhibe la lipooxygénase et la xanthine oxydase *In vitro*.

D'autres parts, l'inhibition de la peroxydation lipidique et la capacité de piégeage des radicaux DPPH ont été étudiées par Sliti et al. en 2016 pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de Thuya. Cette étude a montré des résultats positifs et qui sont corrélés à la quantité des composés phénoliques. Le travail de (Ben Jemia et al., 2013) confirme aussi le pouvoir antioxydant des feuilles de l'arbre en utilisant quatre systèmes de test différents, à savoir le DPPH,  $\beta$  carotène / acide linoléique, le pouvoir réducteur et l'activité de chélation des métaux.

#### **4 Conclusion :**

Les travaux scientifiques sur le *T.articulata* restent peu nombreux et leurs quasi-totalités se focalisent sur l'étude des huiles essentielles de l'arbre. De plus, les études des activités biologiques de cette fraction volatile sont préliminaires et se limitent généralement à des tests *In vitro*. La composition et les activités biologiques des extraits bruts de la plante sont presque méconnues. En fin, la veille scientifique nous a permis de dégager de nouvelles pistes de recherches afin de contribuer efficacement dans l'étude de cet arbre qui fait partie de notre patrimoine national.

# *Chapitre III*

---

## *Matériel et méthodes*

---

## **1 Introduction :**

Après avoir positionné notre recherche dans son environnement scientifique grâce à la veille décrite précédemment, on présentera dans ce chapitre la méthodologie retenue afin de mener à bien le travail. Notre démarche expérimentale s'inscrit dans le cadre de l'ethnopharmacologie (chapitre1), ce qui fait que la première étape du travail est une étude ethnobotanique qui permettra d'apprécier les usages de *T.articulata* en médecine populaire afin d'orienter, en quelque sorte, la recherche au laboratoire. La seconde étape correspond à l'échantillonnage et la préparation de la matière végétale qui va servir aux éventuels tests. L'étape qui suit est l'étude des activités biologiques des différentes parties de la plante, à savoir les feuilles, les rameaux et les cônes. Il s'agit d'un ensemble de tests *In vivo* et *In vitro* qui permettront de vérifier empiriquement quelques effets thérapeutiques de l'arbre présumés par la population locale. La dernière étape consiste à une caractérisation chimique des composés phénoliques par des analyses quantitatives et qualitatives.

## **2 Étude ethnobotanique :**

### **2.1 Principe :**

L'enquête ethnobotanique vise à collecter les données et réunir les informations considérées comme étant nécessaires à la résolution d'un problème de recherche particulier. Les données sont collectées auprès des habitants d'une zone d'étude pour différentes raisons ; notamment :

- Pour des fins d'exploration.
- Ou bien pour répondre à des questions de recherche (cas de notre étude).

La méthodologie retenue pour la réalisation de l'enquête est celle décrite par Gary Martin en 1995 avec certaines modifications.

### **2.2 Protocole :**

La mise en œuvre de l'enquête consiste à s'approcher de la population locale afin de collecter les données sur la plante qui nous intéressent ; pour cela il faut :

**a.** Choisir la région d'étude : dans notre cas il s'agit de la ville de Sidi Bel Abbes (Nord-ouest d'Algérie) et un certain nombre de ces villages (Lamtar, Ben Badis, Ras El Ma, Chitwane, Moulay Slissen, Sidi Lahcene, et Tenira).

**b.** S'approcher des gens et se présenter en expliquant quels sont nos objectifs et les sensibiliser aussi qu'ils vont contribuer à l'apport de nouvelles informations à la science.

**c.** Recueillir les informations sur la plante choisie (*T.articulata*) à travers des entretiens, en utilisant un questionnaire simple dont les principales questions sont :

- La personne connaît-elle la plante ?
- La personne peut-elle rappeler certaines caractéristiques de plante ?
- La personne peut-elle rappeler les usages de plante ?

(Les détails du questionnaire seront présentés dans la section suivante)

**d.** Donner l'occasion aux informateurs de s'exprimer librement même s'ils donnaient des détails qui ne sont pas demandés.

**e.** Identifier les informateurs clés (spécialistes, herboristes, personnes âgées...) pour exploiter leurs réponses en détail dans la section analyse.

### **2.3 Questionnaire :**

Le questionnaire ci-après contient une partie qui concerne les informations personnelles de l'informateur et une seconde partie concerne les données sur la plante.

**a.** partie informateur :

Les individus ayant plus de 20 ans ont été choisis d'une manière aléatoire. Pour chaque enquêté, on note certaines informations personnelles (Âge, niveau d'étude, situation familiale...) non seulement pour décrire l'échantillon interrogé, mais aussi afin d'avoir des données qui peuvent servir pour une éventuelle étude ethnologique.

**b.** partie plante :

Dans cette partie des questions précises et objectives ont été posées aux enquêtés en se basant sur nos connaissances bibliographiques sur le *T.articulata*. La connaissance et l'identification de la plante, son mode de préparation et d'utilisation ainsi que les types d'affections traitées sont les principales questions posées aux sujets interrogés.

**Fiche d'enquête ethnobotanique**

Université Djilali Liabès.

Date : .....

Faculté des Sciences de la nature et de la vie.

Fiche N° : .....

**Questionnaire sur l'utilisation traditionnelle d'une plante médicinale**

Faites une croix dans la case que vous estimez convenable.

**L'informateur :**

1/ Âge : .....

2/ Sexe : Masculin  Féminin

3/ Niveau d'étude :

Analphabète

Primaire

Secondaire

Universitaire

4/ Situation familiale :

Célibataire

Marié

5/ Habitat : Ville  Village

**La plante :**

6/ Connaissez-vous « Arrar, العرعار » ?

Oui  Non

7/ Connaissez-vous le Thuya de berberie (العرعار)

البرهوش ?

Oui  Non

8/ Dans quel domaine la plante est utilisée :

Médecine  Cosmétique  Industrie

Autres  .....

9/ Quelles sont les parties utilisées en médecine ?

Feuilles  rameaux  cône  écorce  racine

10/ En quel état sont-elles utilisées ?

Fraiche  ..... Sèche  .....

11/ Quel est leur mode de préparation :

Infusion  Décoction  Macération

Cataplasme  Autres  .....

12/ Quel est le mode d'administration :

Oral  Inhalation  Badigeonnage

Autres  .....

13/ La plante est utilisée dans quels types d'affection :

- Dermatologiques  .....

- Respiratoires  .....

- Cardio-vasculaires  .....

- Génito-urinaires  .....

-Ostéo-articulaires  .....

-Métaboliques  .....

- Tube digestif  .....

-Glandes annexes du tube digestif  .....

-Neurologiques  .....

- Autres rapports d'utilisation : .....

14/ Est-ce que la plante a des effets secondaires :

Non

Oui  .....

15/ Qu'est-ce que vous pensez de l'efficacité de la plante :

Importante  moyenne  Faible

16/ Quelles sont les préparations et les recettes que vous connaissez à base de cette plante ?

.....

.....

.....

.....

**Vous pouvez utiliser le verso**

*Merci pour votre collaboration.*

## 2.4 Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés en pourcentage et représentés graphiquement par des diagrammes en portions ou en bâtons. Logiciel utilisé dans l'analyse des résultats est le Microsoft Excel 2016. Toutes les données qui concernent les utilisations et les remèdes traditionnels cités par les informateurs clés sont rédigées et rapportées telles qu'elles sont dans le chapitre « résultats et discussion ».

Afin de décrire davantage nos résultats ; nous avons calculé certains indices quantitatifs utilisés en ethnobotanique. Depuis les années 1990, ces indices sont devenus de plus en plus communs chez les ethnobiologues et les ethnobotanistes en particulier. Ils étaient proposés par quelques auteurs et par la suite de nombreux chercheurs les ont adoptés dans leurs recherches parce qu'ils ont permis d'uniformiser, plus ou moins, les résultats des enquêtes et ce qui facilite par conséquent la comparaison entre les différentes études. Parmi les indices les plus communs, nous avons choisi ceux qui sont adaptés à notre étude :

- **Use value (UV) :**

L'importance relative de chaque espèce végétale connue localement comme remède est appelée UV, et elle est calculée à l'aide de la formule suivante : (Barnert and Messmann, 2008)

$$UV = \Sigma U / n$$

D'où UV est la valeur d'usage d'une espèce, U est le nombre de rapports d'utilisation cités par chaque informateur pour une espèce végétale donnée et n est le nombre total d'informateurs interrogés.

L'UV est utile pour déterminer les plantes ayant l'utilisation la plus élevée (le plus souvent indiqué) dans le traitement d'une affection. Les UV sont élevés quand il y a de nombreux rapports d'utilisation pour une plante.

- **Fidelity level (FL) :**

Le niveau de fidélité est utilisé pour déterminer la fréquence d'utilisation d'une plante dans le traitement d'une catégorie particulière de maladies. Le FL est calculé en utilisant la formule suivante (Martin, 1995):

$$FL (\%) = (NP/N) \times 100$$



D'où NP est le nombre de rapports d'utilisation de la plante pour une catégorie particulière de maladie et N est le nombre total de rapports d'utilisation cités. En général, on obtient des FLs élevées pour les plantes pour lesquelles pratiquement tous les rapports d'utilisation se réfèrent à la même catégorie d'affection, alors que les FLs faibles sont obtenus pour des plantes utilisées à de nombreuses fins différentes.

- **Importance value (IV) :**

L'IV mesure l'efficacité et l'importance de la plante au sein d'une population. Elle est calculée par la formule suivante (Byg and Balslev, 2001).

$$IV = n_i / n$$

D'où  $n_i$  est le nombre d'informateurs qui considèrent que la plante est importante et efficace et  $n$  est le nombre total des informateurs.

### 3 Échantillonnage et préparation de la matière végétale :

#### 3.1 Récolte :

La matière végétale a été récoltée pendant la matinée du 17/11/2016 dans un temps ensoleillé sur le flanc nord de la montagne des lions (près de la ville d'Oran, Algérie occidentale). Cette dernière s'élève brusquement au-dessus de la mer atteignant une altitude estimée à 611 m. Sur cette montagne existe un petit peuplement naturel de *T.articulata* dans une station située à une altitude d'environ 80 m et elle est comprise entre les longitudes  $0^{\circ} 29' 58'' W / 0^{\circ} 30' 01'' W$  et les deux latitudes  $35^{\circ} 47' 11'' N / 35^{\circ} 47' 23'' N$  (**Fig 8**). Des arbres sains ont été choisis d'une manière aléatoire et les parties terminales des rameaux feuillus et qui portent des cônes ont été coupées à l'aide d'un sécateur.



**Figure 8 :** Station d'échantillonnage (Cliché personnel)

#### 3.2 Séchage et calcul de la teneur en eau :

Au niveau du laboratoire les trois organes (feuilles, rameaux et cônes) ont été lavés et séparés. Le matériel végétal a été séché à l'abri de la lumière à l'air libre dans la température de

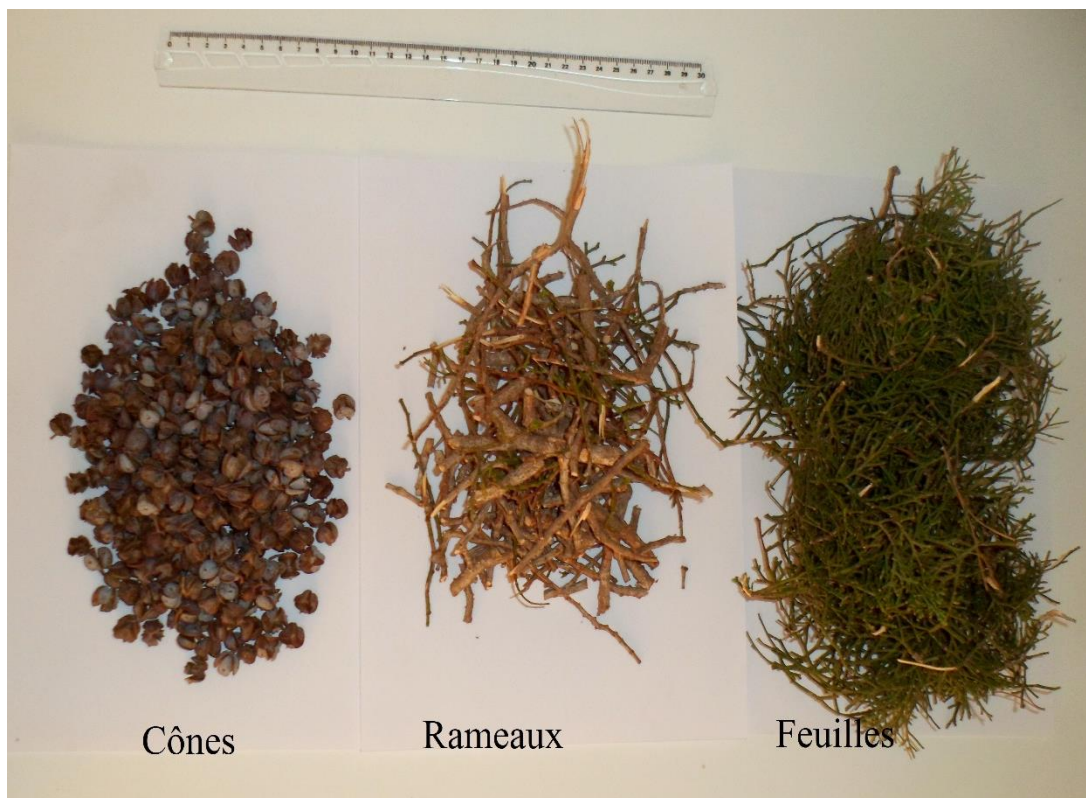
laboratoire (18 à 20°C). Pour déterminer la teneur en eau, 100 g de matière fraîche de chaque organe a été pesé à part (**Fig 9**), en suite, une série de pesés a été effectuée dans un intervalle de temps précis (chaque 3 jours) de la même quantité jusqu'à la stabilisation du poids de cette dernière.

La teneur en eau (TE %) est calculée par la formule suivante :

$$\text{TE \%} = (P_i - P_f / P_i) \times 100$$

**P<sub>i</sub>** : poids initial (matière fraîche).

**P<sub>f</sub>** : poids final (matière sèche).



**Figure 9** : Parties de la plante destinées au calcul de la teneur en eau.

### **3.3 Broyage :**

Les parties séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur de type (IKA A 11) jusqu'à l'obtention de particules dont la granulométrie varie entre 0.8 mm et 2 mm ; cette taille des particules favorise l'obtention des meilleurs rendements comme a précisé Herzi et al., 2013a.

### **3.4 Extraction :**

Les extraits des différents organes (feuilles, rameaux, cônes) ont été préparés par la macération de la poudre végétale dans l'éthanol 80 % en utilisant un ratio poudre/solvant de 10 %. Le solvant a été renouvelé chaque 24 h pendant 3 jours. Les phases organiques obtenues ont été concentrées à sec sous pression réduite et ensuite conservée à 4 °C pour être utilisées dans les différentes analyses décrites ci-dessous. Le rendement (R%) d'extraction a été calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{R\% = (masse\ de\ résidu\ sec / masse\ de\ la\ poudre\ végétale) \times 100}$$

## 4 Activités biologiques :

Certaines activités biologiques ont été testées *In vivo* et d'autres *In vitro* selon nos moyens et les modèles expérimentaux qui existent.

### 4.1 Tests biologiques *In vivo* :

Avant de décrire les méthodes et les protocoles utilisés dans les tests biologiques *In vivo* voici quelques considérations générales :

- Les animaux utilisés sont des souris albinos (BALB/c) élevés par nous-mêmes dans la faculté des sciences de la nature et de la vie de Sidi Bel Abbes. L'élevage a été effectué dans des cages en plexiglas avec une grille en aluminium (58 x 38 x 20 cm) munies d'abreuvoirs et de mangeoires. Le nombre maximal d'animaux à l'âge adulte, par cage, est de 25 individus. Les animaux étaient nourris avec un aliment en granule destiné à l'alimentation des rongeurs et ils avaient un accès libre à l'eau 24h/24h.
- Les animaux destinés aux expériences avaient un poids de 23 à 30 g. Ils étaient transportés au laboratoire un jour avant l'expérimentation pour les acclimater aux nouvelles conditions.
- Les extraits secs de *T.articulata* destinés aux traitements des animaux ont été préparés en suspension aux doses souhaitées dans l'eau physiologique (NaCl 0.9 %). En ce qui concerne la voie d'administration de nos produits, certains chercheurs suggèrent que les études pharmacologiques devraient être effectuées en utilisant la même voie d'administration que celle prévue chez l'homme. Étant donné que dans la plupart des cas, les plantes sont administrées par voie orale, cette dernière est utilisée fréquemment dans les études sur les animaux. D'autre part, il n'y a aucune garantie que les souris ont une absorption et un métabolisme similaires à ceux de l'homme par voie orale. En effet, certains médicaments, par exemple les neuroleptiques, halopéridol ou sulpiride, sont très mal absorbés chez les rongeurs après administration orale, ce qui n'est pas le cas chez l'homme. Le risque d'une mauvaise absorption chez les souris pourrait en effet justifier l'utilisation d'une voie plus efficace comme l'intrapéritonéale ou la sous-cutanée pour les études pharmacologiques d'innocuité (Vogel et al., 2006). En se basant sur cet ordre d'idées, nous avons décidé d'administrer nos extraits par voie intrapéritonéale du fait qu'il s'agit dans la majorité des cas des tests aigus. Le volume d'administration par cette voie est de 10 ml/kg du poids corporel de l'animal, comme il

est recommandé par l'association américaine pour la science des animaux de laboratoire « *American Association for Laboratory Animal Science* » (Turner et al., 2011).

- Comme pour toutes les procédures impliquant des animaux vivants, les considérations importantes dans le choix de la méthode sont les questions éthiques qui l'entourent. La plupart des organismes de réglementation se sont prononcés à ce sujet. Cependant, les principes directeurs sont d'utiliser aussi peu d'animaux que nécessaires et d'éviter autant que possible de les faire souffrir.

#### **4.1.1 Étude de la toxicité aigüe :**

Dans la phase exploratoire des études pharmacologiques, c'est souvent le premier test utilisé *In vivo*. Au cours de cette phase, le but du test est de fournir une détection rapide de la toxicité de la substance d'essai, de la gamme de doses actives et ces principaux effets sur le comportement et les fonctions physiologiques.

La toxicité de nos extraits a été déterminée selon l'approche décrite par Lorke en 1983. Dans la première étape de cette méthode, il est nécessaire de déterminer l'étendue approximative de la toxicité. Ceci a été obtenu en formant trois groupes de trois souris dont chaque groupe reçoit par voie intrapéritonéale (IP) des doses de 10, 100 et 1000 mg/kg du poids corporel respectivement. Les animaux ont été observés durant les deux heures qui suivent l'administration des extraits, afin de noter tous les symptômes de toxicité. Le nombre de mortalités a été noté après 24 h et ce dernier va servir pour compléter la seconde étape du test. Cette dernière consiste à administrer des doses spécifiques en se basant sur les résultats de la première étape (**Tableau 3**). Dans cette deuxième étape, on n'utilise qu'un seul animal par groupe et les mortalités sont notées après 24h. Le test est achevé par la détermination de la dose létale pour 50% des animaux ( $DL_{50}$ ) en calculant la moyenne géométrique entre la dose non létale (0/1) et la dose létale qui la suit (1/1) comme c'est indiqué dans le **Tableau 3**.

**Tableau 3:** Nombres de mortalités de l'étape 1 et doses correspondantes pour l'étape 2 (Lorke, 1983).

Doses en mg/kg de poids corporel avec tous les résultats possibles de la première étape du test			Doses choisies pour la deuxième étape du test en fonction des résultats de la première étape			
10	100	1000				
0/3*	0/3	0/3	/	1600	2900	5000
0/3	0/3	1/3	600	1000	1600	2900
0/3	0/3	2/3	200	400	800	1600
0/3	0/3	3/3	140	225	370	600
0/3	1/3	3/3	50	100	200	400
0/3	2/3	3/3	20	40	80	160
0/3	3/3	3/3	15	25	40	60
1/3	3/3	3/3	5	10	20	40
2/3	3/3	3/3	2	4	8	16
3/3	3/3	3/3	1	2	4	8

\*Nombre d'animaux morts / nombre d'animaux utilisés.

#### **4.1.2 Activité antiinflammatoire (modèle d'œdème des pattes induit par la carraghénine) :**

L'œdème de la patte de rat ou de souris induit par la carraghénine est un test largement utilisé pour déterminer l'activité antiinflammatoire. Il constitue un modèle animal simple et courant pour l'évaluation de cette activité sans blessure ou dommage à la patte enflammée ( Sugishita et al., 1981; Henriques et al., 1987; Jain et al., 2001; Petersson et al., 2001; Paschapur et al., 2009; Sini et al., 2010). Il est aussi, de plus en plus utilisé pour tester de nouveaux médicaments antiinflammatoires ainsi que d'étudier les mécanismes impliqués dans l'inflammation. En 2004, Posadas et al. estiment environ 400 articles dans la littérature dérivants des activités antiinflammatoire en utilisant ce modèle.

- **Mise en œuvre :**

Les animaux ont été randomisés par groupe de cinq. Le groupe I (témoin) a été traité avec du sérum physiologique, le groupe II avec du diclofénac sodique (10 mg/kg), le reste des groupes III, IV et V ont été traités avec l'extrait de la plante aux doses de 100, 200 et 300 mg/kg respectivement. Après 30 minutes de l'administration intrapéritonéale des traitements, 50 µl de



carraghénine (1 % dans du NaCl 0.9%) a été injecté par voie sous-cutanée dans le tissu sous-plantaire de la patte postérieure droite de chaque souris. Le site d'injection se trouve près du centre de la région plantaire, un point important par rapport à la souris qui n'a pas de région de coussinet bien définie sur la face inférieure de la patte postérieure (**Fig 10**).



**Figure 10:** Injection de la carraghénine.

Les diamètres des pattes ont été mesurés avant l'injection de carraghénine puis à 1, 2, 3,4 et 5 heures après. La mesure de l'épaisseur des pattes a été faite dans l'axe dorsal-plantaire au niveau du métatarse à l'aide d'un pied à coulisse. Le point de mesure a été marqué sur le dessus du pied à l'aide d'un stylo indélébile pour servir de repère pour les mesures subséquentes (**Fig 11**)

Le gonflement moyen des pattes chez les animaux traités a été comparé à celui du témoin, et le pourcentage d'inhibition (activité antiinflammatoire) de l'œdème a été déterminé en utilisant la formule suivante (Muhammad et al., 2012):

$$\% \text{ inhibition} = [(A-B) / A] \times 100$$

dont **A** représente le volume d'œdème de groupe témoin et **B** l'œdème de la patte des groupes traités.





**Figure 11:** Formes de pattes avant et après l'injection de la carraghénine.

#### 4.1.3 Activité antipyrétique :

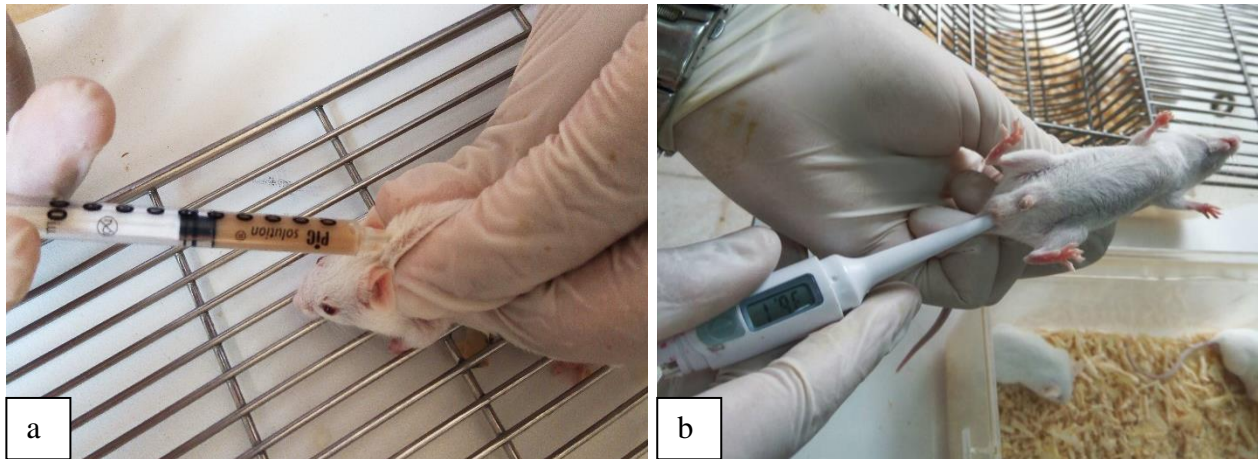
Les méthodes disponibles pour déterminer l'activité antipyrétique consistent à injecter un agent pyrogène aux animaux et les traiter en suite par le produit que l'on veut tester son activité antipyrétique. Depuis 1935, les chercheurs ont proposé certains agents pour induire la pyrexie chez les animaux, y compris la levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*) qui était souvent utilisée chez les rats, les souris et les cobayes. Loux et al. en 1972 ont porté plus d'attention à cette dernière technique et ils ont mis au point une méthode précise et reproductible pour évaluer les effets antipyrétiques des composés à des niveaux de dose qui se rapprochent de ceux utilisés en traitements cliniques. De nos jours, la méthode de Loux demeure la technique la plus utilisée par les chercheurs dans les tests préliminaires de pharmacologie.

- **Mise en œuvre :**

La fièvre a été induite par l'injection sous-cutanée d'une suspension aqueuse à 20 % de levure de bière à raison de 20 ml/kg. L'injection a été faite dans la région dorsale et plus précisément sous la nuque de l'animal (**Fig 12 a**). Les animaux ont été ensuite jeûnés pendant toute la durée de l'expérience (environ 24 heures). L'eau était disponible à volonté.

La température rectale de chaque animal a été prise avant et 18 h après l'injection de la levure à l'aide d'un thermomètre numérique (**Fig 12 b**). Les animaux qui ne présentaient pas une augmentation minimale de 1°C après les injections de la levure ont été éliminés. Les animaux sélectionnés ont été par la suite randomisés par groupe de cinq. Le groupe I (témoin) a été traité avec du sérum physiologique, le groupe II avec du paracétamol (100 mg / kg, IP). Les groupes

III, IV et V ont été traités (IP) avec 100, 200 et 300 mg/kg d'extraits de *T.articulata* respectivement. Les températures rectales des animaux ont été de nouveau prise à 1, 2, 3 et à 4 h après les traitements. L'effet antipyrétique a été évalué comme la capacité des traitements à inverser la pyrexie induite. (Loux et al., 1972).



**Figure 12:** Injection sous cutané (a) et mesure de la température rectale (b).

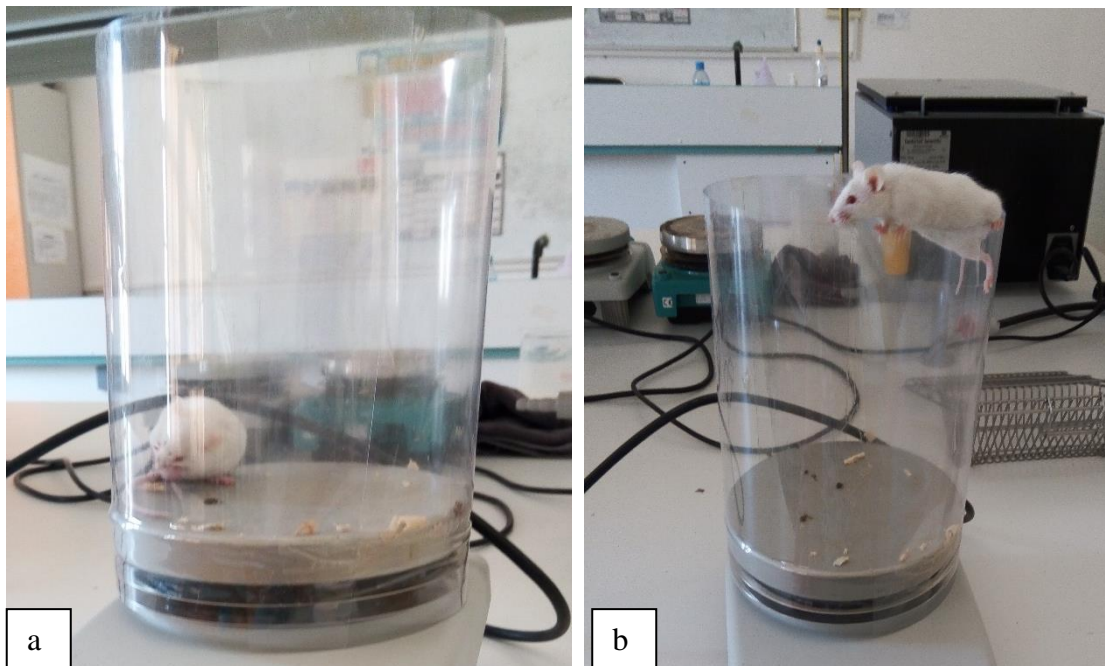
#### **4.1.4 Activité antinociceptive :**

L'activité antinociceptive est souvent associée dans les articles scientifiques à l'activité analgésique et elle est décrite comme une analgésie centrale. Les méthodes décrites pour tester cette activité chez les animaux, utilisent un stimulus généralement thermique afin de déclencher une réaction douloureuse. Le test de la plaque chauffante (*Hot Plate Test*) (Eddy and Leimbach, 1953) est une technique simple permettant d'estimer les effets des substances d'essai sur le seuil de sensibilité à la douleur. Il est basé sur le principe que les rongeurs, placés sur une surface chaude, démontreront les effets aversifs de la stimulation d'abord en léchant leurs pattes et ensuite en tentant clairement d'échapper à la situation (sauter). Les substances qui modifient le seuil nociceptif augmentent le temps de latence pour lécher/sauter (effet analgésique) ou le diminuent (effet hyperalgésique). La procédure de la plaque chauffante présente un avantage par rapport à d'autres méthodes de stimulation thermique, par exemple la procédure de la queue (*Tail flick test*) (D'amour and Smith, 1941), en ce qu'elle peut être appliquée de façon répétée chez les mêmes animaux dans une courte durée (2-3 heures) sans causer de lésions tissulaires, en particulier si la durée maximale d'observation est de 30 secondes. Cela pourrait être particulièrement utile pour estimer les effets du court temps. La procédure de la plaque chauffante constitue également une estimation plus globale de la réactivité nociceptive parce

qu'elle représente un comportement volontaire complexe plutôt qu'un simple réflexe comme celui de la queue (Vogel et al., 2006).

- **Mise en œuvre :**

Les animaux ont été soumis à un pré-essai sur la plaque chauffante maintenu à  $55 \pm 1$  °C. Les animaux ayant un temps de latence supérieur à 15 (s) sur plaque chauffante pendant le prétest ont été éliminés. Ensuite, les animaux ont été randomisés par groupe de cinq. Le groupe I a été traité avec une solution saline, le groupe II a été traité avec du Tramadol (30 mg/kg, IP). Les groupes III, IV et V ont été traités (IP) avec 100, 200 et 300 mg/kg de l'extrait de la plante respectivement. Après 30 min de traitement, les animaux ont été placés sur la plaque chaude et le temps de latence a été mesuré en secondes. Le temps de latence est défini par la durée pendant laquelle la souris reste sur la plaque sans léchage des pattes postérieures ou saut (**Fig 13 a et b**) (Muhammad et al., 2012).



**Figure 13:** Léchage des pattes (a) et saut (b) sur la plaque chauffante.

#### **4.1.5 Activité analgésique :**

Les tests de l'activité analgésique se font généralement par l'induction des douleurs dans la région ventrale de l'animal. L'injection d'agent chimique irritant (acide acétique ou phénylbenzoquinone) au niveau la cavité péritonéale se traduit par des contractions abdominales, des contorsions et des étirements des pattes arrière de l'animal (**Fig...**) d'où l'appellation de ce test en anglais : *writhing test*.



- **Mise en œuvre :**

Pour mettre en œuvre ce test, des groupes de cinq souris étaient constitués. Le groupe I (témoin) a reçu par voie IP du sérum physiologique. Le deuxième groupe a reçu le médicament standard : diclofénac sodique (10 mg/kg, IP), tandis que les autres groupes III, IV et V ont été injectés avec 100, 200 et 300 mg/kg (IP) de l'extrait de la plante respectivement. Après 30 minutes, les animaux ont reçu par voie IP une solution d'acide acétique à 1 %. Le nombre de contractions abdominales (contorsions) (**Fig 14**) a été compté après 5 min de l'injection d'acide acétique pendant une période de 10 min. L'effet analgésique a été évalué selon la formule suivante (Muhammad et al., 2012):

$$\% \text{ inhibition} = [(A-B) / A] \times 100$$

**A** représente la moyenne du nombre de contorsions des souris du lot témoin et **B** est la moyenne du nombre de contorsion des souris du lot traité.



**Figure 14:** Contorsions abdominales et étirements des pattes postérieures.

#### **4.2 Tests biologiques *In vitro* :**

Les tests biologiques *In vitro* réalisés sont l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne.

#### 4.2.1 Activité antioxydante :

La nature diversifiée des antioxydants et aussi des radicaux libres, avec des composants hydrophiles et hydrophobes et la complexité des processus d'oxydation impliquent qu'aucune méthode n'est universelle pour l'évaluation de l'activité antioxydante d'une manière précise, et c'est la raison pour laquelle on a opté dans ce présent travail à une combinaison de quatre méthodes différentes pour mesurer *In vitro* le pouvoir antioxydant des extraits d'organes de *T.articulata*.

- **Test de l'effet scavenger du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) :**

Dans cette méthode le radical libre chromogène pourpre DPPH est réduit par les antioxydants à l'hydrazine correspondante de couleur jaune pâle. Ce test est mis en œuvre par la préparation des concentrations de 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 et 15.62 µg/ml à partir des extraits hydroalcooliques de la plante et des contrôles positifs (acide ascorbique, acide gallique, catéchine) ; en suite 50 µl de chaque concentration a été ajouté à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (25 mg/l). Le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante avant de lire son absorbance à 515 nm par le spectrophotomètre (Benhammou et al., 2009). Le pourcentage d'inhibition de DPPH a été calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de DPPH} = [(\text{A}_{\text{DPPH}} - \text{A}_{\text{ex}}) / \text{A}_{\text{DPPH}}] \times 100$$

- $\text{A}_{\text{DPPH}}$  : Absorbance de solution du DPPH sans extrait.
- $\text{A}_{\text{ex}}$  : Absorbance en présence d'extrait.

Les résultats sont exprimés en IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice de 50% du radical DPPH) calculée graphiquement à travers la partie linéaire de la courbe des pourcentages inhibitions du DPPH en fonction des différentes concentrations.

- **Test de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*):**

La méthode de FRAP est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le complexe ferrique tripyridyltriazine (Fe<sup>+++</sup>-TPTZ) de couleur jaune en complexe ferreux (Fe<sup>++</sup>-TPTZ) de couleur bleue dans un milieu acide. Le réactif de FRAP est préparé par le mélange de 25 ml de tampon acétate (300 mmol, pH 3,6), 2,5 ml d'une solution de TPTZ (10 mmol/l de 2,4,6-tripyridyl-*s*-triazine dans 40 mmol/l de HCL) et 2,5 ml de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (20 mmol/l) (Benzie and Strain, 1996).

Le milieu réactionnel dans ce test contient 100 µl de l'extrait végétal, 300 µl d'eau distillée et 3 ml de réactif de FRAP fraîchement préparé. Le mélange est incubé pendant 30 min à 37°C avant de lire son absorbance à 593 nm. L'acide ascorbique, acide gallique et la catéchine ont été utilisés comme contrôles positifs. Les concentrations de Fe<sup>++</sup> dans le mélange ont été calculées graphiquement au moyen d'une courbe d'étalonnage réalisé par le FeSO<sub>4</sub> (0,2 - 2 mmol/l) (Benzie and Strain, 1996). Les résultats sont exprimés en mol de Fe<sup>++</sup>/ gramme d'extrait (Cheurfa and Allem, 2016; Thangaraj, 2015).

- **Test de blanchissement du β-carotène :**

Cette méthode est basée sur l'oxydation couplée de β-carotène et l'acide linoléique développée par Marco en 1968. Elle consiste à mesurer le blanchiment de β-carotène résultant de son oxydation par les produits de dégradation de l'acide linoléique.

Ce test débute par la préparation d'une émulsion contenant 1 ml d'une solution chloroformique de β-carotène (200 µg/ml), 20 µl d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Le chloroforme a été éliminé par évaporation sous vide. Le résidu ainsi obtenu a été repris dans 50 ml d'eau distillée chargée d'oxygène et en suite le mélange a été agité vigoureusement. Cinq millilitres de l'émulsion a été mélangé avec 200 µl de chaque extrait de la plante (2 mg/ml) et incubé à 50°C dans un bain-marie pendant 120 min. l'eau distillée a été utilisée comme contrôle négatif et des solutions de l'acide ascorbique, acide gallique et catéchine (2 mg/ml) comme contrôles positifs (Sun and Ho, 2005)

La cinétique de blanchissement de β-carotène a été suivie par spectrophotomètre en faisant la lecture de l'absorbance des émulsions à 470 nm chaque 20 min. Le pourcentage de l'activité antioxydante est calculé selon l'équation suivante (Cheurfa and Allem, 2016) :

$$AA\% = [1 - (A_0 - A_t) / (A^1_0 - A^1_t)] \times 100$$

- A<sub>0</sub> et A<sup>1</sup><sub>0</sub> : Absorbance mesurée au temps zéro d'incubation de l'extrait et de contrôle.
- A<sub>t</sub> et A<sup>1</sup><sub>t</sub> : Absorbance mesurée de l'extrait et de contrôle respectivement après incubation de 120 min.

- **Effet chélateur des ions ferreux :**

Le test de chélation des ions ferreux a été réalisé selon la méthode décrite par Chew et al. en 2009. Il s'agit de mélanger 1 ml de FeSO<sub>4</sub> (0,1 mmol/l) avec 1 ml d'extrait de plante suivi de 1 ml de ferrozine (0,25 mmol/l). L'extrait a été utilisé à 3 concentrations différentes (1.75, 2.50

et 5.00 mg/ml). Ensuite, les mélanges réactionnels ont été incubés à température ambiante pendant 10 minutes avant de prendre les mesures d'absorbance à 562 nm. En fait, la ferrozine réagit avec les ions ferreux en solution, et l'absence de réaction implique un effet chélateur des métaux important. L'acide ascorbique, la Catéchine, l'acide gallique et l'EDTA ont été utilisés comme témoins positifs. La propriété de chélation des ions ferreux des extraits a été calculée en pourcentage à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Activité chélatante \%} = [(\text{À Contrôle} - \text{À Échantillon}) / \text{Contrôle A}] \times 100$$

Où **A contrôle** et **A échantillon** sont l'absorbance du contrôle et de l'extrait, respectivement.

#### **4.2.2 Activité antibactérienne (méthode de diffusion sur milieu gélosé) :**

La méthode d'antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé permet de classer la plupart des isolats bactériens comme sensibles ou résistants à une variété d'agents antimicrobiens. Pour effectuer l'essai, des disques de papier filtre imprégnés d'une concentration spécifiée d'un agent antimicrobien sont appliqués sur la surface d'un milieu gélosé qui a été inoculé avec l'organisme d'essai. Le médicament dans le disque diffuse à travers la gélose. Lorsque la distance par rapport au disque augmente, la concentration de l'agent antimicrobien diminue de façon logarithmique, ce qui crée un gradient de médicament dans le milieu gélosé entourant chaque disque. En même temps que la diffusion du médicament, les bactéries qui ont été inoculées sur la surface et qui n'ont pas été inhibées par la concentration de l'agent antimicrobien dans la gélose continuent de se multiplier jusqu'à ce qu'une pelouse de croissance soit visible. Dans les zones où la concentration du médicament est inhibitrice, il n'y a pas de croissance, formant une zone d'inhibition autour de chaque disque (Jorgensen and Pfaller, 2015).

La mise en œuvre du test a été réalisée selon la procédure décrite par Jorgensen et Turnidge en 2015 dans le grand ouvrage « *Manual of Clinical Microbiology* » édité par l'association américaine de microbiologie.

La procédure est subdivisée en quelques étapes :

- Préparation des cultures jeunes : dans notre étude, nous avons testé la sensibilité de 4 souches bactériennes référencées, à savoir l'*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 23235), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (ATCC 43300). Les souches ont été ensemencées en stries sur une gélose nutritive et incubées à 37 °C pendant une nuit avant le jour de test afin d'avoir des cultures jeunes.

- Préparation de l'inoculum bactérien : il s'agit de choisir 4 à 5 colonies bien isolées avec une anse de platine et les transférer dans un tube de solution salée stérile (NaCl 0.9%). Ensuite, émulsionner pour que la turbidité avoisine celle du standard McFarland 0,5.
- Ensemencement : Les plaques de gélose Mueller-Hinton (milieu recommandé pour les essais de diffusion gélose aux États-Unis) doivent être inoculées dans les 15 minutes qui suivent la suspension d'inoculum. Un écouvillon stérile a été plongé dans la suspension, tourné plusieurs fois et pressé doucement sur la paroi intérieure du tube au-dessus du niveau du liquide pour enlever l'excès d'inoculum. L'écouvillon a été ensuite étalé trois fois sur toute la surface de la plaque de gélose, la plaque étant tournée d'environ 60° à chaque fois pour assurer une distribution uniforme de l'inoculum. Un dernier balayage de l'écouvillon a été effectué autour du bord de la gélose.
- Dépôt des disques : quatre disques stériles en papier Whatman N°1 de 6 mm de diamètre ont été imprégnés avec l'extrait de *T.articulata* préparé dans le DMSO aux concentrations 50, 100, 150 et 200 mg/ml respectivement (les concentrations ont été choisies après avoir fait des prétests de sensibilité). Dans les 15 minutes qui suivent l'inoculation des plaques d'Agar, les disques ont été uniformément répartis sur la surface, avec au moins 24 mm entre eux. Ils ont été placés individuellement avec des pinces stériles, puis pressés doucement sur la surface de la gélose pour assurer un contact uniforme. Les disques d'antibiotique commercialisés ont été utilisés comme contrôle positif. Ces derniers sont la Pénicilline 10 µg (P), Gentamycine 10 µg (CN), Sulfaméthoxazole 23,75 µg et Triméthoprime 1.25µg (SxT) et le Chloramphénicol 30 µg (C). En fin, un disque imprégné dans du DMSO pur a été utilisé comme contrôle négatif.
- Lecture et interprétation des résultats : Une fois que les disques sont placés sur la gélose, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 16 à 18 heures. Après une nuit d'incubation, le diamètre de chaque zone d'inhibition (diamètre du disque compris) a été mesuré en mm et noté.



## **5 Caractérisation de composés phénoliques :**

Dans cette partie de caractérisation chimique, on opte à des tests quantitatifs par le dosage de certaines classes de composés phénoliques et aussi qualitatifs par une analyse chromatographique sur couche mince.

### **5.1 Dosage des composés phénoliques :**

L'estimation de la teneur en composé phénolique de nos extraits hydroalcoolique a été réalisée par des techniques spectrophotométriques.

#### **5.1.1 Dosage des phénols totaux :**

Le dosage des phénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 par Singleton et Rossi. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum comprise entre 725 et 770 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux ( Boizot et Charpentier, 2006).

- **Mise en œuvre**

Un volume de 200  $\mu$ l des extraits a été introduit dans des tubes à essai, le mélange de 1000  $\mu$ l du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 800  $\mu$ l de carbonate de sodium (75g/l) a été additionné. Les tubes ont été agités et conservés durant 30 minutes à la température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc qui ne contient pas l'extrait.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique (0- 200 $\mu$ g/ml) comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait. (mg eq AG/g).

### **5.1.2 Dosage des flavonoïdes totaux :**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par Zhishen et al, (1999). Le principe de base de cette méthode colorimétrique est que le chlorure d'aluminium forme des complexes acides stables soit avec le carbonyle (C=O) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. En outre, il forme également des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes, ce qui entraîne la formation d'une couleur rose, et elle est mesurée à 510 nm (Thangaraj, 2015).

- **Mise en œuvre :**

500 µl des extraits ont été mélangés avec 1500 µl d'eau distillée, suivis de 150 µl de nitrite de sodium à 5%. Après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium à 10% a été rajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium à 4% ont été additionnés. Immédiatement, le mélange a été complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance de la solution de couleur rosâtre a été déterminée à 510 nm contre un blanc (Zhishen et al., 1999).

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine (0- 200µg/ml) comme contrôle positif.

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de plante étudiée est exprimée en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (mg eq C/g).

### **5.1.3 Dosage des flavonols :**

L'échantillon contenant du flavonol donne une couleur verte lorsqu'il réagit avec le chlorure d'aluminium et l'acétate de sodium, et les échantillons sont lus à 440 nm dans le spectrophotomètre UV-Vis (Thangaraj, 2015).

- **Mise en œuvre :**

La teneur en flavonols a été déterminée par la méthode reportée par Miliauskas et al. en 2004. Il s'agit de mélanger 2 ml des extraits avec 2 ml de trichlorure d'aluminium (20g/l) et 6 ml d'acétate de sodium (50g/l). Le mélange a été incubé pendant 2.5h à 20 °C avant de lire sans absorbance à 440nm (Miliauskas et al., 2004).

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la myricétine (0- 200µg/ml) comme contrôle positif.

Les résultats de la plante étudiée sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de myricétine par gramme d'extrait (mg eq M/g).

#### **5.1.4 Dosage des tanins condensés :**

Les tanins condensés ont été déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (Price et al, 1978). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés dans un milieu acide, pour produire un complexe coloré mesuré à 550 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère.

- **Mise en œuvre :**

Un volume de 50 µl des extraits bruts a été ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ont été additionnés. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance a été mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Price et al., 1978).

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine (0- 200µg/ml) comme contrôle positif.

Les résultats de la plante étudiée sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait. (mg eq C/g).

#### **5.1.5 Dosage des tanins hydrolysables :**

Le dosage des tanins hydrolysables est basé sur la réaction de ces derniers avec les chlorures ferriques en donnant des complexes de couleur brune.

- **Mise en œuvre :**

500 µl des extraits ont été mélangés avec 3.5 ml d'une solution des chlorures ferriques (0.01M de FeCl<sub>3</sub> dans 0.001 M de HCl). L'absorbance des mélanges a été mesurée immédiatement à 660 nm (Mole and Waterman, 1987).

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de l'acide tannique (0- 200µg/ml) comme contrôle positif.

Les résultats de la plante étudiée sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait (mg eq C/g).

## **5.2 Analyse chromatographique :**

Les analyses qualitatives des composés phénoliques ont été réalisées par chromatographie sur couche mince (CCM).

### **5.2.1 Préparation des extraits :**

Dans les analyses chromatographiques, il est souvent recommandé d'utiliser des extraits partiellement purifiés afin de faciliter la détection des composés. Les composés phénoliques contenus dans les extraits hydroalcooliques de *T.articulata* ont été extraits par affrontement liquide-liquide selon la procédure décrite par Macheix et al. en 2005 dans son ouvrage « composés phénoliques des végétaux » et aussi Bruneton, en 2016 dans la 5<sup>ème</sup> édition de l'ouvrage « pharmacognosie ». Cinq grammes d'extrait sec de *T.articulata* a été pris dans 100 ml d'eau distillée et versée dans une ampoule à décanter. Cette phase a été rincée trois fois avec 20 ml d'éther de pétrole afin d'éliminer la chlorophylle et quelques composés lipophiles. La phase aqueuse ainsi obtenue a été encore rincée trois avec 20 ml d'acétate d'éthyle. Selon Macheix et al., cette dernière fraction renferme 80% des composés phénolique de l'extrait brut de la plante. Les fractions d'acétate d'éthyle ont été concentrées et destinées aux analyses chromatographiques.

### **5.2.2 Conditions de CCM :**

- La phase stationnaire est une couche mince de gel de silice 60 avec un indicateur de fluorescence F254 fixée sur des plaques en aluminium (20x20 cm). Les plaques sont produites par la compagnie allemande Merck et elles sont commercialement disponibles.
- La phase mobile a été déterminée après avoir testé plusieurs combinaisons de solvants. Elle est composée de chloroforme/acétate d'éthyle/acide acétique aux ratios de 9/8/3 respectivement.

- Les plaques ont été coupées en morceaux de 10x5 cm. Un trait a été tracé légèrement au crayon à 1 cm du bord inférieur pour servir comme une ligne de départ, et un deuxième trait a été tracé à 1 cm du bord supérieur, mais cette fois-ci en grattant la silice afin de bloquer l'avancement du solvant dans la phase d'élution. À l'aide des capillaires, les échantillons ont été déposés sur le trait inférieur sous forme de spots circulaires espacés d'environ 0.5 cm. Les standards phénoliques (catéchine, quercétine, myricétine et acide tannique) ont été déposés sur les mêmes plaques avec les extraits *de T.articulata*.
- L'élution a été effectuée dans des béchers propres après avoir ajusté la phase mobile au fond à moins d'un cm de hauteur. Les béchers ont été recouverts après le dépôt des plaques à l'intérieur pour permettre la saturation de la cuve. Lorsque le solvant atteint les traits supérieurs, les plaques ont été retirées et séchées avec un séchoir.
- La révélation des plaques a été effectuée sous lampe UV 254 nm. La présence des molécules cache la fluorescence de la silice et ces dernières apparaissent comme des spots noirs sous lumière UV.

### **5.2.3 Expression des résultats :**

À l'aide d'une règle graduée, la hauteur du front de solvant a été mesurée. Les molécules séparées et visibles sous forme de taches ont été cernés à l'aide d'un crayon, et à partir du centre de chaque tâche, la hauteur de migration a été mesurée. Ces mesures sont notées pour servir à calculer les rapports frontaux ou Rf. Le Rf est caractéristique d'un produit dans un éluant donné et pour une phase stationnaire donnée.

$$\text{Rf} = \text{Hauteur de migration} / \text{hauteur de front de solvant}$$

## **6 Analyse statistique :**

Tous les tests biologiques et chimiques ont été effectués avec trois répétitions au moins, ce qui implique que les résultats seront présentés en moyenne  $\pm$  écart type. La comparaison des moyennes a été réalisée par l'analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA) suivi d'une comparaison multiple par le test de Tukey. Les différences ont été considérées significatives à partir d'une valeur de P inférieur ou égale à 0,05. Les analyses statistiques ont été effectuées avec logiciel Minitab 17.

Toutes les représentations graphiques (courbes, diagrammes) ont été générées avec le Microsoft Excel 2016.

## **7 Conclusion :**

Le choix des méthodes expérimentales pour mener à bien notre étude a été basé en premier lieu sur la crédibilité de leurs sources bibliographiques. Ces dernières sont constituées principalement par des ouvrages scientifiques, des articles de revues savantes et des guides et des manuels de grandes institutions internationales de recherches expérimentales. Les protocoles ont été représentés en intégralité dans ce chapitre avec quelques illustrations prises par nous-mêmes lors des expériences.

# *Chapitre IV*

---

---

## *Résultats et discussion*

---

---

## 1 Introduction :

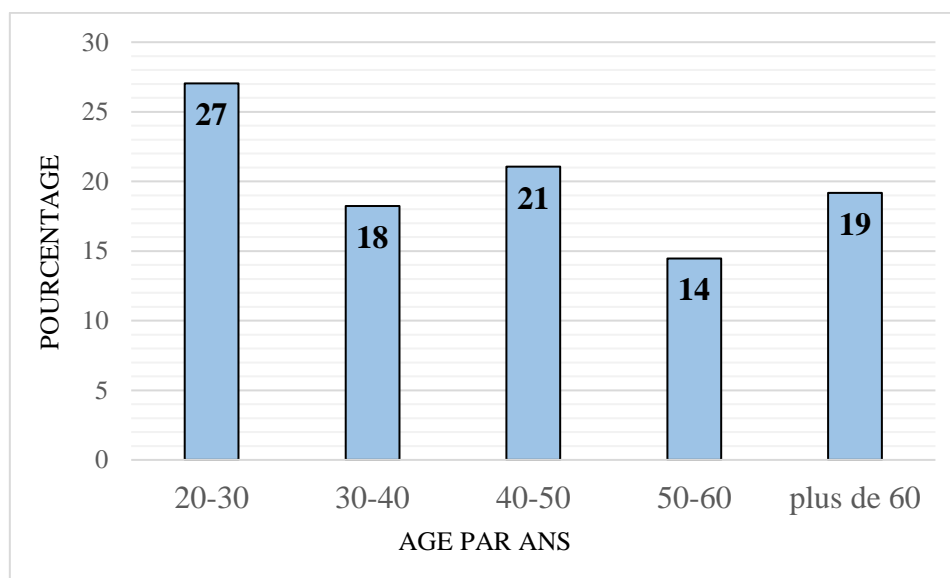
Ce chapitre est consacré à la présentation des différents résultats expérimentaux et les conversés avec la problématique et le cadre théorique. L'ordre de présentation des résultats suit celui du chapitre précédent (matériel et méthodes).

## 2 Étude ethnobotanique :

Dans les résultats de l'étude ethnobotanique, on décrit, en premier lieu, l'échantillon de la population interrogé, ensuite les réponses de chaque question sont exploitées à part.

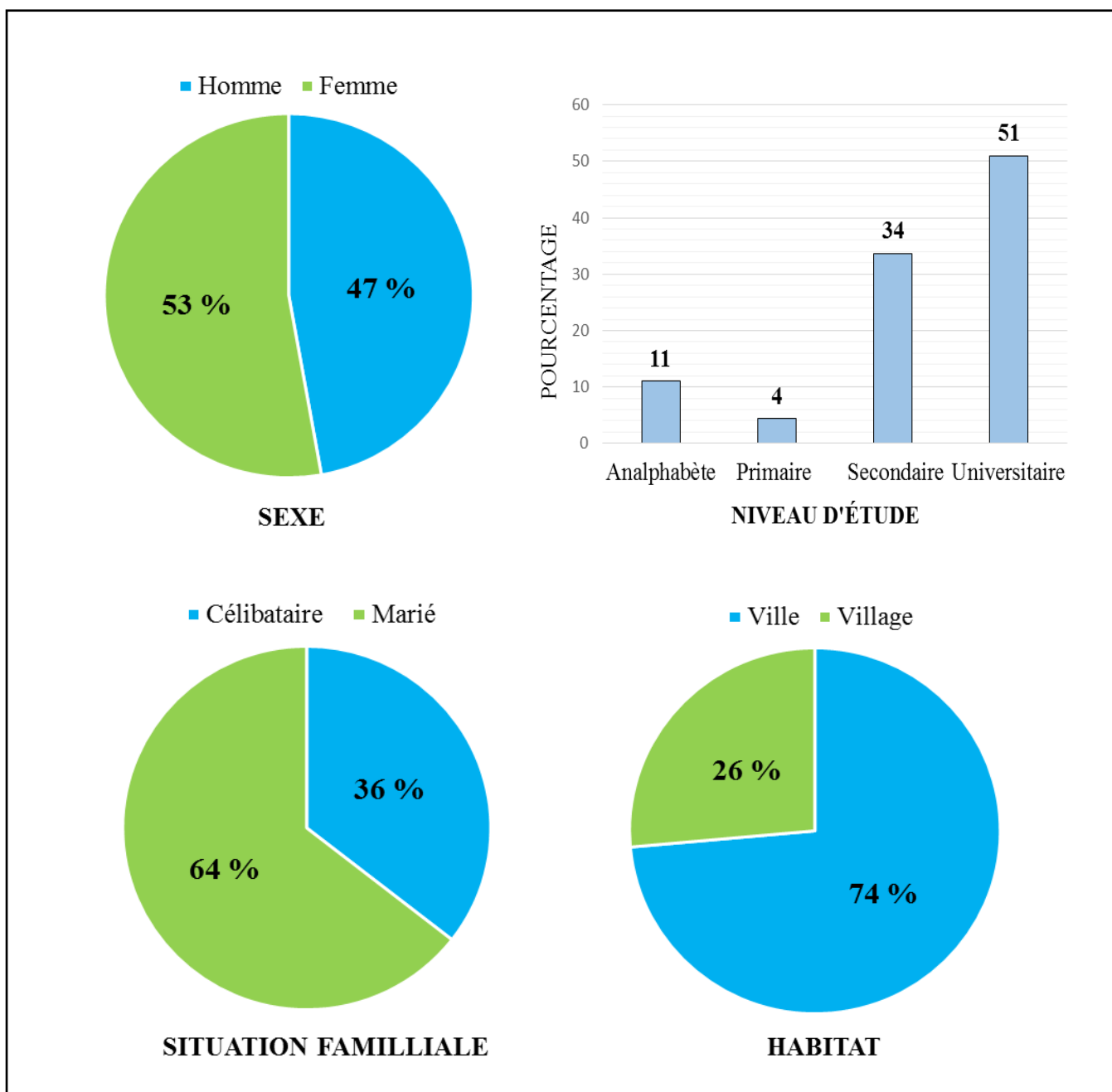
### 2.1 Description de l'échantillon de la population interrogé :

Notre enquête ethnobotanique sur le *T.articulata* a duré deux mois, durant lesquels on s'est approché des gens dans les endroits publics, hôpitaux, universités, boutiques, magasins, chez les herboristes...etc. La famille et nos proches font aussi partie des sujets interrogés. Ces personnes ont constitué un échantillon de 318 individus de différentes tranches d'âges (**Fig 15**) ; leurs sexes, niveaux d'études, situations familiales et habitats sont représentés dans la (**Fig 16**).



**Figure 15:** Tranches d'âges des informateurs.





**Figure 16 :** Quelques données sociales de l'échantillon de population interrogée.

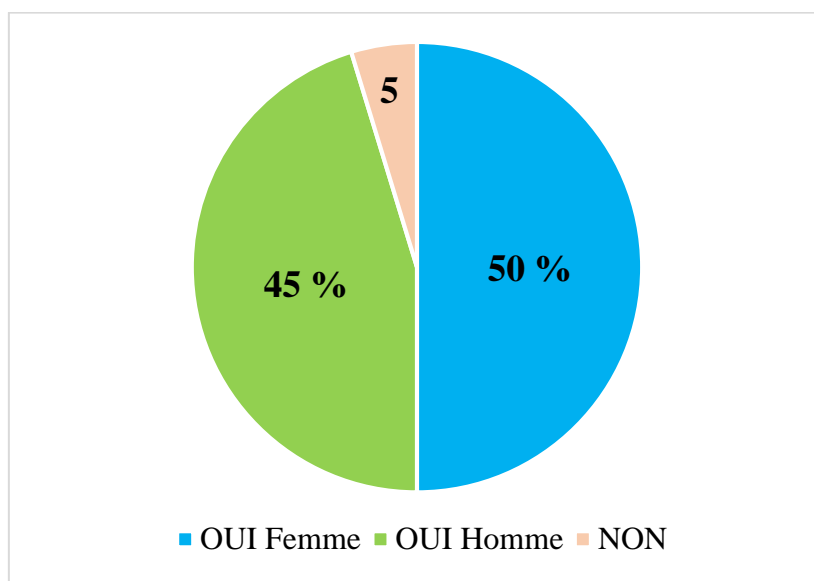
L'échantillon de la population interrogé est équilibré en termes d'âge et sexe. Le niveau d'étude des informateurs est considérable, dont la moitié de l'échantillon sont des universitaires et le un tiers ont un niveau secondaire. Les gens ayant un niveau primaire et les analphabètes ne représentent que 15 % de l'échantillon dans l'ensemble. 74% des sujets interrogés habitent dans la ville de Sidi Bel Abbes et le reste habitent dans les villages visités. En ce qui concerne la situation familiale de nos informateurs ; 64 % sont des mariés et le reste sont des célibataires.

## 2.2 Exploitation des réponses du questionnaire :

Les questions étaient posées aux informateurs d'une manière simple, précise et systématique, en tenant compte de leurs niveaux d'étude et en les donnant aussi la liberté de s'exprimer librement. Les réponses de nos informateurs sont les suivantes :

- **Connaissez-vous « Arrar, العرعار » ?**

Notre premier objectif était de savoir si le nom vernaculaire « Arrar, العرعار » dit quelque chose aux gens. Les réponses de la quasi-totalité de ces derniers étaient positives (**Fig 17**).



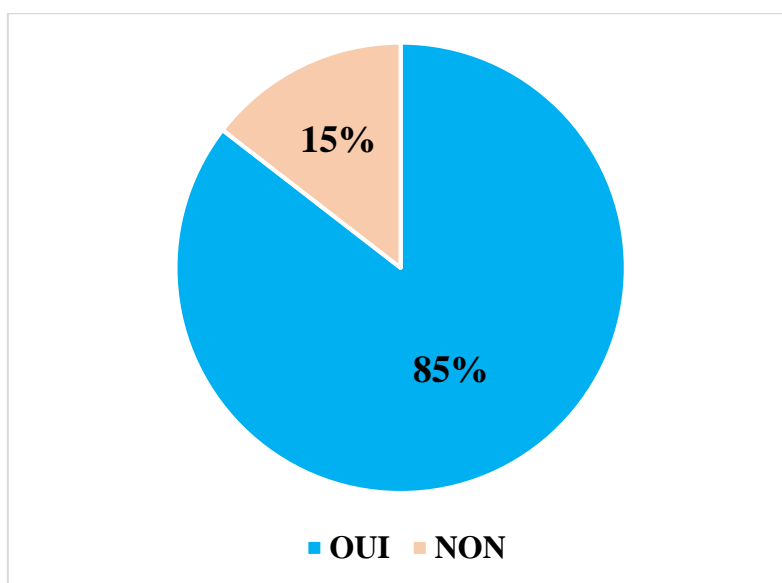
**Figure 17:** Les informateurs qui connaissent « Arrar, العرعار ».

Le résultat montre que ce nom vernaculaire est connu chez les deux sexes, contrairement à certaines plantes qui sont connues beaucoup plus par les femmes. Cela donne déjà l'impression qu'«Arrar, العرعار » a un statut important au sein de la population. De plus, la plante est disponible chez tous les herboristes visités et il existe même des sous-produits à base de cette plante.

- **Connaissez-vous le Thuya de berberie (العرعار البرهوش) ?**

Rebahi en 2015, dans son répertoire des noms des plantes du Maghreb suggère que le *Tetraclinis articulata* (Vahl) et le *Juniperus phoenicea* L. sont les deux appelés «Arrar, العرعار» dont le genévrier est le vrai porteur du nom et le Thuya a eu cette appellation par confusion. Notre auteur affirme aussi que dans les régions où les deux espèces existent, les gens utilisent des adjectives pour les différencier : le *Juniperus phoenicea* L. est appelé (عرعار الصحراء) et le *Tetraclinis articulata* (Vahl) est appelé (عرعار البرهوش). Ces appellations sont utilisées vraisemblablement en tenant compte des préférences écologiques des plantes. Afin de

déterminer le taux de confusion, nous avons demandé à nos informateurs s'ils distinguent «العرعار البرهوش» des autres espèces ayant le même nom vernaculaire «Arrar, العرعار». Le résultat est illustré dans la (Fig 18).



**Figure 18 :** Les taux d'informateurs qui connaissent «العرعار البرهوش».

Les réponses révèlent que 85% des informateurs connaissent «العرعار البرهوش», certains ont même nous cité les caractéristiques botaniques de l'arbre. Les informateurs qui ont répondu négativement se divisent en deux groupes ; ceux qui ne savent pas qu'il existe plusieurs espèces ayant le même nom vernaculaire, et d'autres qui ne font pas les différences entre eux.

- **Dans quel domaine la plante est utilisée ?**

Les réponses des informateurs sur le domaine d'utilisation du *T.articulata* sont présentées dans la figure 19. La grande proportion de nos enquêtés affirme qu'« Arrar, العرعار » est utilisé dans la médecine populaire.

On remarque ainsi qu'il est utilisé en deuxième lieu dans le domaine de cosmétique. Les réponses de nos informateurs sont en accord avec les données bibliographiques qui affirment que le mélange des feuilles de Thuya et le Henné (*Lawsonia inermis*) est efficace pour fortifier les cheveux et les rendre lisses (Centre for Mediterranean Cooperation, 2005).

D'après nos informateurs, la plante n'est pas très utilisée en industrie ou bien dans autres secteurs. Par contre au Maroc, le bois de *T.articulata* est très apprécié en ébénisterie et la fabrication de certains produits artisanale (Fig 20) (Bellakhdar et al., 1991; Seigue, 1985)

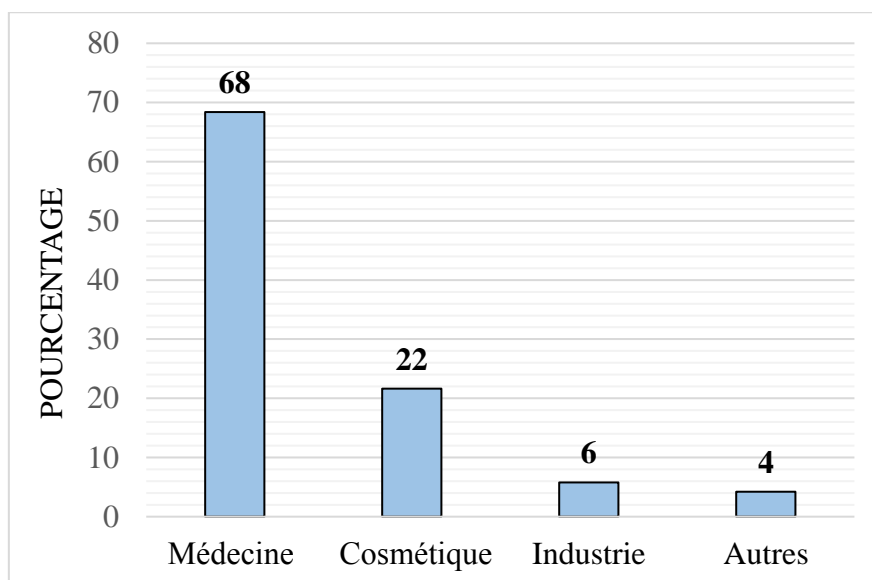


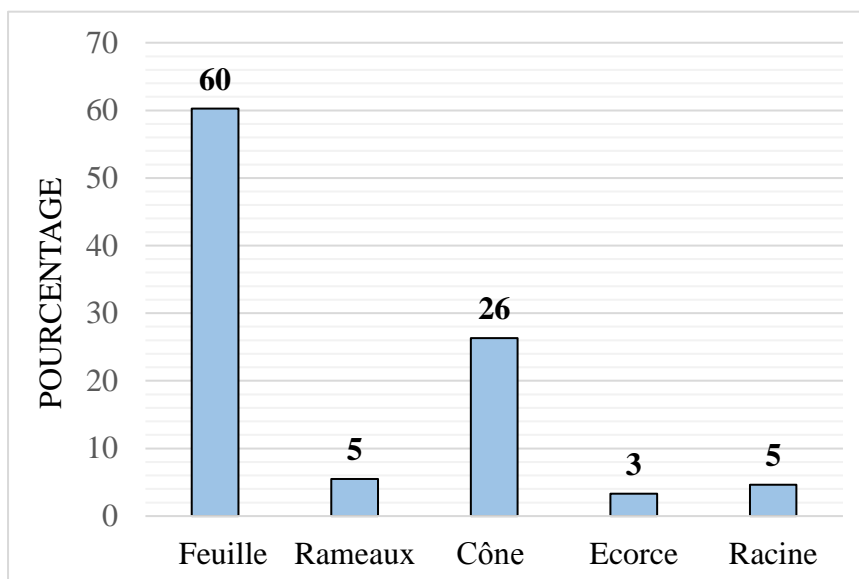
Figure 19 : domaine d'utilisation d'«Arrar, العرعار».



Figure 20 : Coffre fabriqué avec le bois du *T.articulata*

- **Quelles sont les parties utilisées en médecine ?**

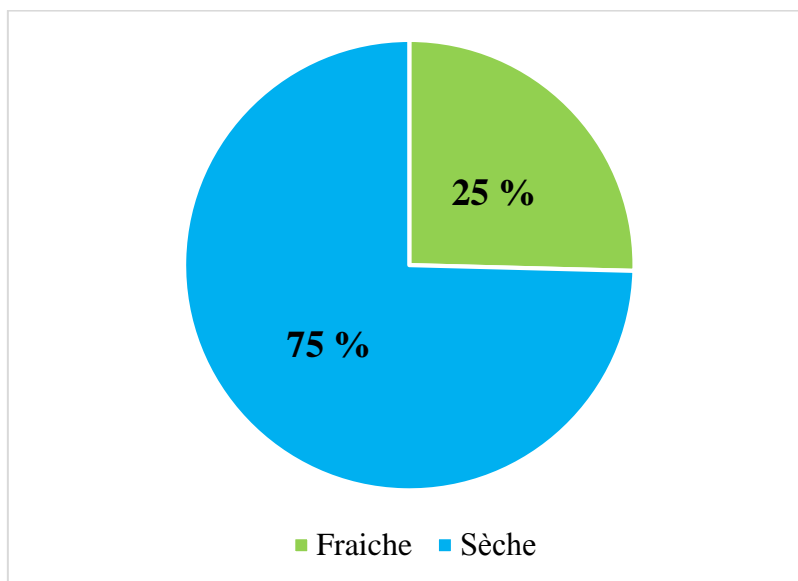
Selon nos informateurs, les feuilles sont la partie la plus utilisée en médecine suivie par les cônes (Fig 21). Ces informations sont similaires à celles obtenues par d'autres ethnobotanistes au Maroc (Hassani et al., 2013; Tahraoui et al., 2007). Les rameaux sont aussi utilisés, mais ils sont souvent en mélange avec les feuilles et c'est la raison pour laquelle ils ne sont pas cités par les individus interrogés. Le nombre très réduit des informateurs qui ont cité l'utilisation des racines et des écorces peuvent avoir des informations erronées du fait qu'ils n'ont pas expliqué comment ces parties sont utilisées, et aussi, il n'existe aucun rapport sur l'utilisation de ces parties dans la bibliographie.



**Figure 21** : les parties des arbres utilisées en médecine.

- **En quel état sont-elles utilisées ?**

Les parties des plantes sont utilisées beaucoup plus, selon nos informateurs, sous forme sèche (**Fig 22**).

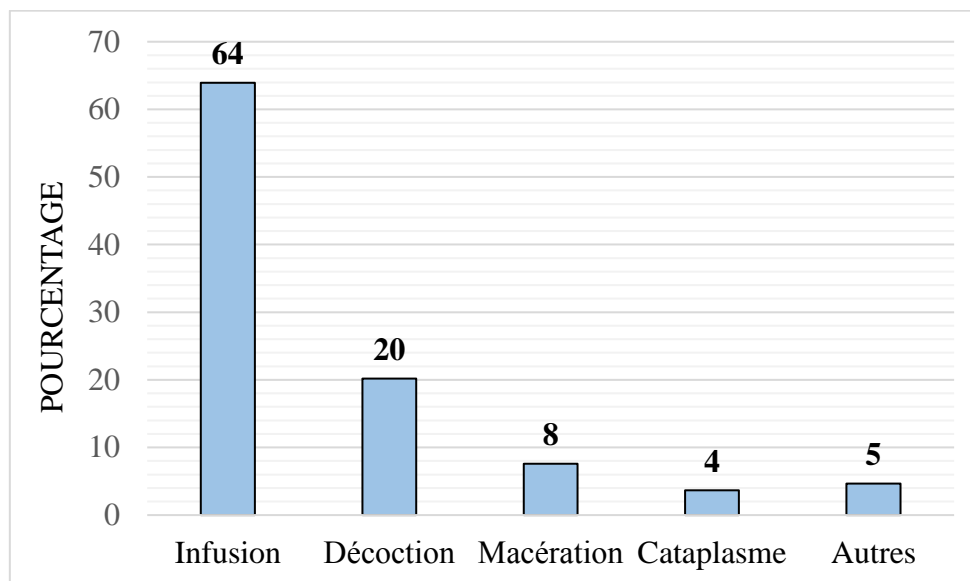


**Figure 22** : l'état d'utilisation des parties de *T.articulata*.

L'emploi de la matière sèche est très commun pour toutes les plantes médicinales, non seulement parce que les végétaux se déshydratent en quelque jours après leurs récoltes, mais aussi parce que le séchage permet la conservation des plantes pendant une longue durée (Barnes et al., 2007).

• Quel est le mode de préparation de la plante ?

La figure n°23 montre les modes de préparation d'«Arrar, العرعار».

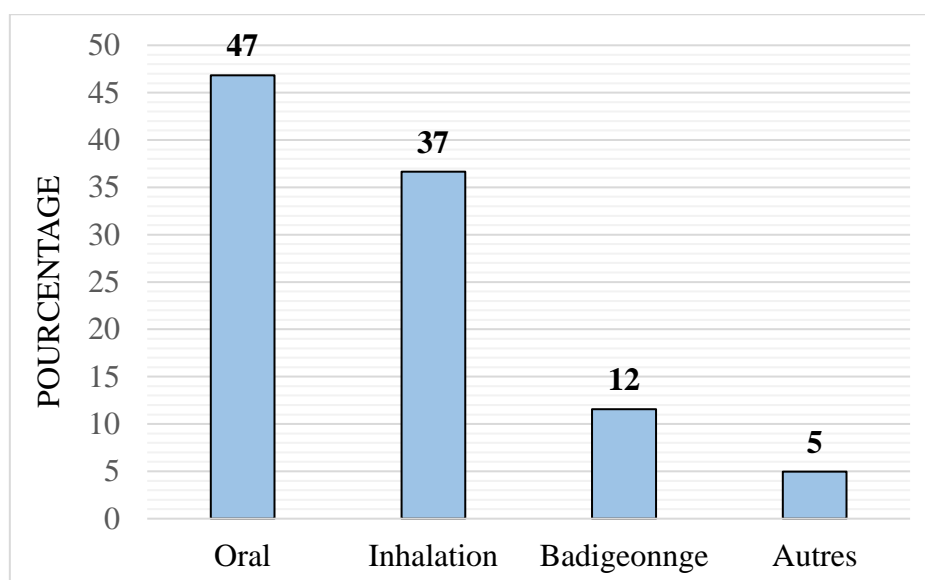


**Figure 23 :** modes de préparation d'« Arrar, العرعار ».

L'infusion et la décoction sont les méthodes d'extraction les plus utilisées pour la préparation de Thuya du Maghreb. Certaines études ethnobotaniques réalisées au Maroc et dont notre arbre figure parmi les plantes utilisées indiquent que les principaux modes de préparation de cette cupressacée sont l'infusion et la décoction (Benkhighe et al., 2016; Lahsissene and Kahouadji, 2010). De plus, ces modes de préparation sont faciles et peu coûteux ce qui les rend très communes.

**Quel est le mode d'administration de la plante ?**

Les parties utilisées de *T.articulata* sont administrées principalement par voie orale ou bien par inhalation des vapeurs (**Figure n°24**).



**Figure 24:** modes d'administration d'« Arrar, العرعار ».

La voie orale permet aux malades de consommer les composés fixes de la plante et l'inhalation permet l'utilisation de la fraction volatile qui passe directement aux poumons. Selon nos informateurs. Le badigeonnage est utilisé notamment pour administrer les huiles de la plante. Dans certains cas, la poudre des feuilles est utilisée directement sur les plaies, notamment celles produites par la circoncision, pour son effet hémostatique.

- **La plante est utilisée dans quels types d'affections ?**

Dans cette section, on calcule la valeur d'utilisation (UV) afin d'estimer l'importance de notre plante au sein de la population, et on calcule ainsi le niveau de fidélité (FL) pour déterminer quelles sont les principales affections dont le *T.articulata* est utilisé pour les traiter. En fin, on présente les préparations des remèdes préconisés par nos informateurs clés.

**Use value (UV) :**

On rappelle que la valeur d'utilisation est le rapport de la somme des rapports d'utilisation sur le nombre total des informateurs. Le *T.articulata* (Vahl) présente un indice UV de **2.13**, ce qui signifie statistiquement qu'au moins chaque informateur a cité deux rapports d'utilisation. Ce taux de connaissance, relativement important, chez la population montre que l'arbre occupe une place primordiale dans la médecine populaire de la région. D'autres parts (Amine et al., 2015; Lahsissene and Kahouadji, 2010; Ziyat et al., 1997) indiquent que le Thuya a aussi une utilisation fréquente au Maroc, ce qui montre que les peuples partagent, en quelque sorte, les mêmes traditions médicales.

**Fidelity level (FL) :**

Les niveaux de fidélités liés à l'utilisation de *T.articulata* dans chaque catégorie d'affection sont présentés dans le **Tableau 4**.

**Tableau 4:** FLs de *Tetraclinis articulata* (Vahl).

Type d'affections	FL (%)
Respiratoires	30.92
Gastriques	21.89
Dermatologiques	13.17
Génito-urinaires	8.28
Ostéo-articulaires	7.69
Neurologiques	5.47
Cardio-vasculaires	5.47
Métaboliques	4.14
Glandes annexes	2.96

Les résultats révèlent que le *T.articulata* est utilisé dans le traitement de plusieurs types d'affections. Les maladies respiratoires occupent le premier rang, et se représentent principalement par la toux saisonnière. Selon nos enquêtés les cônes et les feuilles de l'arbre ont un effet sédatif et permis de soulager notamment la toux nocturne. En deuxième rang viennent les maladies gastriques, et elles sont représentées principalement par les troubles de digestions suite à des repas lourds et aussi l'acidité d'estomac. Les eczémas sont les principales affections dermatologiques traitées par les feuilles de l'arbre ainsi que certaines maladies fongiques qui affectent la peau. Selon nos informateurs, certaines maladies génito-urinaires et ostéo-articulaires sont aussi traitées avec cette espèce. Au Maroc, le Thuya est aussi bien utilisé dans la pharmacopée traditionnelle, dans le traitement des maladies cardio-vasculaires et métaboliques tel que le diabète, ce qui n'est pas le cas dans notre région (Bellakhdar, 1997; Bourkhiss et al., 2016). D'après nos informateurs, les parties de l'arbre sont utilisées avec d'autres plantes pour préparer de nombreux remèdes de consistance solide ( عقدة ) pour traiter différents types de maladies.



### **Rapports des informateurs clés :**

Nos informateurs clés (spécialistes, herboristes, personne âgée...) ont précisé l'utilisation de la plante en donnant certaines préparations. Les indications les plus fréquentes sont reportées ci-dessous :

« Faire cuire les cônes dans l'eau avec du sucre jusqu'à obtenir un sirop, et prendre une tasse chaque soir pour soulager la toux. »

« La consommation du décocté des feuilles cible principalement de calmer et apaiser les maux de tête et les troubles nerveux, et les Insomnies. »

« La poudre des feuilles agit efficacement sur les saignements, et freine les hémorragies »

« La consommation du décoté des feuilles soulage les douleurs des rhumatismes. »

« Les feuilles du thuya sont très utilisées comme un remède contre les maladies respiratoires (rhume, grippe, bronchites) »

« Le thuya est utilisé comme un désodorisant et désinfectant »

« Le mélange des feuilles en poudre avec du henné est appliqué pour traiter les maladies dermatologiques (cas d'eczéma) »

« Infuser les feuilles sèches et les prendre comme une tisane est efficace contre les douleurs de colon. »

« Sur la peau, les extraits du thuya agissent comme cicatrisant ».

« Certaines femmes témoignent qu'elles ont eu des résultats efficaces dans le soulagement de certains troubles de la sphère uro-génitale en utilisant le thuya »

« Recommandé pour soulager les muscles courbatus. »

« Infusion des feuilles avec la peau de grenade diminue l'acidité de l'estomac »

### **Est-ce que la plante à des effets secondaires ?**

Un grand nombre de personnes suggèrent que la plante n'a aucun effet secondaire ou indésirable (**Fig 25**). Nos informateurs clés ont indiqué certaines précautions d'emploi. La grossesse et l'allaitement sont les principales contre-indications de Thuya du Maghreb, car il est abortif.

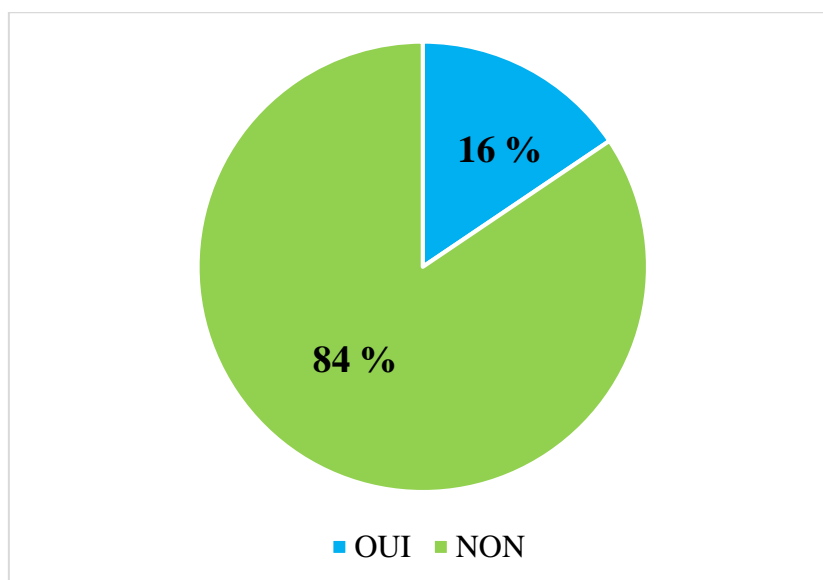


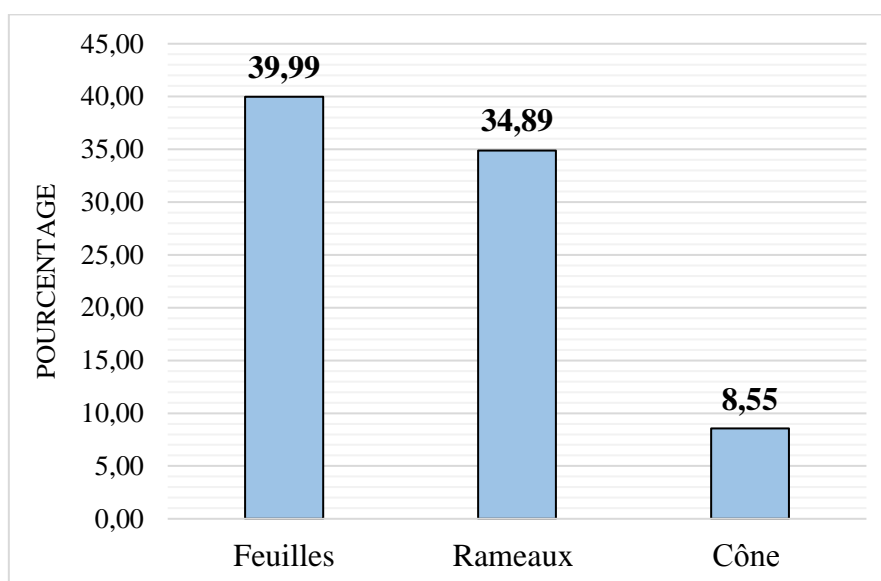
Figure 25: Effet secondaire d'« Arrar, العرعار ».

- **Que pensez-vous de l'efficacité de la plante ?**

Dans cette section on calcule la valeur d'importance (IV). Cet indice est compris entre 0 et 1 et il donne une idée sur l'efficacité de la plante étudiée selon les expériences des interrogés. La valeur d'IV obtenue est de 0.74, ce qui signifie que les trois tiers de la population pensent que notre plante est efficace dans le traitement de certains types de pathologie.

### 3 Teneur en eau et rendement d'extraction :

La teneur en eau des organes de *T.articulata* est calculée est présentée dans les diagrammes ci-dessous (Fig 26) :



**Figure 26:** Teneur en eau des organes de *T.articulata*

Au regard des résultats obtenus, il ressort de cela que les feuilles et les rameaux sont constitués de plus d'un tiers d'eau. Par contre, l'eau ne représente que 8.55 % du poids global des cônes. Ces dernières ont été récoltées pendant la saison de dissémination des graines ; durant cette dernière, les cônes se lignifient pour favoriser l'ouverture des écailles et la libération des graines; ce qui explique la faible teneur en eau dans cet organe. Les feuilles et les rameaux renferment presque la même quantité d'eau, et cela est dû à la morphologie de l'appareil végétatif de la plante, notamment la surface foliaire réduite ce qui n'est pas le cas chez beaucoup d'angiospermes dont les feuilles contiennent plus d'eau que les rameaux.

Les rendements de l'extraction obtenus par la macération des organes dans l'éthanol 80% sont illustrés dans l'histogramme ci-après (Fig 27). Le meilleur rendement obtenu est celui des feuilles, suivi par les rameaux et enfin les cônes. On pense que le rendement important enregistré au niveau des feuilles est dû à la nature des tissus qui les forment et qui facilitent la pénétration et le contact des solvants avec les cellules par rapport aux autres organes qui sont riches en tissus ligneux de soutiens. Il est souvent difficile de comparer ce genre de résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée.

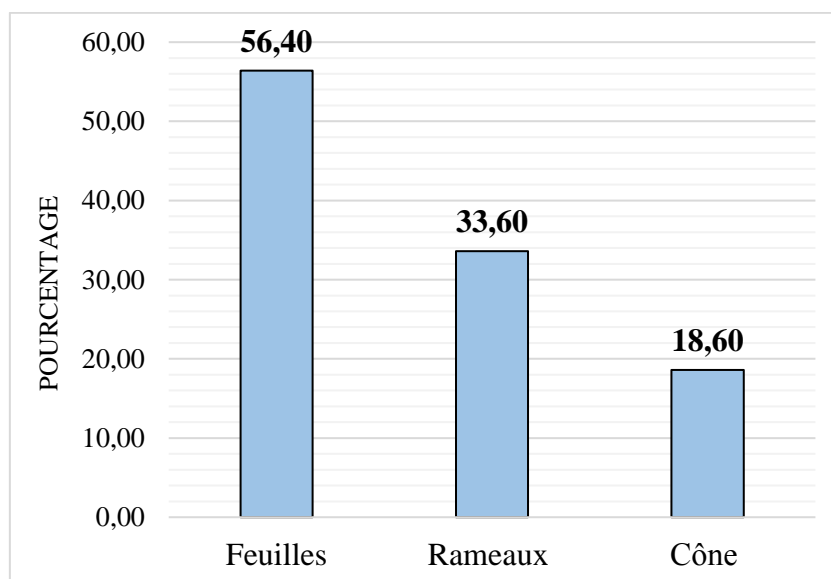


Figure 27 : Rendement d'extraction par solvant (Éthanol 80%).

#### 4 Activités biologiques :

##### 4.1 Tests biologiques In vivo :

##### 4.1.1 Étude de la toxicité aigüe :

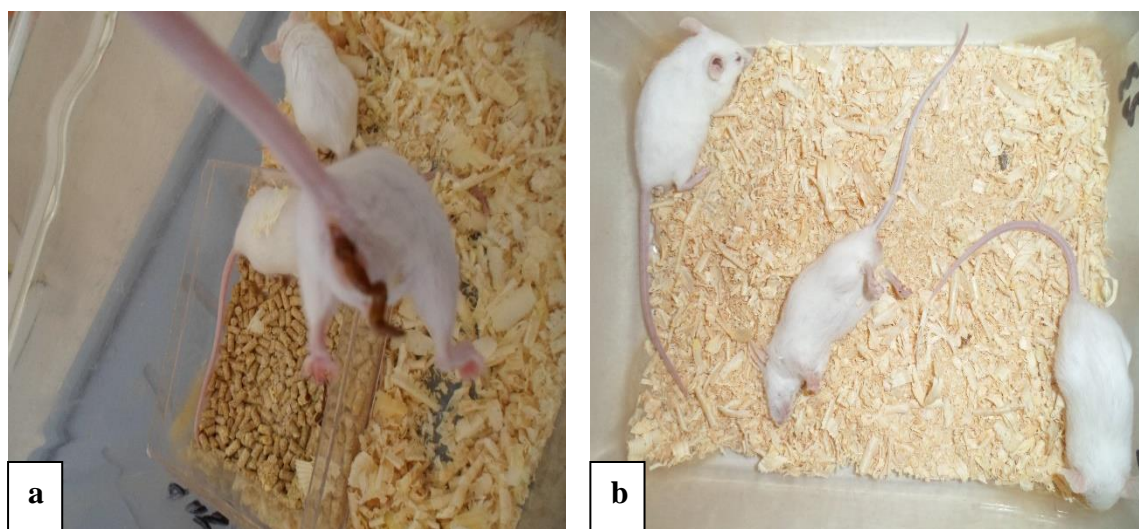
Les résultats de la première étape du test de Lorke, qui consiste à déterminer l'étendue approximative de la toxicité par l'administration des doses 10 mg/kg, 100 mg/kg et 1000 mg/kg, sont présentés dans le tableau ci-après.

Tableau 5: Nombre de mortalité en fonction des doses des extraits de *T.articulata*.

Dose (mg/kg)	Étape 1		
	10	100	1000
<b>Nombre de mortalité après 24 h</b>			
Feuilles	0/3	0/3	1/3
Rameaux	0/3	0/3	1/3
Cônes	0/3	0/3	0/3

L'administration IP des extraits de *T.articulata* aux doses 10 et 100 mg/kg n'a provoqué ni un effet apparent sur le comportement des animaux ni la mort de ces derniers après 24 h, ce qui signifie que ces doses ne sont vraisemblablement pas toxiques pour les animaux.

En revanche, l'administration de la dose 1000 mg/kg a induit un changement du comportement et aussi l'apparition de quelques signes de toxicité. Ces derniers ont débuté après environ 15 min de l'injection. La première constatation était l'étirement des pattes postérieures et contorsions abdominales ; un comportement qui est généralement observé suite à l'injection IP des produits irritants. Ensuite, la mobilité des animaux a diminué progressivement jusqu'à un point où ils sont restés presque figés pendant une longue durée de test (environ 18h). Cette immobilité a été accompagnée par un abaissement du rythme cardiaque. De plus, les animaux ont perdu leurs appétits vis-à-vis la nourriture et ils ont eu une constipation qui s'est traduite par des excréments très secs et de forme inhabituelle (**Fig 28 a**). Dans les lots traités par les feuilles et les rameaux, un animal sur trois a eu un paralysie des membres postérieurs et finis par mourir après environ 22h (**Fig 28 b**). Nous n'avons enregistré aucune mortalité dans le lot traité par les cônes. Les survivants ont commencé à reprendre progressivement leurs comportements normaux et tous les signes ont disparu à partir de 48h.



**Figure 28** : Quelques signes de toxicité.

A l'issu de la première phase du test, nous avons pu déterminer les doses à administrer dans la seconde étape grâce au tableau établi par Lorke (*Tableau 3, chapitre matériel et méthodes*). Les résultats de la seconde étape sont présentés dans le tableau ci-après.

**Tableau 6** : Résultats de la deuxième étape du test de Lork

		Étape 2				
Dose (mg/kg)	600	1000	1600	2900		
Nombre de mortalité après 24 h					DL <sub>50</sub> (mg/kg)	
Feuilles	0/1	<u>0/1</u>	<u>1/1</u>	1/1	1264.91	
Rameaux	0/1	<u>0/1</u>	<u>1/1</u>	1/1	1264.91	
Dose (mg/kg)	/	1600	2900	5000	/	
Nombre de mortalité après 24 h						
Cônes	/	<u>0/1</u>	<u>1/1</u>	1/1	2154.07	

Les résultats de la deuxième étape sont similaires pour les feuilles et les rameaux, ce qui explique l'obtention de la même valeur de DL<sub>50</sub> (1264.91 mg/kg) résultante du calcul de la moyenne géométrique entre la dose 1000 et 1600 mg/kg. Le test de toxicité a révélé ainsi que les cônes sont moins toxiques que les autres organes avec une DL<sub>50</sub> de 2154.07 mg/kg. Selon l'échelle de toxicité établie par Hodge et Sterner, les DL<sub>50</sub> de nos extraits sont classées au niveau quatre, ce que correspond à des substances faiblement toxiques. On se basant sur les données de la veille scientifique (*chapitre 2*), il n'existe aucun rapport scientifique sur la toxicité des extraits de *T.articulata* dans la bibliographie. (El Jemli et al., 2017b) a étudié la toxicité aigüe de l'huile essentielle des feuilles de l'arbre, et elle suggère que cette huile n'est pratiquement pas toxique avec une DL<sub>50</sub> supérieure à 5000 mg/kg.

D'autre part, l'administration de la dose 600 mg/kg dans la seconde étape du test a induit une apparition des mêmes signes de toxicité, mais avec une faible sévérité. Ce constat nous a conduit à l'utilisation de la dose 300 mg/kg comme une dose curative maximale dans les tests d'activités biologiques grâce à l'innocuité qu'elle présente.

#### 4.1.2 Activité antiinflammatoire :

Lors de l'étude de l'effet anti-inflammatoire des extraits de *T.articulata*, les différences de diamètres entre la patte saine et la patte enflammée ont été calculées. Les valeurs obtenues, qui représentent les volumes d'œdèmes, sont reportées dans le **tableau 7**.

**Tableau 7:** Effet des traitements sur l'évolution du diamètre (mm) de l'œdème plantaire chez les souris.

	Dose (mg/kg)	1 heure	2 heures	3 heures	4 heures	5 heures
<b>Témoin</b>	<b>10 ml/kg</b>	0,910 ±0,050	0,893 ±0,038	0,915 ±0,029	0,923 ±0,025	0,953 ±0,061
<b>Diclofénac</b>	<b>10</b>	0,524 ±0,048**	0,362 ±0,048**	0,346 ±0,079**	0,456 ±0,033**	0,490 ±0,024**
<b>Feuilles</b>	<b>100</b>	0,670 ±0,091**	0,348 ±0,054**	0,452 ±0,083**	0,498 ±0,058**	0,486 ±0,038**
	<b>200</b>	0,484 ±0,047**	0,332 ±0,036**	0,392 ±0,067**	0,436 ±0,079**	0,472 ±0,054**
	<b>300</b>	0,296 ±0,033**	0,102 ±0,019**	0,198 ±0,088**	0,274 ±0,029**	0,310 ±0,054**
<b>Rameaux</b>	<b>100</b>	0,424 ±0,065**	0,316 ±0,048**	0,272 ±0,026**	0,310 ±0,089**	0,404 ±0,032**
	<b>200</b>	0,378 ±0,083**	0,286 ±0,055**	0,288 ±0,049**	0,258 ±0,059**	0,400 ±0,052**
	<b>300</b>	0,290 ±0,043**	0,196 ±0,065**	0,174 ±0,057**	0,212 ±0,030**	0,370 ±0,040**
<b>Cônes</b>	<b>100</b>	0,584 ±0,053**	0,514 ±0,090**	0,386 ±0,093**	0,440 ±0,087**	0,528 ±0,039**
	<b>200</b>	0,568 ±0,066**	0,416 ±0,065**	0,382 ±0,067**	0,422 ±0,089**	0,512 ±0,081**
	<b>300</b>	0,496 ±0,071**	0,450 ±0,084**	0,244 ±0,088**	0,316 ±0,046**	0,382 ±0,065**

Les astérisques indiquent des différences statistiquement significatives par rapport au témoin. \* P <0,05, \*\* P <0,01.

L'injection sous plantaire de la carraghénine au lot témoin a entraîné une augmentation du diamètre moyen des pattes avec maximum d'œdème de 0.953 mm enregistré à la cinquième heure. L'administration IP du Diclofénac (médicament de référence) à la dose de 10 mg/kg a réduit de façon significative l'augmentation d'œdème, à partir de la première heure jusqu'à la fin du test. Le même constat a été noté suite aux traitements des souris avec les extraits de notre plante. La réduction maximale a été enregistrée généralement à la troisième heure à l'exception du lot traité avec les feuilles qui a révélé une réduction maximale d'œdème à la deuxième heure. Ces résultats suggèrent que les extraits des différentes parties de *T.articulata* ont un effet antiinflammatoire. Afin de bien apprécier cet effet, on a calculé le pourcentage d'inhibition d'œdèmes. Les résultats sont illustrés dans la figure ci-après.

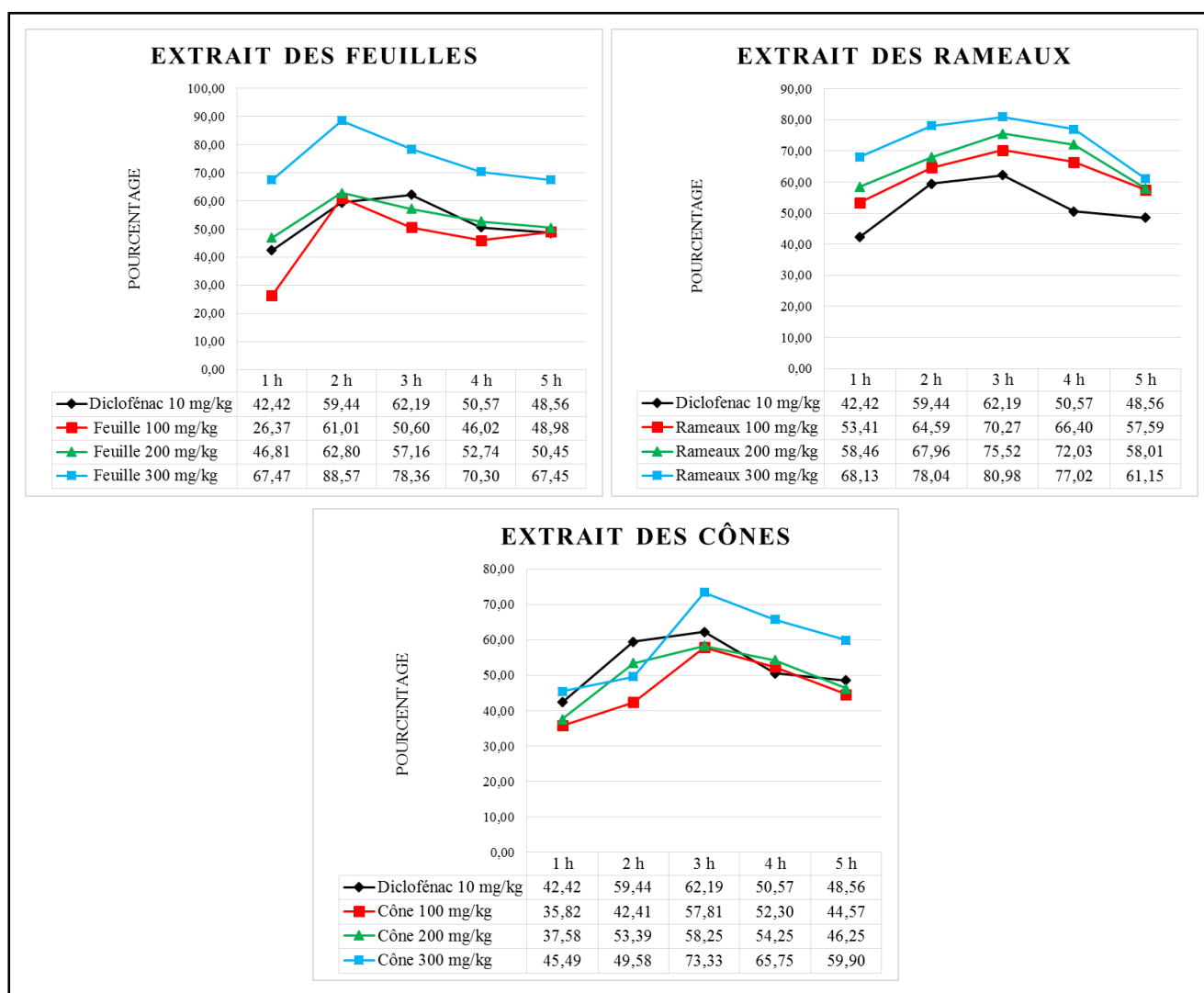


Figure 29: Pourcentage d'inhibition d'œdème par les extraits de *T.articulata*.

Les résultats révèlent certaines similitudes et aussi quelques différences entre les effets antiinflammatoires des organes de *T.articulata*. Parmi les points en commun, l'effet inhibiteur d'œdème qui a été dose-dépendant en utilisant les trois extraits. En outre, l'évolution d'inhibition avec les différents traitements (extraits et standard) a été similaire, avec une prévention de l'œdème dès la première heure, ensuite une inhibition maximale au bout de 2 à 3 heures et enfin un léger déclin vers la 5<sup>ème</sup> heure. En ce qui concerne les différences enregistrées, elles sont par rapport à l'efficacité des traitements. L'effet de l'extrait des rameaux a été supérieur à celui du Diclofénac à partir de la plus faible dose (100 mg/kg). Par contre, les autres extraits n'ont eu un effet supérieur à celui du standard qu'avec la dose 300 mg/kg. L'inhibition maximale est procurée par la dose 300 mg/kg de l'extrait des feuilles à la 2<sup>ème</sup> heure et qui est de 88.57 %. Enfin, l'extrait des cônes a été moins actif que les extraits des deux autres organes d'un point de vue global.



L'explication physiologique de l'effet antiinflammatoire de *T.articulata* d'une manière précise est difficile, notamment dans le cas de notre étude qui ne repose que sur l'observation macroscopique d'un seul symptôme de la réaction inflammatoire et qui est l'œdème. D'ailleurs, même dans le cas des travaux qui disposent de moyens d'études histologiques et biochimiques, ce n'est pas toujours évident de concevoir l'effet des extraits de plantes, du fait qu'il ne s'agit pas d'une seule molécule, mais un ensemble de métabolites qui agissent au niveau de plusieurs cibles et d'une manière synergique. Ce qu'on vient d'avancer, nous a conduits à construire une discussion sur la base de certaines notions fondamentales et aussi les données expérimentales des travaux préexistants dans la bibliographie dans le but d'éclaircir nos résultats. Au début, on rappelle que l'inflammation est définie comme une réaction de défense de l'organisme face à une agression physique (coup, chaleur ...), chimique ou biologique, exogène (allergènes, agents pathogènes) ou endogène (dysfonctionnements variés), avec une composante immunologique plus ou moins intense. Elle peut être aiguë ou superficielle, limitée à la peau, ou plus souvent profonde et pouvant atteindre tous les tissus ou organes. Les symptômes, ou signes cardinaux de l'inflammation ont été décrits dès l'Antiquité : rougeur (par vasodilatation), œdème (par extravasation des fluides sanguins dans l'épaisseur des tissus), chaleur (secondaire à la vasodilatation) et douleur par stimulation locale des fibres sensibles. Un cinquième signe a été ajouté au XIX siècle, la perte de fonction, par exemple au niveau articulaire (Landry and Gies, 2014). Comme réaction de défense, l'inflammation a un aspect favorable à ne pas combattre. Mais lorsqu'elle est gênante ou devient chronique avec perte de fonction, le recours à la thérapeutique s'impose. Le déclenchement de la réaction, à cause de l'un des agents cités ci-dessus, est associé à un niveau accru de médiateurs pro-inflammatoires appelés cytokines, et qui sont à la fois responsable de l'activation et l'attraction (chimiokines) des différents acteurs cellulaires qui contribuent à la réponse inflammatoire. Ces médiateurs constituent la cible de la quasi-totalité des traitements antiinflammatoires et les scientifiques supposent qu'ils le sont aussi même pour nos extraits de plantes. Une description détaillée de tous les médiateurs et leurs mécanismes d'action dépasse la portée de cet aperçu parce qu'ils sont non seulement nombreux, mais dépendent aussi du type de l'inflammation. Alors on va mettre la lumière sur quelques travaux qui ont étudié l'inflammation induite par la carraghénine chez les rongeurs. D'après ce qui a été reporté dans la revue *Veterinari medicina* par J. Necas et L. Bartosikova en 2013, le développement de l'œdème dans la patte postérieure de la souris après l'injection de la carraghénine est décrit comme un événement biphasique, dans lequel divers médiateurs agissent en séquence pour produire la réponse inflammatoire. TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 et l'histamine sont les premiers médiateurs détectables dans la phase initiale, et l'œdème de la patte a été

attribué principalement à la libération d'histamine qui est impliquée dans la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité vasculaire. La deuxième phase d'accélération du gonflement a été corrélée avec la production élevée de prostaglandines (PG) à cause de l'enzyme cyclooxygénase inductible (COX-2) qui a été aussi détecté dans la patte postérieure des animaux. Les PG sont des amplificateurs de l'inflammation parce qu'elles sont aussi impliquées dans l'augmentation de la vasodilatation et perméabilité vasculaire ainsi que la stimulation des terminaisons nerveuses. Un autre médiateur a été mis en évidence au niveau de la patte et qui est le monoxyde d'azote (NO), mais l'activité de l'enzyme responsable de sa synthèse (oxyde nitrique synthase) n'a été détectée qu'après 6 h de l'injection de la carraghénine (Handy and Moore, 1998), ce qui est au-delà de notre période de test.

Les médicaments antiinflammatoires qu'on dispose actuellement agissent sur certains médiateurs de l'inflammation. Les antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS), qui sont souvent utilisés contre les inflammations aiguës, bloquent la synthèse des PG et par conséquent ils inhibent l'œdème et la douleur. Ce mécanisme d'action est dû à l'inhibition de l'enzyme cyclooxygénase, avec ces deux isoformes (COX-1 et COX-2), qui est responsable de la synthèse des PG à partir de l'acide arachidonique (acide gras libéré de la membrane cellulaire grâce à l'enzyme phospholipase A2) (Landry and Gies, 2014). Au laboratoire, les chercheurs tests la capacité des composés, que ce soit synthétique ou naturel, à inhiber les COX afin de mettre en évidence l'effet antiinflammatoire des nouveaux produits en utilisant des méthodes *In vitro*. Ce genre de test n'a été jamais effectué en utilisant les extraits de *T.articulata*. Djouahri en 2012 et en 2014 a testé l'effet inhibiteur d'une autre enzyme impliqué aussi dans le mécanisme d'inflammation et qui est la lipooxygénase. Cette dernière est responsable de synthèse des leucotriènes à partir de l'acide arachidonique. Quelques leucotriènes sont des médiateurs chémoattractants des leucocytes, et d'autres sont des bronchoconstricteurs. En pharmacologie, certains inhibiteurs de la lipooxygénase et d'antagonistes des récepteurs des leucotriènes ont été synthétisés en vue d'applications thérapeutiques. Mais les espoirs ont été déçus, car les médicaments qui ont été mis sur le marché en tant que bronchodilatateurs antiasthmatiques de fond ont eu un succès modeste (Landry and Gies, 2014). En se basant sur ces données de la bibliographie, on suggère que même si l'inhibition des lipooxygénases par les extraits de *T.articulata* a été mise en évidence, elle n'est vraisemblablement pas responsable de l'effet observé durant notre expérience. Autant que nous sachions, il n'existe aucun travail qui a testé l'effet antiinflammatoire des extraits de *T.articulata* *In vivo*. En revanche, l'activité des huiles essentielles des feuilles a été étudiée par (El Jemli et al., 2017b) en utilisant deux modèles animaux, celui de la carraghénine et aussi de traumatisme. Leurs résultats ont révélé

des pourcentages d'inhibition d'œdème supérieurs à celle de l'Indométacine (traitement de référence) avec des taux qui atteignent les 84% à la dose de 200 mg/kg.

#### 4.1.3 Activité antipyrétique :

Comme il a été déjà décrit dans le chapitre précédent, la fièvre a été induite par l'injection de la levure de bière, et l'effet antipyrétique a été évalué comme la capacité des traitements à inverser la pyrexie induite. Les résultats obtenus sont présentés ci-après (Fig 30).

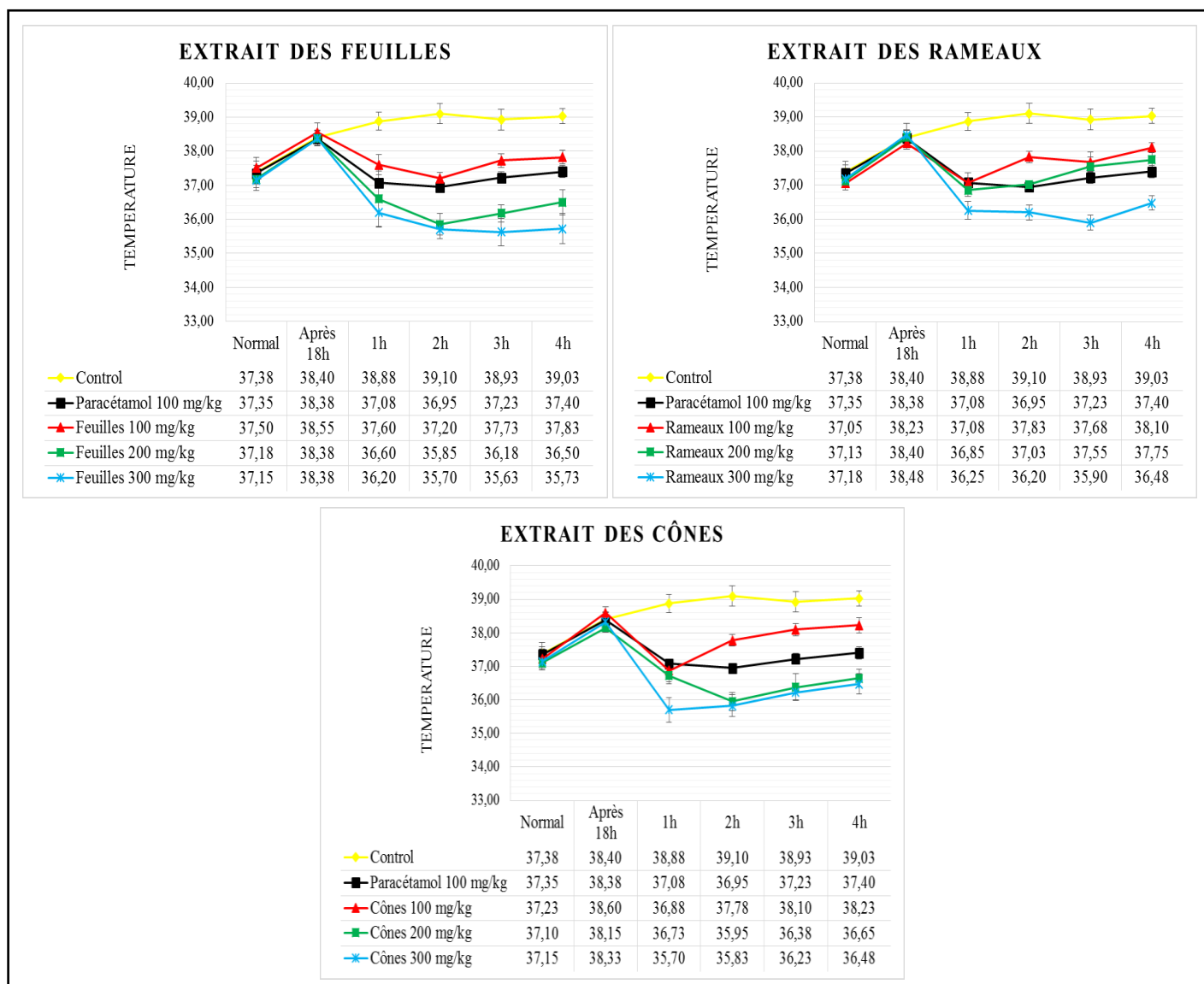


Figure 30 : Activité antipyrétique des extraits de *T. articulata*.

Les souris sont des animaux à sang chaud dont la température corporelle normale est de  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  (Hankenson, 2013). L'injection des champignons (*Saccharomyces cerevisiae*) a induit une pyrexie chez les animaux qui atteint les  $39^\circ\text{C}$ . Ces derniers ont été traités avec les

extraits de notre plante et aussi le paracétamol (référence). Les résultats obtenus ont révélé que les extraits de *T.articulata* ont réduit significativement la température des animaux par rapport au lot témoin ( $p \leq 0.005$ ). L'effet observé a été dose-dépendant avec une efficacité maximale enregistrée à la première et la deuxième heure. On constate ainsi que les doses 200 et 300 mg/kg des feuilles et des cônes ainsi que la dose 300 mg/kg des rameaux ont provoqué une hypothermie, car les températures corporelles ont descendu au-dessous de 36.5°C. D'un point de vue global, la cinétique d'évolution des températures rectales dans les lots traités par nos extraits à celle similaire à celle du paracétamol.

La fièvre résulte d'un dérèglement du centre hypothalamique de la thermorégulation. Elle se manifeste par une augmentation de la température, une vasoconstriction périphérique, une augmentation du tonus musculaire et des frissons. La thermogénèse augmente, sans accroissement de la thermolyse. Les endotoxines sont généralement responsables de la fièvre. Elles libéreraient, des globules blancs, un pyrogène leucocytaire qui entraînerait l'élévation du réglage thermique du centre hypothalamique. Elles provoquent la libération de prostaglandines dans le liquide céphalo-rachidien, lesquelles injectées par voie intracérébroventriculaire se révèlent hyperthermisantes (Milton, 1982). Dans les exsudats d'inflammation se trouvent des polypeptides doués de propriétés hyperthermisantes également responsables de la fièvre dans les états inflammatoires. Les polypeptides hyperthermisants sont le tumor necrosis factor TNF  $\alpha$ , les interleukines IL1 et IL6 qui induisent la fièvre par une cascade de réactions activant la cyclo-oxygénase et la production de prostaglandines (Cohen et al., 2008).

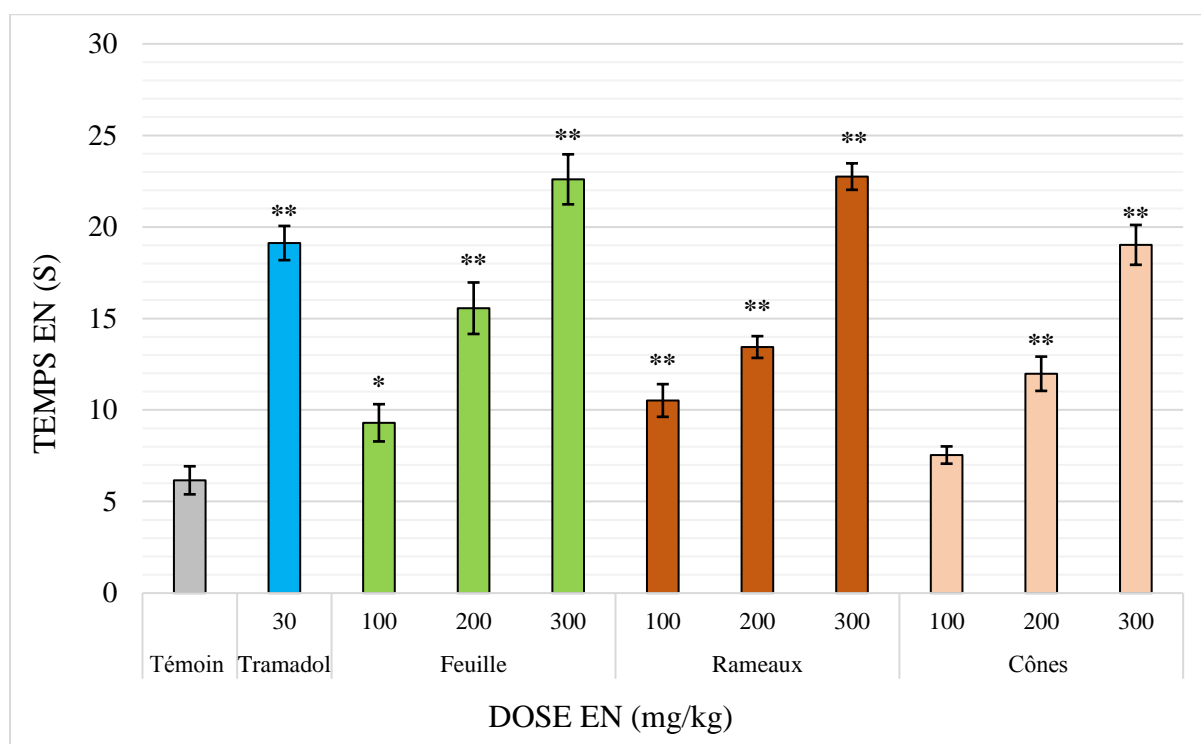
Afin de comprendre ce qu'on a obtenu comme résultats de tests, nous avons eu recours à l'ouvrage de *pharmacologie* de Cohen et al. publié en 2008, pour comprendre comment se produit la fièvre ainsi que l'action des antipyrétiques. Les auteurs rappellent que le centre de la thermorégulation se trouve dans l'hypothalamus, sous la dépendance d'une espèce de thermostat nerveux, sensible aux variations de température. De la périphérie (terminaisons nerveuses de la peau) partent des afférences nerveuses du chaud et du froid qui vont conditionner le fonctionnement du centre. Du système circulatoire (gros troncs artériels et veineux) partent vers ce centre des afférences qui indiquent la température centrale. Le centre, en fonction des températures ambiantes et de la température centrale des gros troncs, va commander la réaction nécessaire au maintien de l'homéothermie, soit une augmentation de la thermogénèse par accélération des processus d'oxydation (mise en jeu de la thyroïde, du foie, des surrénales), soit par un accroissement de la thermolyse (vasodilatation, transpiration, vaporisation pulmonaire). Le thermostat hypothalamique est réglé entre 36,5 ° et 37,5 °C. Sous

l'influence des substances hyperthermisantes, le taux de réglage s'élève anormalement. Les antipyrétiques ont pour effet d'abaisser le taux de réglage anormalement élevé. Il s'ensuit une réaction de l'organisme conduisant à la thermolyse avec diminution de la température centrale. L'élimination du médicament annihile cet effet ; le centre est à nouveau dérégulé vers les hautes températures. L'organisme réagit par une diminution de la thermolyse : vasoconstriction cutanée, frissons. L'alternance d'augmentation et de diminution de la température corporelle demeure jusqu'à ce que la cause de la fièvre ait disparu. Les antipyrétiques n'ont qu'un effet symptomatique. Ils diminuent la température du corps enfiévré. Ils sont à distinguer des antithermiques (neuroleptiques) capables d'abaisser la température normale.

Selon les données de la bibliographie, Il est admis que les antipyrétiques n'agissent pas lorsque la température est normale, ce qui veut dire qu'ils ne provoquent pas l'hypothermie (Cohen et al., 2008; Milton, 1982; Vane and Ferreira, 1978). En ce qui concerne le fameux paracétamol qu'on a utilisé comme témoin ; son mécanisme d'action est resté pendant longtemps inconnu. Cohen et al. suggèrent qu'il est actif sur la prostaglandine-synthétase du cerveau, mais inactif sur la prostaglandine-synthétase périphérique. En outre, il n'agit pas sur la formation du pyrogène leucocytaire. L'effet du paracétamol observé lors de nos expériences s'accorde avec les données de la bibliographie, malgré la dose élevée utilisée le médicament n'a pas abaissé la température au-dessous de la normale. En revanche, les extraits de *T.articulata* à doses élevées ont provoqué des hypothermies ce qui suggère qu'ils ont un mécanisme d'action différent. Ce constat nous a conduits à tester l'effet de nos extraits sur des animaux en normothermie, et il s'est avéré que la température corporelle a baissé. L'effet hypothermique provoqué par les plantes a été observé par d'autres chercheurs, et cela dépend de la nature des composés actifs et leurs mécanismes d'action (Delporte et al., 1998; Effe et al., 2013; Morán et al., 1989; Taiwe et al., 2011).

#### **4.1.4 Activité antinociceptive :**

Le temps de latence des animaux sur la plaque chauffante, maintenu à  $55 \pm 1$  °C, a été mesuré en seconde. Les résultats obtenus sont présentés dans les diagrammes en bâton ci-dessous (**Fig 31**).



Les astérisques indiquent des différences statistiquement significatives par rapport au témoin. \* P <0,05, \*\* P <0,01.

**Figure 31:** Temps de latence des souris sur la plaque chauffante.

Les extraits de l'arbre ont augmenté le temps de latence des souris sur la plaque chauffante d'une manière dose-dépendante à l'exception de la dose 100 mg/kg de l'extrait des cônes qui n'était pas significativement différent du témoin. La différence entre les temps de latence des souris traités avec les doses 200 et 300 mg/kg a été hautement significative par rapport aux animaux du lot non traité. L'effet obtenu avec les doses 300 mg/kg a été supérieur à celui du Tramadol.

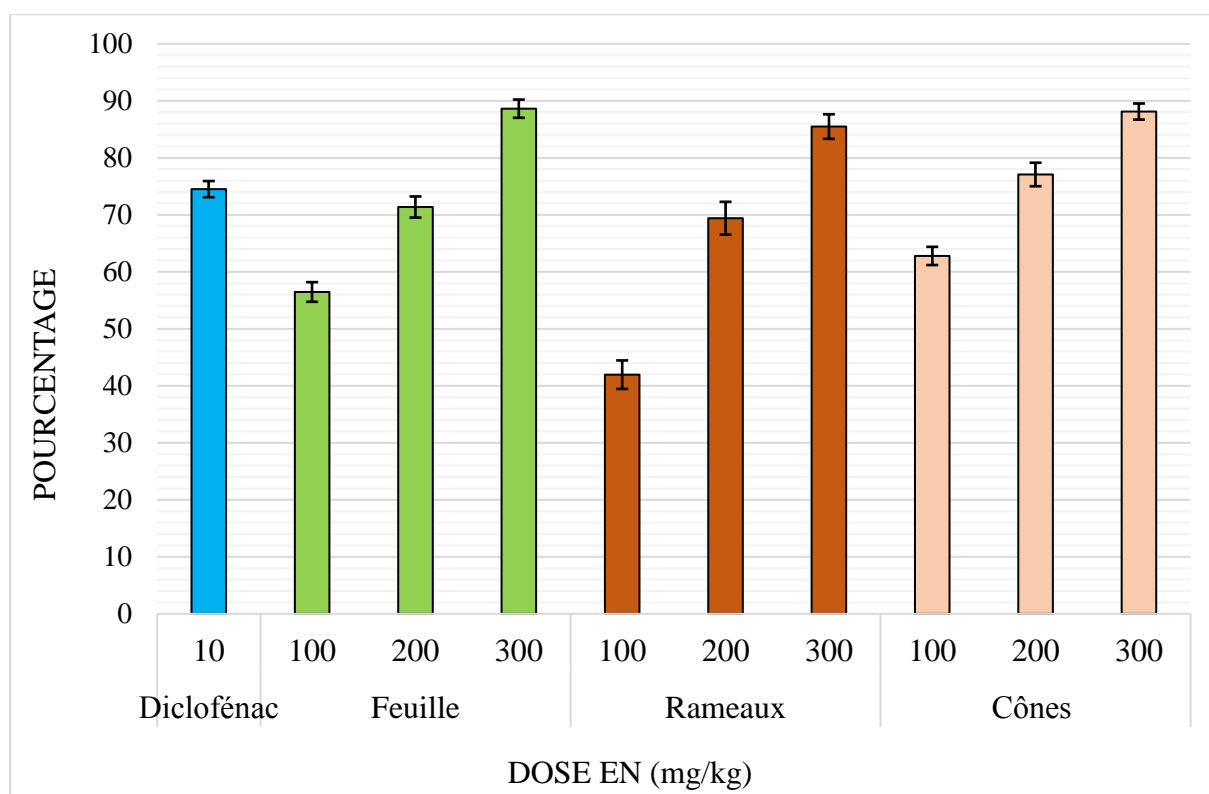
Ce test qu'on vient de mener concerne uniquement l'étude de la douleur nociceptive et n'a aucune relation avec les autres types de douleurs neuropathiques ou psychogènes. La nociception par définition est une perception de la douleur par le codage et le traitement des stimuli nocifs dans le système nerveux. Les neurones impliqués dans la nociception forment le système nociceptif. Les stimuli nocifs, tels que la chaleur dans notre cas, activent les fibres afférentes primaires grâce aux terminaisons nerveuses libres présentes dans les tissus (A $\delta$  et fibres C). Les nocicepteurs, qui conduisent le message se projettent sur la moelle épinière et forment des synapses avec les neurones de deuxième ordre dans la matière grise de la corne dorsale. Une partie des neurones du deuxième ordre ont des axones ascendants et se projettent dans le tronc cérébral ou dans le système thalamo-cortical qui produit la réponse de la douleur consciente lors d'une exposition nocive (Stein, 2006).

La sensation douloureuse peut être influencée de la façon suivante : interruption de la cause de la douleur, diminution de la sensibilité des nocicepteurs (antipyrétiques, analgésiques,

anesthésiques locaux), interruption de la conduction dans les nerfs sensitifs (anesthésiques locaux), suppression du relais des influx douloureux dans la moelle épinière (opioïdes), inhibition de la perception de la douleur (opioïdes, narcotiques) et modulation de l'assimilation de la douleur (antidépresseurs comme coanalgésiques) (Lüllmann et al., 1998). Selon ces modes d'action, les pharmacologues classent les médicaments antidouleur en deux catégories : les analgésiques narcotiques ou opioïdes qui agissent sur le système nerveux central et les analgésiques antipyrétiques qui ont une action périphérique et ils ont aussi, le plus souvent, des effets antiinflammatoires (Cohen et al., 2008). Dans notre modèle expérimental, l'augmentation du temps de latence des souris sur la plaque chauffante est expliquée par l'inhibition de la perception de la douleur qui est favorisée par les analgésiques opioïdes tels que la morphine ou bien d'autres analgésiques opioïdes faibles tels que le tramadol. Ce dernier a été utilisé dans nos tests comme un médicament de référence. C'est un analgésique central par action sur les récepteurs  $\mu$  et sur le système aminergique, il empêche le recaptage de la noradrénaline et de la sérotonine par les neurones. Son efficacité est comparable à celle de la codéine et du dextropropoxyphène (Cohen et al., 2008). On ce qui concerne l'effet de notre plante dans l'augmentation du temps de latence des souris sur la plaque chauffante, il n'est toujours pas évident d'expliquer le mécanisme d'action de nos extraits du fait que l'étude qui a été menée ne repose que sur des aspects comportementaux des animaux, mais les résultats sont en accord avec les données ethnobotaniques que ce soit celles obtenues par notre enquête ou bien celles reportées par Bellakhdar et al., 1991. L'utilisation traditionnelle des feuilles d'El Arrar pour soulager les maux de tête ou bien contre l'insomnie montre que ces parties sont actives sur le système nerveux central humain. Les feuilles ont été aussi employées par la population locale dans les cataplasmes des deux côtés ou sur le dessus de la tête contre les vertiges, les maux de tête et les douleurs du cou (Centre for Mediterranean Cooperation, 2005)

#### **4.1.5 Activité analgésique :**

Dans ce test, la douleur a été induite par un stimulus chimique. L'injection IP de la solution d'acide acétique à 1 % provoque des irritations au niveau de la cavité péritonéale. L'animal présente un phénomène de torsion de son corps. La paroi abdominale est parcourue de contractures. Sur des groupes d'animaux, on a testé les doses d'extraits empêchant le phénomène de torsion à la douleur. Les pourcentages d'inhibitions ont été calculés et présentés dans les diagrammes en bâton ci-dessous (**Fig 32**).



**Figure 32:** Pourcentage d'inhibition des contorsions abdominales chez les souris.

Les extraits de *T.articulata* ont inhibé les contorsions abdominales chez les souris d'une manière doses dépendantes. L'effet maximal enregistré a atteint les 88% aux doses 300 mg/kg. Cette inhibition est supérieure à celle du Diclofénac.

La douleur, dans ce test, est produite à cause d'une réaction inflammatoire au niveau de la cavité péritonéale. Cette dernière a été provoquée par des lésions tissulaires suite à l'injection de l'acide acétique. On rappelle que même dans le test de l'activité anti-inflammatoire par la carraghénine, on a constaté qu'il y avait des douleurs au niveau de la pâte enflammée parce que les souris du lot témoin ne marchaient pas sur les pattes malades et crient lorsqu'on les touche, mais cette douleur n'était pas mesurable. Le test des contorsions abdominales a été développé, car les sensations douloureuses, qui sont dues à l'inflammation, se traduisent par des gestes qui permet de mesurer, en quelque sorte, la douleur. Dans ce genre de test d'activité analgésique, les chercheurs utilisent les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme traitement de référence parce qu'ils sont aussi actifs sur la douleur grâce à leur effet inhibiteur de la synthèse des prostaglandines. Ces dernières sont considérées comme des médiateurs de la douleur en plus de l'histamine, la sérotonine et la bradykinine. En effet, l'histamine ou la sérotonine sont libérées lors de réactions inflammatoires douloureuses ; la bradykinine injectée sous le derme ou par voie IV provoque une sensation douloureuse. La douleur apparaît lors d'une perfusion de prostaglandine puis subsiste une hyperesthésie (Stein, 2006).



Nos extraits de *T.articulata* ont limité toutes les conséquences négatives liées à la formation pathologique de ces substances, mais leur mécanisme d'action demeure inconnu. En médecine populaire, les feuilles et les rameaux de l'arbre ont été employés pour pallier les douleurs de certaines inflammations chroniques comme le rhumatisme ( Akhmisse, 2006).

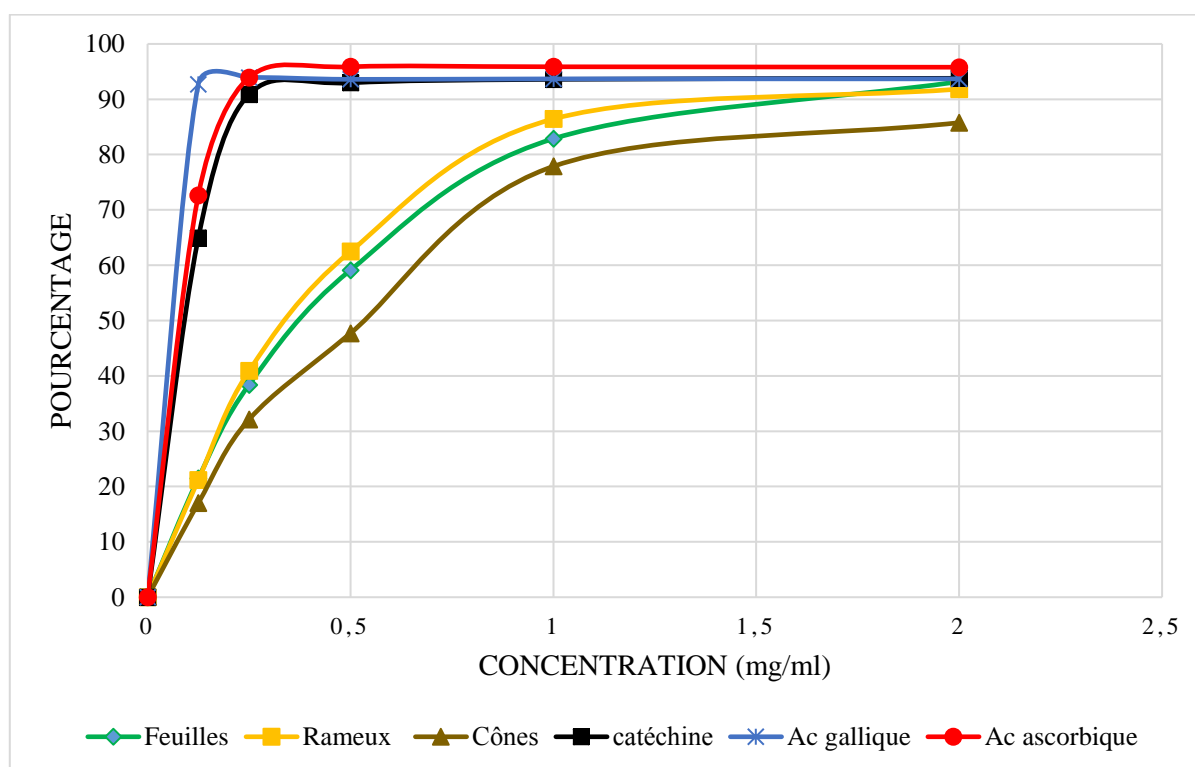
## 4.2 Tests biologiques *In vitro* :

### 4.2.1 Activité antioxydante :

L'activité antioxydante a été testée par quatre méthodes différentes afin d'apprécier l'efficacité de nos extraits vis-à-vis plusieurs types de radicaux libres.

- Test de l'effet *scavenger* du radical DPPH :

Le graphe suivant représente les résultats des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées des extraits hydroalcooliques de *T.articulata* et les différents standards de référence (acide ascorbique, acide gallique et catéchine).



**Figure 33:** Pourcentage d'inhibition du DPPH par les extraits et les différents standards.

Nous dénotons que les antioxydants de référence ont presque le même pouvoir antioxydant, comparativement aux extraits de la plante qui sont un peu moins actifs. L'effet de nos extraits est positivement corrélé à la concentration avec un pourcentage d'inhibition maximal à la

concentration **2mg/ml** de **93%, 91% et 85 %** pour les feuilles, les rameaux et les cônes respectivement. Nous constatons ainsi que l'acide gallique donne un pourcentage d'inhibition de **92 %** à partir de la plus faible concentration, par contre l'effet des extraits n'est observé qu'à partir des concentrations relativement grandes.

Afin de décrire davantage nos résultats, on a calculé les valeurs IC50 à partir des graphes précédents. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

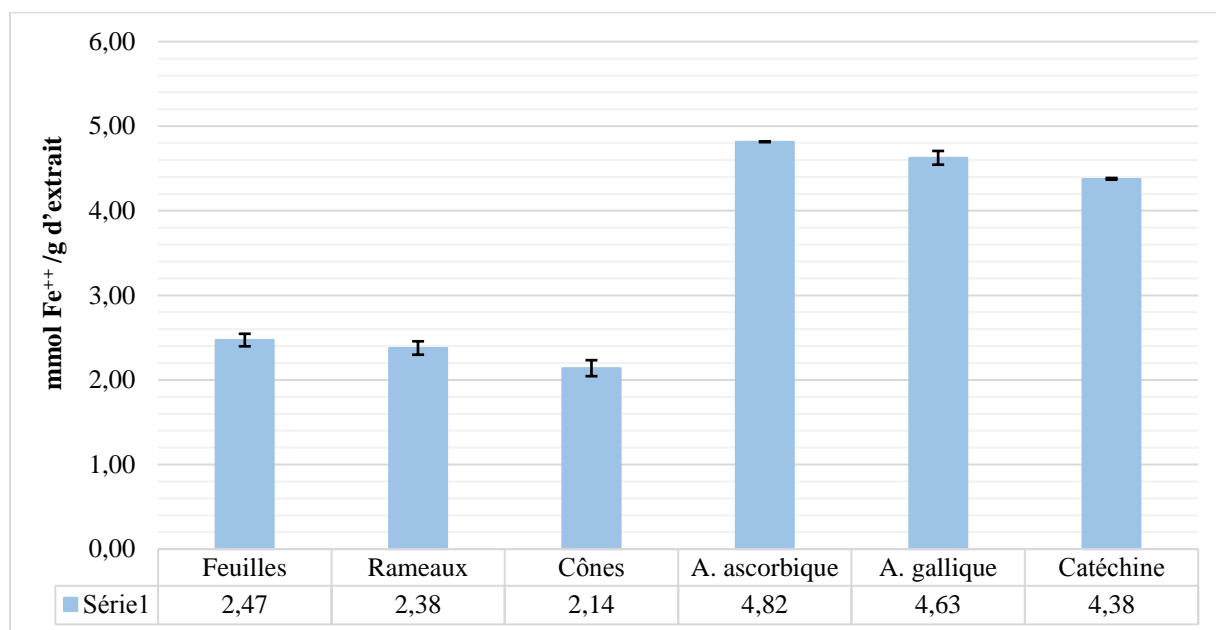
**Tableau 8:** Valeurs des IC50 des extraits de *T.articulata* et des standards de références

Extraits	Feuilles	Rameaux	Cônes	A. ascorbique	A. gallique	Catéchine
IC50 (µg/ml)	393.91	371.65	578.02	84.91	34.01	76.84

Les composés de référence ont une activité antiradicalaire très puissante qui s'exprime avec des faibles valeurs d'IC50 parce qu'il s'agit des composés purs ; et leur pouvoir antioxydant est expliqué par le caractère neutrophile fort des composés phénoliques. Les extraits bruts des plantes peuvent contenir plusieurs composés antioxydants, mais leurs proportions sont généralement faibles dans le mélange ce qui explique vraisemblablement les valeurs IC50 un peu plus grandes de nos extraits, mais ces dernières restent très considérables et prometteuses du fait qu'il s'agit des extraits bruts.

- **Test de FRAP :**

Le test de FRAP mesure la capacité des antioxydants contenus dans les extraits à réduire les ions Fe<sup>+++</sup> en Fe<sup>++</sup>. Les résultats sont exprimés en mmol Fe<sup>++</sup> /g d'extrait et présentés dans la **figure n° 34**. (La courbe d'étalonnage DO = f ([FeSO<sub>4</sub>]) est présentée en annexe)



**Figure 34:** Les concentrations de  $Fe^{2+}$  dans les mélanges en (mmol/g d'extrait).

Les pouvoirs réducteurs des organes de l'arbre sont similaires, mais ils sont en revanche significativement différents des standards de référence utilisés. Ces derniers ont réduit beaucoup plus d'ions  $Fe^{3+}$  que les extraits de notre plante. Ces résultats viennent pratiquement de confirmer ceux du test précédent (DPPH) parce qu'ils dépendent toujours des caractères neutrophiles des composés testés.

- **Test de blanchissement du  $\beta$ -carotène :**

Le blanchissement du  $\beta$ -carotène est suivi par la mesure de l'absorbance de cette dernière dans des intervalles de temps fixes (20 min), ce qui a permis de tracer les courbes de la cinétique des extraits de *T.articulata* et des standards (**Fig 35**). Dans un premier temps on constate que les extraits de notre plante ont préservé la couleur du  $\beta$ -carotène d'une manière similaire à celle de la catéchine et l'acide gallique à l'exception de l'extrait des cônes qui a une cinétique de blanchissement très proche de celle du contrôle (-). En outre, la cinétique de blanchissement avec l'acide ascorbique montre que ce standard a un effet antioxydant supérieur aux autres.

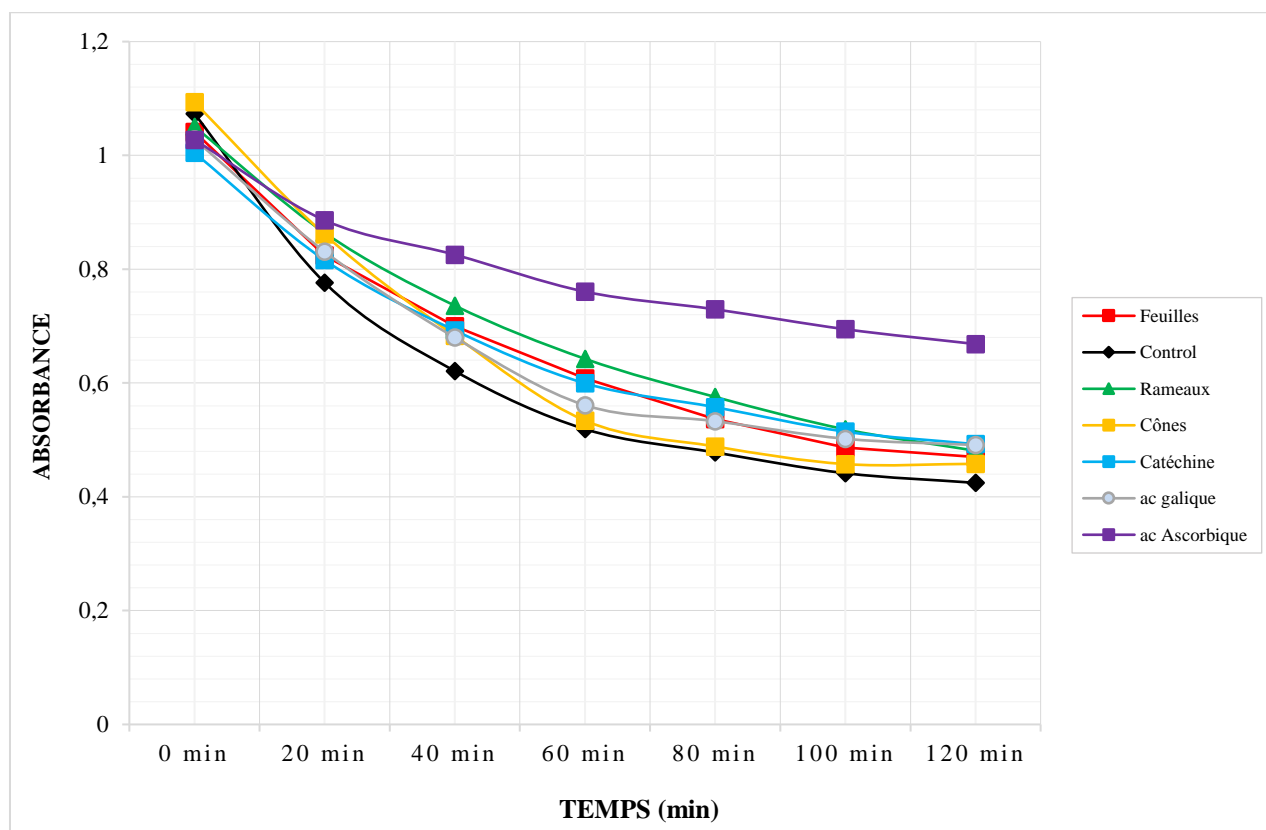


Figure 35: Cinétique de blanchissement du  $\beta$ -carotène en fonction du temps.

Ces constatations sont complétées par le calcul des pourcentages de l'activité antioxydante reportés dans le tableau 9. Les résultats obtenus révèlent que les feuilles et les rameaux ont des pourcentages d'activité de 11% et 12% respectivement. L'activité des cônes est faible par rapport aux autres organes. Au regard de ces résultats, les extraits de *T. articulata* sont peu actifs dans ce test en comparaison avec l'acide ascorbique.

Tableau 9: Les pourcentages d'activité antioxydante des extraits de *T. articulata*

Extraits	Feuilles	Rameaux	Cônes	Catéchine	A. gallique	A. ascorbique
% d'activité	11,9 $\pm$ 1,9	12,2 $\pm$ 0,8	2,1 $\pm$ 0,8	21,1 $\pm$ 1,3	17,2 $\pm$ 1,9	44,7 $\pm$ 2,6

- Effet chélateur des ions ferreux (FIC) :

La présence d'ions de métaux de transition dans un système biologique pourrait catalyser les réactions de type Haber-Weiss et Fenton, entraînant la formation de radicaux hydroxyles (OH). Cependant, ces ions de métaux de transition pourraient former des chélates avec les antioxydants, ce qui entraînerait la suppression de la production d'OH et inhiberait les processus

de peroxydation des molécules biologiques. L'ion ferreux a été utilisé comme ion de métal de transition dans cet essai FIC.

L'analyse de l'activité chélatante des ions ferreux de nos extraits montre une activité FIC dose dépendante. Comme le montre la figure 36, à la concentration la plus élevée (7 mg/ml), les extraits de *T.articulata* présentaient la plus forte activité FIC qui est autour des 45 % pour les trois organes. Nos extraits ont révélé un effet chélateur supérieur à celui des standards de référence utilisés à l'exception de l'EDTA qui est connu par sa forte activité chélatante et qui est 98% à partir de la plus faible concentration.

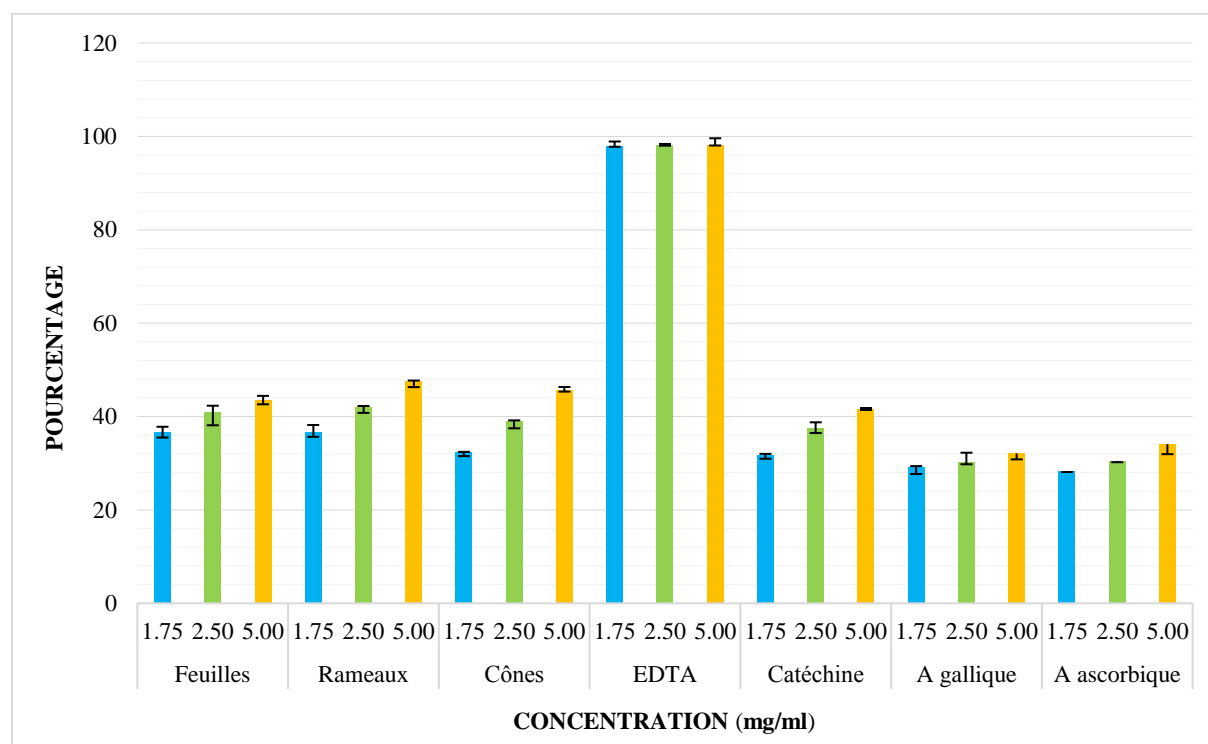


Figure 36: pourcentage de chélation des ions ferrique

- **Récapitulatif :**

Le stress oxydatif et ses effets néfastes sur la santé humaine font couler beaucoup d'encre ces dernières décennies. Dans un ouvrage récent intitulé « *Oxidative Stress and Antioxidant Protection* » édité par *Armstrong et Stratton* en 2016 : 'les auteurs déclarent que le stress oxydatif joue un rôle majeur dans de nombreuses maladies humaines et pourrait bien devenir la caractéristique dominante de la plupart de ces maladies. Ainsi, son implication a été confirmée dans plus de 100 états pathologiques'. Cela explique le nombre important des publications scientifiques qui aborde l'effet antioxydant, quel que soit, des composés naturels ou bien synthétiques, en utilisant des méthodes notamment *In vitro* qui testent l'inhibition de certaines espèces chimiques impliquées dans le stress oxydatif (radicaux libres, métaux

lourds...), ou bien qui simulent des réactions d'oxydation qui peuvent se dérouler *In vivo* (peroxydation lipidique...).

D'après ce qui a été rapporté aussi dans l'ouvrage cité ci-dessus, les radicaux libres les plus nocifs sont les radicaux hydroxyles ( $\text{HO}\cdot$ ) et hydrogène produit lors des réactions de radiation ionisante ou de toxicologie environnementale, ainsi que les radicaux superoxydes ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) qui sont produits dans les réactions de transport d'électrons mitochondriaux. Naturellement, La superoxyde dismutase forme rapidement du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) à partir de ( $\text{O}_2\cdot^-$ ). Le fer ferreux libre ( $\text{Fe}^{2+}$ ) et le cuivre ( $\text{Cu}^+$ ) participent aux réactions de Fenton avec  $\text{H}_2\text{O}_2$  pour produire des radicaux hydroxyles et des anions hydroxyde, oxydant les métaux en  $\text{Fe}^{3+}$  et  $\text{Cu}^{2+}$ . Le fer ou le cuivre libre oxydé peut alors oxyder à son tour le  $\text{H}_2\text{O}_2$  pour former des radicaux hydroperoxyde ( $\text{HOO}\cdot$ ) et des protons ( $\text{H}^+$ ), réduisant les métaux en  $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Cu}^+$ , de sorte que de nouvelles réactions de peroxydation peuvent survenir de manière cyclique et cela engendre pas mal de dysfonctionnements cellulaires, enzymatiques, vasculaires ...etc. (Armstrong and Stratton, 2016).

Dans notre étude, nous avons utilisé des techniques qui testent l'effet réducteur général (test de DPPH) et celui des ions  $\text{Fe}^{3+}$  (test de FRAP) ainsi que l'effet chélateur des métaux (test de FIC). Les résultats obtenus ont révélé un potentiel antioxydant considérable, et ce dernier peut être responsable en partie des propriétés médicinales des organes de l'arbre. L'effet réducteur des extraits de *T.articulata* a été aussi mis en évidence par d'autres auteurs comme Djouahri et Boudarene en 2012 et plus récemment par Sliti et al. en 2016.

Le test du  $\beta$ -carotène est une technique complémentaire qui simule, en quelque sorte, la réaction de peroxydation lipidique *In vitro*. Elle consiste à mesurer le blanchiment du  $\beta$ -carotène résultant de son oxydation par les produits de dégradation de l'acide linoléique. L'oxydation de ce dernier est catalysée par la chaleur ( $50\text{ }^\circ\text{C}$ ) (Laguerre et al., 2007). L'ajout d'extraits de la plante et des standards a pour effet de retarder la propagation de la réaction. L'activité des parties de Thuya a été intermédiaire voire faible avec l'extrait des cônes, en comparaison avec les molécules de références. La comparaison avec d'autres travaux est une tâche délicate à cause de certaines limites de la technique, comme les différentes concentrations d'extraits utilisés par les chercheurs et aussi l'oxydation de l'acide linoléique induite thermiquement qui n'est pas contrôlée, ce qui induit souvent une variabilité des données (Laguerre et al., 2007). Malgré cela, on cite les travaux de Ben Jemia et al. en 2013 qui a mis en évidence une activité considérable des extraits des feuilles on utilisant la même technique et aussi les travaux de Sliti et al. (2016)

qui ont révélé une inhibition de la peroxydation lipidique par les extraits de Thuya en utilisant la technique de consommation d'oxygène.

#### 4.2.2 Activité antibactérienne :

Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extraits sont regroupés dans le Tableau 10. L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extraits bruts étudiés comme le montrent les photos de nos boîtes de test après incubation (Fig 37).

Tableau 10: Diamètres d'inhibition des souches bactériennes.

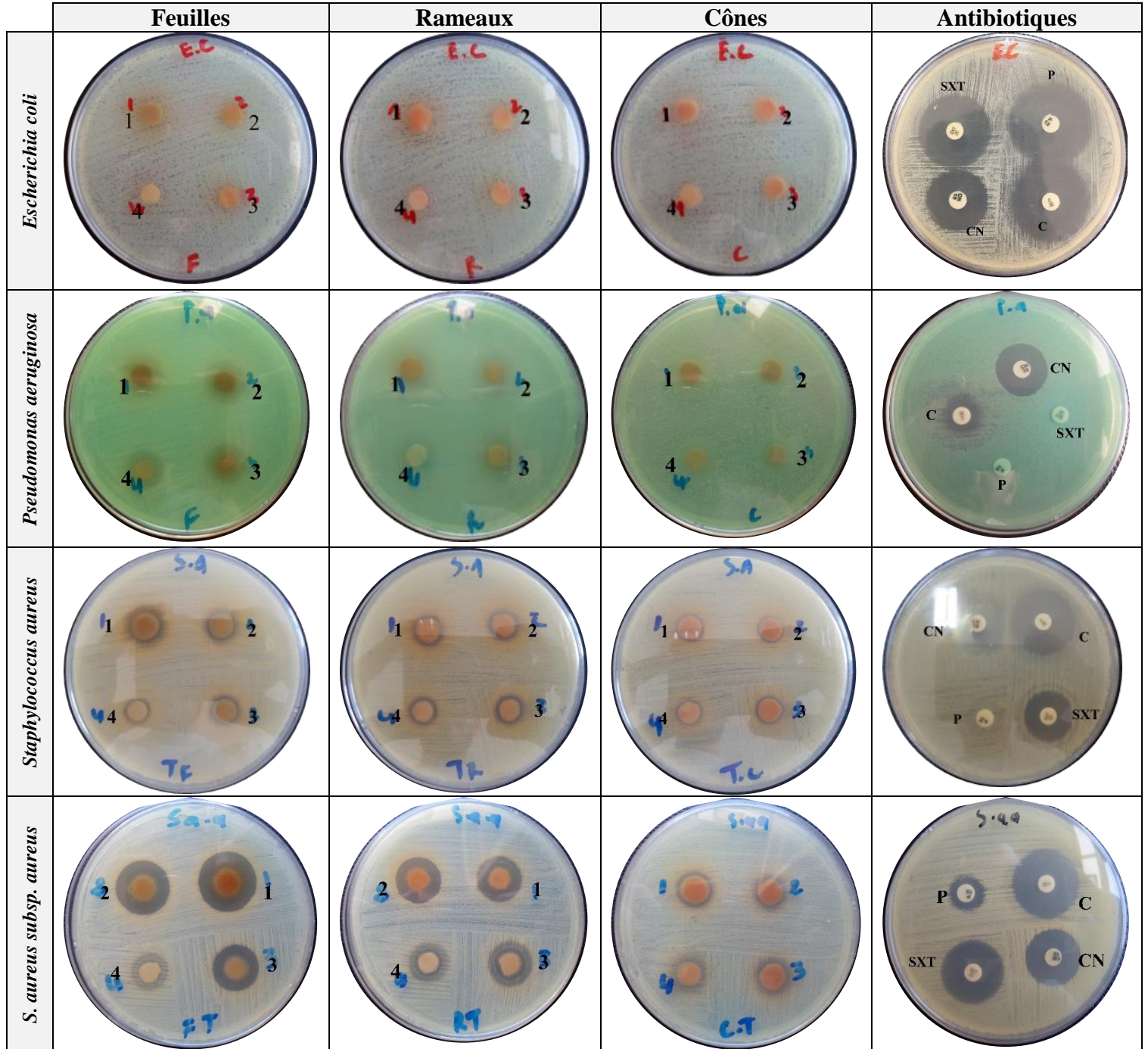
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus subsp. aureus</i>
<b>Feuille 50*</b>	0	0	7,1	10,2
<b>Feuille 100</b>	0	0	8,0	14,1
<b>Feuille 150</b>	0	0	9,5	16,5
<b>Feuille 200</b>	0	0	10,3	19,1
<b>Rameaux 50</b>	0	0	7,1	7,9
<b>Rameaux 100</b>	0	0	7,9	10,1
<b>Rameaux 150</b>	0	0	8,4	14,1
<b>Rameaux 200</b>	0	0	9,2	15,1
<b>Cônes 50</b>	0	0	0	0
<b>Cônes 100</b>	0	0	0	0
<b>Cônes 150</b>	0	0	0	7,7
<b>Cônes 200</b>	0	0	7,8	10,0
<b>C</b>	20,7	10,2	20,5	22,8
<b>CN</b>	10,8	10,7	20,2	19,2
<b>SXT</b>	20,5	0	10,5	20,6
<b>P</b>	30,3	0	0	10,2

\* Concentration en mg/ml , C : Chloramphénicol 30 µg, CN : Gentamycine 10 µg, SXT : Sulfaméthoxazole 23.75 µg et Triméthoprim 1.25µg , P : Pénicilline 10 µg.

Les extraits de *T.articulata* n'ont révélé aucune activité inhibitrice vis-à-vis les deux souches de Gram négatif. *Escherichia coli* et la *Pseudomonas aeruginosa* se sont montrés parfaitement résistants à tous les niveaux de concentration des extraits. En revanche, elles étaient sensibles à certains antibiotiques de références. D'autre part, les deux souches de staphylocoques ont révélé une sensibilité intermédiaire aux différentes concentrations d'extraits de feuilles et de rameaux,



et elles étaient moins sensibles aux extraits des cônes. Nos résultats montrent donc une variabilité des qualités bactériostatiques des extraits vis-à-vis des différentes souches. Les deux souches de *Staphylococcus aureus* à Gram positif sont plus sensibles que les autres souches bactériennes testées à Gram négatif.



1: 200 mg/ml, 2: 150 mg/ml, 3: 100 mg/ml, 4: 50 mg/ml, C: Chloramphénicol 30 mg, CN: Gentamycine 10 mg, SXT: Sulfaméthoxazole et Triméthoprime 23.75 mg, P: Pénicilline 10 mg.

Figure 37 : photos des boîtes de Pétri après incubation



Les mécanismes d'actions des composés antibactériens sont très divers. La 11<sup>ème</sup> édition de l'ouvrage « *Manual of Clinical Microbiology* » contient tout un chapitre intitulé « *Antibacterial Agents* » consacré à l'explication des principes d'actions des molécules à effet antibactérien. Il paraît que la majorité de ces derniers sont des inhibiteurs de certaines enzymes bactériennes catalysant des réactions vitales. Par exemple, l'action antibactérienne majeure des pénicillines provient de leur capacité à inhiber de multiples enzymes, à savoir les protéines de liaison à la pénicilline « *penicillin-binding proteins (PBPs)* », qui catalysent les dernières étapes de la synthèse des peptidoglycanes de la paroi. Pour la gentamicine, c'est un agent bactéricide qui inhibe la synthèse des protéines bactériennes en se liant de façon irréversible à la sous-unité ribosomale 30S de la bactérie. Les ribosomes bactériens liés à l'antibiotique deviennent alors indisponibles pour la traduction de l'ARNm pendant la synthèse des protéines, entraînant ainsi la mort cellulaire. Les autres antibiotiques sont dotés aussi d'autres mécanismes d'actions qui dépendent principalement de leurs propriétés physicochimiques (Lewis and Bush, 2015). On ce qui concerne l'effet du *T.articulata*, ou bien des plantes d'une manière générale, il obéit vraisemblablement aux mêmes principes, mais les cibles peuvent être différentes, ce qui nécessite des études plus poussées à l'échelle moléculaire afin de cerner le mécanisme d'action des drogues végétale.

Djouahri et al. en 2013 a testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles de *T.articulata* sur les mêmes espèces qu'on a utilisé dans notre étude, mais de souches différentes. Ses résultats ont révélé la sensibilité de ces souches aux extraits de l'arbre à une concentration de 50 mg/ml. Dans une autre publication, l'auteur a mis aussi en évidence leurs sensibilités à l'extrait hydroalcoolique des cônes, toujours à une concentration de 50 mg/ml. On suggère que ces différences sont dues en premier lieu à la nature des souches utilisées, ensuite aux conditions expérimentales, et enfin la provenance des échantillons de l'arbre.

## 5 Caractérisation de composés phénoliques :

### 5.1 Dosage des composés phénoliques :

L'étude quantitative des extraits bruts au moyen des dosages spectrophotométriques avait pour objectif la détermination de la teneur en composés phénoliques. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués. Les résultats du dosage des composés phénoliques sont groupés dans le tableau ci-dessous (**les courbes d'étalonnage sont présentées en annexe**) :

**Tableau 11:** concentration des composés phénoliques dans les extraits de *T. articulata*.

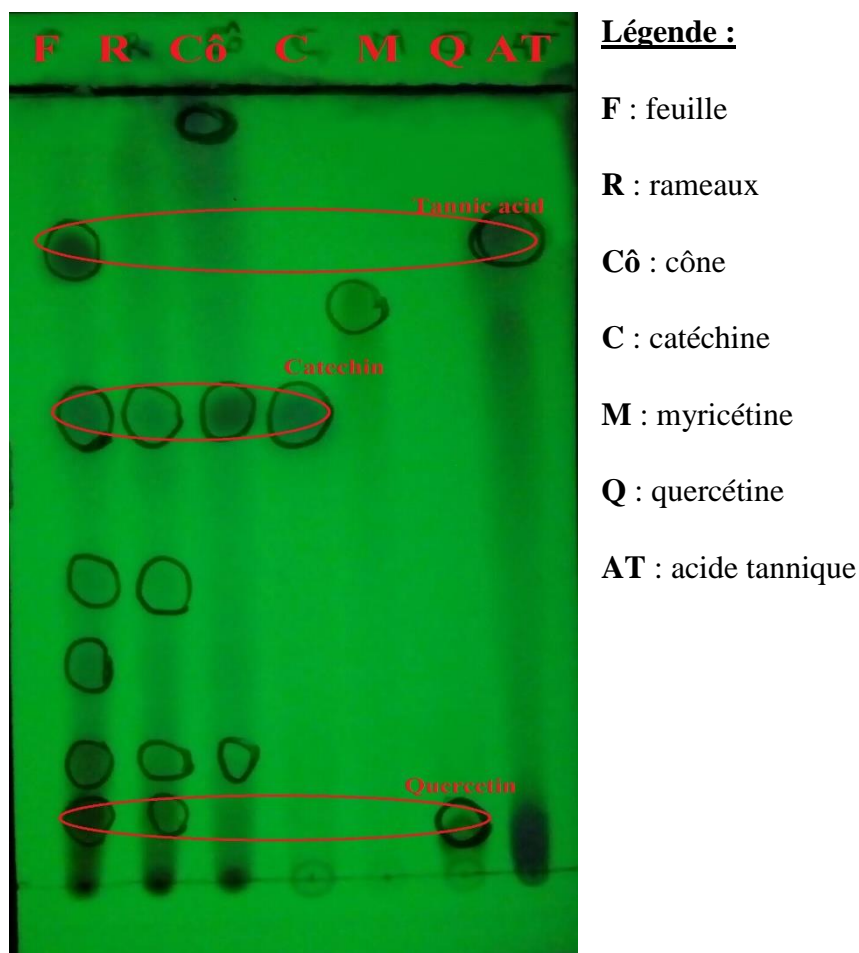
	<b>Phénols totaux (mg eq GA/g)</b>	<b>Flavonoïdes totaux (mg eq C/g)</b>	<b>Flavonols (mg eq M/g)</b>	<b>Tannins condensés (mg eq C/g)</b>	<b>Tannins hydrolysables (mg eq AT/g)</b>
<b>Feuilles</b>	156.4 ± 6.7	69.5 ± 2.6	31.0 ± 1.0	241.3 ± 5.0	189.5 ± 1.0
<b>Rameaux</b>	161.0 ± 4.9	107.3 ± 0.9	10.1 ± 0.5	284.2 ± 6.9	283.2 ± 4.7
<b>Cônes</b>	162.4 ± 5.8	99.1 ± 1.8	2.0 ± 0.2	285.0 ± 6.6	191.5 ± 1.0

Les estimations des phénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés (**tableau 11**) dans les organes de *T. articulata* révèlent une forte présence avec des teneurs supérieures à 100 mg / g d'extrait, ce qui suggère qu'ils sont largement responsables des propriétés thérapeutiques attribuées à cet arbre. La grande quantité de tanins explique aussi l'utilisation des parties de l'arbre dans le tannage des peaux.

### 5.2 Analyse chromatographique :

La chromatographie sur couche mince est la technique qu'on a adoptée dans l'approche qualitative pour la séparation des composés phénoliques des extraits de *T. articulata*. La séparation des molécules résulte de la combinaison de trois paramètres ; d'abord la nature du support chromatographique, ensuite celle des solvants d'élution, et enfin les propriétés chimiques des composés phénoliques. De ces paramètres il ressort que certains éluants sont plus efficaces que d'autres, d'où le choix porté sur le système : **chloroforme/acétate d'éthyle/acide acétique : (9/8/3 : V/V/V)**, et qui a donné les meilleurs résultats. Pour la révélation des chromatogrammes, nous avons opté pour l'observation sous UV, qui est un procédé simple, grâce au produit fluorescent incorporé à la phase stationnaire.

La photo ci-dessous représente la plaque CCM de test révélé sous UV à 254 nm.



**Figure 38:** Plaque CCM (révélation sous UV 254 nm).

Après détection des spots, nous nous sommes basées sur la comparaison des rapports frontaux (**Tableau 12**) des spots obtenus par les extraits avec ceux des témoins afin d'identifier les molécules qui leurs correspondent.

**Tableau 12:** Rapports frontaux des extraits et des témoins.

<b>Feuille</b>	<b>Rameaux</b>	<b>Cônes</b>	<b>Catéchine</b>	<b>Myricétine</b>	<b>Quercétine</b>	<b>Acide tannique</b>
<b>6 spots</b>	<b>4 spots</b>	<b>3 spots</b>	<b>1 spot</b>	<b>1 spot</b>	<b>1 spot</b>	<b>1 spot</b>
<u>0,08</u>	<u>0,08</u>	/	/	/	<u>0,08</u>	/
0,16	0,16	0,16	/	/	/	/
0,28	/	/	/	/	/	/
0,39	0,39	/	/	/	/	/
<u>0,60</u>	<u>0,60</u>	<u>0,60</u>	<u>0,60</u>	/	/	/
/	/	/	/	0,73	/	/
<u>0,81</u>	/	/	/	/	/	<u>0,81</u>
/	/	0,95	/	/	/	/

Le système de solvants utilisé a permis une meilleure séparation des molécules contenues dans les extraits de *T.articulata* qui se sont bien solubilisées dans ce mélange de solvants. Nous avons

observé jusqu'à six spots dans l'extrait des feuilles indiquant la séparation de molécules différentes, quatre dans l'extrait des rameaux dont ils ont les mêmes rapports frontaux avec quelques spots des feuilles, et trois dans l'extrait des cônes, dont deux, sont similaires à d'autres dans l'extrait des feuilles et des rameaux. Ces résultats suggèrent que l'extrait des feuilles et des rameaux renferme beaucoup plus de composés identiques. La comparaison avec les standards phénoliques a révélé la présence de deux flavonoïdes majeurs, la catéchine et la quercétine (**Fig 38**). La catéchine a été identifiée dans tous les organes. La quercétine n'a été identifiée que dans les feuilles et les rameaux. Des recherches antérieures avaient identifié les mêmes composés dans les feuilles de *T. articulata* (Dane et al., 2016; Zidane et al., 2014). Alors que notre CCM avait montré, en plus, la présence d'acide tannique dans les feuilles. D'autres parts, des analyses chromatographiques d'une étude très récente réalisée par Rached et al., en 2018 ont révélé que les composés flavan-3-ols sont les composés phénoliques prédominants dans plusieurs extraits des feuilles, représentant en moyenne 71 % de la composition phénolique.

En ce qui concerne les activités biologiques des composés identifiés, Zidane et al ont commenté que la quercétine, qui a été identifiée dans les feuilles et les rameaux, avait été décrite comme un agent antihypertenseur efficace dans plusieurs modèles expérimentaux d'hypertension chez le rat lorsqu'elle était administrée à la dose de 10 mg/kg de poids corporel. Cependant, la catéchine identifiée dans nos extraits a également induit une vasorelaxation qui a été étudiée dans différents modèles expérimentaux (Andriambelason et al., 1997). D'une manière générale, Bruneton dans son ouvrage "Pharmacognosie" (2016) a précisé que la principale propriété initialement reconnus aux flavonoïdes et d'être « véino-actifs ». L'auteur a évoqué aussi l'effet antiradicalaire des flavonoïdes qui a été mis en évidence dans diverses circonstances. L'inhibition enzymatique par les flavonoïdes a été aussi mise en relief dans le même ouvrage, notamment sur les systèmes impliqués dans la réponse immunitaire et l'inflammation. Bruneton a décrit ces propriétés comme étant non spécifique, et elles sont plus ou moins universelles pour un grand nombre de molécules de cette famille.

## **6 Conclusion :**

L'étude ethnobotanique a permis de cerner les principaux usages de thuya du Berberie dans la médecine traditionnelle. Les modèles expérimentaux *in vivo* et *in vitro* ont mis en évidence les activités biologiques de la plante. Les extraits se sont montrés très actifs dans tous les tests à l'exception du test du pouvoir antibactérien qui a été négatif. Enfin les analyses

chromatographiques ont révélé la présence de deux flavonols dans nos extraits à savoir la catéchine et la quercétine est un acide phénolique qui est l'acide tannique.

---

---

## *Conclusion générale*

---

---

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives.

Le présent travail a été mené dans le but de réunir, dans un premier temps, les informations concernant les usages thérapeutiques de *Tetraclinis articulata* (Vahl), pratiqués dans la région de Sidi Bel Abbes, puis testé empiriquement quelques propriétés médicinales de l'arbre en utilisant des modèles expérimentaux *In vivo* et *In vitro*. L'enquête ethnobotanique a révélé que la quasi-totalité des enquêtés connaît «Arrar, العرعار». D'après nos informateurs l'arbre est utilisé principalement dans le domaine de la médecine. Les valeurs d'utilisations (UVs) et les niveaux de fidélités (FLs) révèlent que ses parties aériennes sont utilisées principalement pour pallier les maladies respiratoires, gastriques et dermatologiques. L'investigation pharmacologique a permis de dégager une multitude de résultats. Les extraits des parties aériennes ne sont pas toxiques dont la DL50 est supérieure à 1000 mg/kg chez les souris. Les extraits ont révélé ainsi des propriétés antiinflammatoires, analgésiques, antipyrétiques considérables en comparaison avec des traitements et des molécules de références. L'inhibition de la synthèse ou de la libération de médiateurs chimiques responsables de ces affections peut être leurs principaux mécanismes d'action. Les tests de l'activité antibactérienne ont révélé que les souches testées ne sont pas sensibles à nos extraits. La caractérisation des composés phénoliques a révélé quelques différences quantitatives et qualitatives entre les trois extraits. La catéchine a été détectée dans tous les organes. La quercétine a été détectée dans les feuilles et les rameaux et l'acide tannique n'a été trouvé que dans les feuilles.

Les résultats de cette étude sont prometteurs et en quelque sorte ils ont vérifié empiriquement l'efficacité de la plante contre un certain nombre états pathologiques. Afin de compléter ce travail dans le but d'identifier les composés actifs à partir d'extraits possédant une activité pharmacologique et élucider leur mécanisme d'action, nous envisageons :

- La réalisation d'une étude phytochimique approfondie qui consiste en : la purification, l'identification, caractérisation des composés actifs ;
- L'élucidation de leur mécanisme d'action potentiel à différents niveaux : voies métaboliques clés et processus cellulaires impliqués.

- L'évaluation de l'innocuité de fractions actives et/ou molécules par des tests de toxicité plus approfondis et ensuite la validation de l'efficacité par des études cliniques.

Enfin, la validation de l'usage des drogues végétales comme remède traditionnel pourrait constituer un moyen complémentaire dans le traitement de quelques états pathologiques et pourrait aussi être introduit dans le système de soin conventionnel.



---

---

## *Références bibliographiques*

---

---

**‘Les références bibliographiques sont citées selon le modèle « Elsevier-Harvard (with titles) » en utilisant logiciel de gestion des références ZOTERO (version 4.0.29.17)’**

### *Lettre A*

- Abdullahi, A.A., 2011. Trends and Challenges of Traditional Medicine in Africa. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 8, 115–123. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v8i5S.5>
- Abi-Ayada, F., Abi-Ayada, M., Lazzounia, H., Rebiahib, S., 2011. Bessiere, Antibacterial activity of essential oil extracted from leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters from Algeria flora. *J. Microbiol. Biotechnol. Res.* 1, 1–6.
- Ait, I.M., Holeman, M., Ildrissi, A., Berrada, M., 1990. Contribution to the essential oil study of *Tetraclinis articulata* terminal branches and wood. *Plant Med Phytother* 24, 36–43.
- Amine, D., Lamiae, B., Mohamed, B., Jamal, I., Laila, N., 2015. etude ethnobotanique au moyen atlas central. *Eur. Sci. J.*
- Amoo, S.O., Aremu, A.O., Moyo, M., Van Staden, J., 2012. Antioxidant and acetylcholinesterase-inhibitory properties of long-term stored medicinal plants. *BMC Complement. Altern. Med.* 12, 87. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-87>
- Andriambelason, E., Kleschyov, A.L., Muller, B., Beretz, A., Stoclet, J.C., Andriantsitohaina, R., 1997. Nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta. *Br. J. Pharmacol.* 120, 1053–1058. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701011>
- Armstrong, D., Stratton, R.D., 2016. *Oxidative Stress and Antioxidant Protection: The Science of Free Radical Biology and Disease*, John Wiley & Sons. ed. John Wiley & Sons, New Jersey.

### *Lettre B*

- Baba aissa F., 2000. *Encyclopédie des plantes utiles. Flore d’Algérie et du Maghreb. Substances végétales d’Afrique, d’Orient et d’Occident*, Librairie Moderne. ed. Alger.
- Bahri, F., Romane, A., Höferl, M., Wanner, J., Schmidt, E., Jirovetz, L., 2016. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Algerian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *J. Essent. Oil Res.* 28, 42–48. <https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1076739>
- Barnert, J., Messmann, H., 2008. Management of lower gastrointestinal tract bleeding. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol., Upper and Lower Intestinal Tract Bleeding* 22, 295–312. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2007.10.024>

- Barnes, J., Anderson, L.A., Phillipson, J. D., Barnes, J., Phillipson, J. David, 2007. Herbal medicines, 3rd ed. ed. Pharmaceutical Press, London.
- Bellakhdar, J., 2003. Le Maghreb à travers ses plantes : plantes, productions végétales et traditions au Maghreb. Editions Le Fennec.
- Bellakhdar, J., 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle : médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis press, Paris.
- Bellakhdar, J., Claisse, R., Fleurentin, J., Younos, C., 1991. Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. *J. Ethnopharmacol.* 35, 123–143. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90064-K](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90064-K)
- Ben Jemia, M., Chaabane, S., Senatore, F., Bruno, M., Kchouk, M.E., 2013. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and extract of Tunisian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.(Cupressaceae). *Nat. Prod. Res.* 27, 1419–1430.
- Benhammou, N., Bekkara, F.A., Kadifkova Panovska, T., 2009. Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Comptes Rendus Chim.* 12, 1259–1266. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2009.02.004>
- Benkhnigou, O., Hachi, M., Fadli, M., Douira, A., Zidane, L., 2016. Catalogue of the medicinal plants used in the treatment of urinary infections in the area of al-haouz rhamna (central morocco). *Eur J Bot Plant Sci Phyt* 3, 1–49.
- Bennett, B.C., Balick, M.J., 2014. Does the name really matter? The importance of botanical nomenclature and plant taxonomy in biomedical research. *J. Ethnopharmacol.* 152, 387–392. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.11.042>
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Anal. Biochem.* 239, 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., Ruberto, G., 2013. Herbalists and wild medicinal plants in M’Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *J. Ethnopharmacol.* 148, 395–402. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.082>
- Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., Chaouch, A., 2007. Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l’huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. *Afr. Sci. Rev. Int. Sci. Technol.* 3.
- Bourkhiss, M., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., Satrani, B., 2010. propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *tetraclinis articulata* (vahl) masters du maroc. *Bull. Société R. Sci. Liège.*

- Bourkhiss, M., Lakhlifi, T., Chaouch, A., Ouhssine, M., 2016. Intérêt de l'huile essentielle du thuya de Berberie. *Phytothérapie* 14, 109–111. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0980-9>
- Bruneton, J., 2016. *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales*, 5e édition. ed. Tec & Doc Lavoisier, paris.
- Buhagiar, J., Podestà, M.C., Cioni, P., Flamini, G., Morelli, I., 2000. Essential oil composition of different parts of *Tetraclinis articulata*. *J. Essent. Oil Res.* 12, 29–32.
- Buhagiar, J.A., Podesta, M.T., Wilson, A.P., Micallef, M.J., Ali, S., 1999. The induction of apoptosis in human melanoma, breast and ovarian cancer cell lines using an essential oil extract from the conifer *Tetraclinis articulata*. *Anticancer Res.* 19, 5435–5443.
- Busia, K., 2005. Medical provision in africa – past and present. *Phytother. Res.* 19, 919–923. <https://doi.org/10.1002/ptr.1775>
- Byg, A., Balslev, H., 2001. Diversity and use of palms in Zahamena, eastern Madagascar. *Biodivers. Conserv.* 10, 951–970. <https://doi.org/10.1023/A:1016640713643>

### *Lettre C*

- Centre for Mediterranean Cooperation, I.U. for C. of N. and N.R., Union internationale pour la conservation de la nature et de ses ressources, 2005. *A guide to medicinal plants in North Africa*. IUCN Centre for Mediterranean Cooperation, Spain.
- Chan, K., Shaw, D., Simmonds, M.S.J., Leon, C.J., Xu, Q., Lu, A., Sutherland, I., Ignatova, S., Zhu, Y.-P., Verpoorte, R., Williamson, E.M., Duez, P., 2012. Good practice in reviewing and publishing studies on herbal medicine, with special emphasis on traditional Chinese medicine and Chinese materia medica. *J. Ethnopharmacol., Good Practice in Traditional Chinese Medicine Research in the Post-genomic Era* 140, 469–475. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.01.038>
- Cheurfa, M., Allem, R., 2016. Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) d'Algérie in vitro. *Phytothérapie* 14, 181–187. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0969-4>
- Chew, Y.-L., Goh, J.-K., Lim, Y.-Y., 2009. Assessment of in vitro antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia. *Food Chem.* 116, 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.091>

- Chikhoun, A., Hazzit, M., Kerbouche, L., Baaliouamer, A., Aissat, K., 2013. *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters essential oils: chemical composition and biological activities. *J. Essent. Oil Res.* 25, 300–307. <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.774625>
- Chow, Y.L., Erdtman, H., 1960. Totarolone, a new diterpene ketophenol from [heartwood of] *Tetraclinis articulata*. *Acta Chem. Scand.* 14, 1852–3.
- Cohen, Y., Jacquot, C., Valette, G., 2008. *Pharmacologie*. Elsevier Masson, DL 2008, Issy-les-Moulineaux, France.
- Cos, P., Vlietinck, A.J., Berghe, D.V., Maes, L., 2006. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro “proof-of-concept.” *J. Ethnopharmacol.* 106, 290–302. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.04.003>

### *Lettre D*

- D’amour, F.E., Smith, D.L., 1941. A Method for Determining Loss of Pain Sensation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 72, 74–79.
- Dane, Y., Mouhouche, F., Canela-Garayoa, R., Delpino-Rius, A., 2016. Phytochemical Analysis of Methanolic Extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (Asteraceae), *Juniperus phoenicea* L., and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Arab. J. Sci. Eng.* 41, 2147–2158. <https://doi.org/10.1007/s13369-015-1977-2>
- Delporte, C., Backhouse, N., Negrete, R., Salinas, P., Rivas, P., Cassels, B.K., Feliciano, A.S., 1998. Antipyretic, hypothermic and antiinflammatory activities and metabolites from *Solanum ligustrinum* Lood. *Phytother. Res.* 12, 118–122. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199803\)12:2<118::AID-PTR207>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199803)12:2<118::AID-PTR207>3.0.CO;2-U)
- Djouahri, A., Boualem, S., Boudarene, L., Baaliouamer, A., 2015. Geographic’s variation impact on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils from wood and leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Ind. Crops Prod.* 63, 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.018>
- Djouahri, A., Boudarene, L., 2012. Antioxidant and anti-inflammatory activity of methanolic, chloroform and ethyl acetate extracts of leaves *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters Algerian. *Int J Res Phytochem Pharmacol* 2, 7–11.

- Djouahri, A., Boudarene, L., Sabaou, N., 2013. Phytochemical screening and evaluation of antimicrobial activity of crudes extracts of leaves *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters Algerian. *Int J Pharmacogn. Phytochem Res* 5, 45–50.
- Djouahri, A., Saka, B., Boudarene, L., Benseradj, F., Aberrane, S., Aitmousa, S., Chelghoum, C., Lamari, L., Sabaou, N., Baaliouamer, A., 2014a. In vitro synergistic/antagonistic antibacterial and anti-inflammatory effect of various extracts/essential oil from cones of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters with antibiotic and anti-inflammatory agents. *Ind. Crops Prod.* 56, 60–66.
- Djouahri, A., Saka, B., Boudarene, L., Benseradj, F., Aberrane, S., Aitmousa, S., Chelghoum, C., Lamari, L., Sabaou, N., Baaliouamer, A., 2014b. In vitro synergistic/antagonistic antibacterial and anti-inflammatory effect of various extracts/essential oil from cones of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters with antibiotic and anti-inflammatory agents. *Ind. Crops Prod.* 56, 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.02.035>

### *Lettre E*

- Eddy, N.B., Leimbach, D., 1953. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 107, 385–393.
- Effo, K., Kouakou-Siransy, G., Irie-Nguessan, G., Sawadogo, R., Dally, I., Kamenan, A., Kouakou, L., Kablan-Brou, J., 2013. Acute toxicity and antipyretic activities of a Methanolic extract of *Alchornea cordifolia* leaves. *Pharmacol. Pharm.* 4, 1.
- El Jemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Doukkali, Z., Boudida, E.H., Touati, D., Nejari, R., El Guessabi, L., Cherrah, Y., Alaoui, K., 2017a. Chemical composition, acute toxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Moroccan *Tetraclinis articulata* L. *J. Tradit. Complement. Med.* 7, 281–287.
- El Jemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Doukkali, Z., Boudida, E.H., Touati, D., Nejari, R., El Guessabi, L., Cherrah, Y., Alaoui, K., 2017b. Chemical composition, acute toxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Moroccan *Tetraclinis articulata* L. *J. Tradit. Complement. Med.* <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.06.006>
- Erdtman, H., Rennerfelt, E., 1949. fungicidal properties of some constituents of the heartwood of *tetraclinis-articulata* (vahl) masters. *Acta Chem. Scand.* 3, 906–911.

*Lettre F*

Fakchich, J., Elachouri, M., 2014. Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *J. Ethnopharmacol.* 154, 76–87. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.03.016>

Fennell, C.W., Lindsey, K.L., McGaw, L.J., Sparg, S.G., Stafford, G.I., Elgorashi, E.E., Grace, O.M., van Staden, J., 2004. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicology. *J. Ethnopharmacol.* 94, 205–217. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.05.012>

*Lettre G*

Ghnaya, A.B., Amri, I., Hanana, M., Gargouri, S., Jamoussi, B., Romane, A., Hamrouni, L., 2016. *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters essential oil from Tunisia: Chemical characterization and herbicidal and antifungal activities assessment. *Ind. Crops Prod.* 83, 113–117.

Gurib-Fakim, A., 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol. Aspects Med.* 27, 1–93. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.008>

*Lettre H*

Hadjadj-Aoul, S., Chouieb, M., Loisel, R., 2009. Effet des facteurs environnementaux sur les premiers stades de la régénération naturelle de *Tetraclinis articulata* en Oranie. *Ecol. Mediterr.* 35, 19–30.

Handy, R.L., Moore, P.K., 1998. A comparison of the effects of L-NAME, 7-NI and L-NIL on carrageenan-induced hindpaw oedema and NOS activity. *Br. J. Pharmacol.* 123, 1119–1126. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701735>

Hankenson, F.C., 2013. *Critical Care Management for Laboratory Mice and Rats*, 1 edition. ed. CRC Press, Boca Raton, Fla.

- HassaniM, E., Douiri, E.M., Bammi, J., Zidane, L., Badoc, A., Douira, A., 2013. Plantes médicinales de la Moyenne Moulouya (nord-est du Maroc). *Ethnopharmacologia* 50, 39.
- Heinrich, M., Jager A., 2015. *Ethnopharmacology*, 1st ed. ed. Chichester, West Sussex : Wiley Blackwell.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F., 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytotherapie* 2, 3–6. <https://doi.org/10.1007/s10298-004-0003-8>
- Henriques, M.G., Silva, P.M., Martins, M.A., Flores, C.A., Cunha, F.Q., Assreuy-Filho, J., Cordeiro, R.S., 1987. Mouse paw edema. A new model for inflammation? *Braz. J. Med. Biol. Res. Rev. Bras. Pesqui. Medicas E Biol.* 20, 243–249.
- Herzi, N., Bouajila, J., Camy, S., Romdhane, M., Condoret, J.-S., 2013a. Comparison of different methods for extraction from *Tetraclinis articulata*: yield, chemical composition and antioxidant activity. *Food Chem.* 141, 3537–3545.
- Herzi, N., Camy, S., Bouajila, J., Destrac, P., Romdhane, M., Condoret, J.-S., 2013b. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of *Tetraclinis articulata*: Chemical composition, antioxidant activity and mathematical modeling. *J. Supercrit. Fluids* 82, 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.06.007>
- Hodge, H.C., Sterner, J.H., 1949. Tabulation of Toxicity Classes. *Am. Ind. Hyg. Assoc. Q.* 10, 93–96. <https://doi.org/10.1080/00968204909344159>
- Houghton, P.J., Howes, M.-J., Lee, C.C., Steventon, G., 2007. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. *J. Ethnopharmacol.* 110, 391–400. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.01.032>

### *Lettre 9*

- Ibrahim, M.A., Mohammed, A., Isah, M.B., Aliyu, A.B., 2014. Anti-trypanosomal activity of African medicinal plants: a review update. *J. Ethnopharmacol.* 154, 26–54. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.04.012>



*Lettre J*

- Necas J., Bartosikova L., 2013. Carrageenan. *Vet. Med. (Praha)* 58, 187–205.
- Jain, N.K., Patil, C.S., Singh, A., Kulkarni, S.K., 2001. A simple technique to evaluate inflammatory pain along with anti-inflammatory studies in carrageenan-induced paw edema. *Indian J. Pharmacol.* 33, 114.
- Jorgensen, J.H., Pfaller, M.A. (Eds.), 2015. *Manual of Clinical Microbiology*, 11 edition. ed. ASM Press, Washington.

*Lettre K*

- Kamsu-Foguem, B., Foguem, C., 2014. Adverse drug reactions in some African herbal medicine: literature review and stakeholders' interview. *Integr. Med. Res.* 3, 126–132.  
<https://doi.org/10.1016/j.imr.2014.05.001>

*Lettre L*

- Laguerre, M., Lecomte, J., Villeneuve, P., 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Prog. Lipid Res.* 46, 244–282. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2007.05.002>
- Lahsissene, H., Kahouadji, A., 2010. Analyse ethnobotanique des plantes médicinales et aromatiques de la flore marocaine: cas de la région de Zaër. *Phytothérapie* 8, 202–209.  
<https://doi.org/10.1007/s10298-010-0569-2>
- Landry, Y., Gies, J.-P., 2014. *Pharmacologie - 3e édition: Des cibles à la thérapeutique*, 3e édition. ed. Dunod, Paris.
- Lewis, J., bush, K., 2015. Antibacterial Agents, in: *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press, Washington, DC, p. 2892.
- Lorke, D., 1983. A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch. Toxicol.* 54, 275–287.
- Loux, J.J., DePalma, P.D., Yankell, S.L., 1972. Antipyretic testing of aspirin in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 22, 672–675.
- Lüllmann, H., Mohr, K., Ziegler, A., 1998. *Atlas de poche de pharmacologie*, 2e éd. ed. Flammarion Médecine-Sciences, Paris.

*Lettre M*

- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques, Lausanne.
- Marco, G.J., 1968. A rapid method for evaluation of antioxidants. J. Am. Oil Chem. Soc. 45, 594–598. <https://doi.org/10.1007/BF02668958>
- Martin, G.J., 1995. Ethnobotany: A methods manual, SPRINGER-SCIENCE+BUSINESS MEDIA, B.V. ed. Springer US, United state.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., van Beek, T.A., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chem. 85, 231–237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.007>
- Milton, A.S. (Ed.), 1982. Pyretics and Antipyretics, Handbook of Experimental Pharmacology. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Mole, S., Waterman, P.G., 1987. A Critical Analysis of Techniques for Measuring Tannins in Ecological Studies. I. Techniques for Chemically Defining Tannins. Oecologia 72, 137–147.
- Morán, A., Martín, M.L., Montero, M.J., de Urbina, A.V.O., Sevilla, M.A., Roman, L.S., 1989. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activity of the essential oil of *Artemisia caerulescens* subsp. *gallica*. J. Ethnopharmacol. 27, 307–317. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(89\)90005-6](https://doi.org/10.1016/0378-8741(89)90005-6)
- Moussaouiti, M.E., Talbaoui, A., Gmouh, S., Aberchane, M., Benjouad, A., Bakri, Y., Kamdem, D.P., 2010. Chemical composition and bactericidal evaluation of essential oil of *Tetraclinis articulata* burl wood from Morocco. J. Indian Acad. Wood Sci. 7, 14–18. <https://doi.org/10.1007/s13196-010-0003-2>
- Muhammad, N., Saeed, M., Khan, H., 2012. Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory activity of *Viola betonicifolia* whole plant. BMC Complement. Altern. Med. 12, 59. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-59>
- Mustapha Akhmisse, 2006. Médecine, magie et sorcellerie au Maroc, Eddar Elbeida. ed. Casablanca.

*Lettre N*

- Boizot N., Charpentier J., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cah Techn INRA* 79–82.
- Ndhkala, A.R., Stafford, G.I., Finnie, J.F., Van Staden, J., 2011. Commercial herbal preparations in KwaZulu-Natal, South Africa: The urban face of traditional medicine. *South Afr. J. Bot.*, Special issue on Economic Botany 77, 830–843. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2011.09.002>
- Neuwinger, H.D., 2000. African traditional medicine: a dictionary of plant use and applications. *Afr. Tradit. Med. Dict. Plant Use Appl.*
- Newman, D.J., Cragg, G.M., 2012. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* 75, 311–335. <https://doi.org/10.1021/np200906s>

*Lettre O*

- Obi, E., Akunyili, D.N., Ekpo, B., Orisakwe, O.E., 2006. Heavy metal hazards of Nigerian herbal remedies. *Sci. Total Environ.* 369, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.04.024>

*Lettre P*

- Paschapur, M.S., Patil, M.B., Kumar, R., Patil, S.R., 2009. Evaluation of anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Borassus flabellifer* L. male flowers (inflorescences) in experimental animals. *J. Med. Plants Res.* 3, 049–054.
- Petersson, M., Wiberg, U., Lundeberg, T., Uvnäs-Moberg, K., 2001. Oxytocin decreases carrageenan induced inflammation in rats. *Peptides* 22, 1479–1484.
- Posadas, I., Bucci, M., Roviezzo, F., Rossi, A., Parente, L., Sautebin, L., Cirino, G., 2004. Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *Br. J. Pharmacol.* 142, 331–338. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705650>

Price, M.L., Van Scoyoc, S., Butler, L.G., 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.* 26, 1214–1218. <https://doi.org/10.1021/jf60219a031>

### *Lettre R*

Rached, W., Zeghada, F.Z., Bennaceur, M., Barros, L., Calhella, R.C., Heleno, S., Alves, M.J., Carvalho, A.M., Marouf, A., Ferreira, I.C.F.R., 2018. Phytochemical analysis and assessment of antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and cytotoxic properties of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters leaves. *Ind. Crops Prod.* 112, 460–466. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.037>

Rebahi A, 2015. Répertoire des noms des plantes du Maghreb, Alger-Livres Editions. ed. Alger.

Rivera, D., Allkin, R., Obón, C., Alcaraz, F., Verpoorte, R., Heinrich, M., 2014. What is in a name? The need for accurate scientific nomenclature for plants. *J. Ethnopharmacol.* 152, 393–402. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.12.022>

Roloff, A., Lang, U., Schütt, P., Stimm, B., Weisgerber, H., 2009. Enzyklopädie Der Holzgewächse, Enzyklopädie der Holzgewächse (VCH) Series. Wiley-VCH.

### *Lettre S*

Said, M.E.A., 2016. Contribution des méthodes chiroptiques à l'analyse et à la caractérisation des huiles essentielles. Aix Marseille, France.

Saxton, W.T., 1913. Contributions to the Life-history of *Tetraclinis articulata*, Masters, with some Notes on the Phylogeny of the Cupressoïdeae and Callitroïdeae. *Ann. Bot.* 27, 577–605.

Schlage, C., Mabula, C., Mahunnah, R.L.A., Heinrich, M., 2000. Medicinal Plants of the Washambaa (Tanzania): Documentation and Ethnopharmacological Evaluation. *Plant Biol.* 2, 83–92. <https://doi.org/10.1055/s-2000-296>

Seigue, A., 1985. La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes, Maisonneuve & Larose. ed. Maisonneuve & Larose, Paris.

Sheridan, H., Krenn, L., Jiang, R., Sutherland, I., Ignatova, S., Marmann, A., Liang, X., Sendker, J., 2012. The potential of metabolic fingerprinting as a tool for the

- modernisation of TCM preparations. *J. Ethnopharmacol.* 140, 482–491.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.01.050>
- Sini, M, J., Yaro, H, A., Ayanwuyi, O, L., Aiyelero, M, O., Mallum, M, S., Gamaniel, S, K., 2010. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the root bark of *Combretum sericeum* in rodents. *Afr. J. Biotechnol.* 9, 8872–8876.  
<https://doi.org/10.5897/AJB10.233>
- Sliti, S., Ayadi, S., Dumarcay, S., Khouja, M., Gerardin, P., André, E., Perrin, D., Abderrabba, M., 2016. Evaluation of essential oil composition and antioxidant capacity of hydromethanolic extracts of *Tetraclinis articulata*, depending on location and seasonal variations. *J. Mater. Environ. Sci.* 7, 968–80.
- Steenkamp, V., Stewart, M.J., Curowska, E., Zuckerman, M., 2002. A severe case of multiple metal poisoning in a child treated with a traditional medicine. *Forensic Sci. Int.* 128, 123–126. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(02\)00184-6](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(02)00184-6)
- Stein, C. (Ed.), 2006. *Analgesia*, 2007 edition. ed. Springer, Berlin.
- Street, R.A., Stirk, W.A., Van, J.S., 2008. South African traditional medicinal plant trade-Challenges in regulating quality, safety and efficacy. *J. Ethnopharmacol.* 119, 705–710.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.06.019>
- Sugishita, E., Amagaya, S., Ogihara, Y., 1981. Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. *J. Pharmacobiodyn.* 4, 565–575.
- Sun, T., Ho, C.-T., 2005. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem.* 90, 743–749. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.035>

## *Lettre 7*

- Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z.H., Lyoussi, B., 2007. Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *J. Ethnopharmacol.* 110, 105–117.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.011>
- Taiwe, G.S., Bum, E.N., Talla, E., Dimo, T., Weiss, N., Sidiki, N., Dawe, A., Moto, F.C.O., Dzeufiet, P.D., Waard, M.D., 2011. Antipyretic and antinociceptive effects of *Nauclea latifolia* root decoction and possible mechanisms of action. *Pharm. Biol.* 49, 15–25.  
<https://doi.org/10.3109/13880209.2010.492479>
- Thangaraj, P., 2015. *Pharmacological Assays of Plant-Based Natural Products*, Springer. ed. Springer.

- Toumi, F., 2009. Valorisation de *Tetraclinis articulata* dans la mise en valeur des espèces dégradés dans l'Ouest Algérien, possibilité de culture, régénération et potentialité phyto-bioclimatique de l'espèce. Djilali Liabes, Sidi Bel Abbès.
- Toumi, F., Benyahia, M., Hamel, L., Mohamedi, H., Boudaghen, L., 2011. Étude comparative de la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters originaire d'Algérie. Acta Bot. Gallica 158, 93–100. <https://doi.org/10.1080/12538078.2011.10516257>
- Turner, P.V., Brabb, T., Pekow, C., Vasbinder, M.A., 2011. Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. JAALAS 50, 600–613.

### *Lettre U*

- Uzuner, H., Bauer, R., Fan, T.-P., Guo, D., Dias, A., El-Nezami, H., Efferth, T., Williamson, E.M., Heinrich, M., Robinson, N., Hylands, P.J., Hendry, B.M., Cheng, Y.-C., Xu, Q., 2012. Traditional Chinese medicine research in the post-genomic era: Good practice, priorities, challenges and opportunities. J. Ethnopharmacol., Good Practice in Traditional Chinese Medicine Research in the Post-genomic Era 140, 458–468. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.02.028>

### *Lettre V*

- Van Wyk, B.-E., 2008. A broad review of commercially important southern African medicinal plants. J. Ethnopharmacol., Ethnobotany in South Africa 119, 342–355. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.05.029>
- Vane, J., Ferreira, S., 1978. Inflammation, Springer-Verlag. ed, Handbook of Experimental Pharmacology. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Verschaeve, L., Van Staden, J., 2008. Mutagenic and antimutagenic properties of extracts from South African traditional medicinal plants. J. Ethnopharmacol., Ethnobotany in South Africa 119, 575–587. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.06.007>
- Verspohl, E.J., 2002. Recommended Testing in Diabetes Research. Planta Med. 68, 581–590. <https://doi.org/10.1055/s-2002-32894>

- Villar, E.H.D., 1938. L'aire du *Callitris articulata* en Espagne. Bull. Société Bot. Fr. 85, 4–14.  
<https://doi.org/10.1080/00378941.1938.10834047>
- Vogel, H.G., Hock, F.J., Maas, J., Mayer, D. (Eds.), 2006. Drug Discovery and Evaluation: Safety and Pharmacokinetic Assays, 1 edition. ed. Springer, Berlin; New York.

### *Lettre W*

- Williams, V.L., Victor, J.E., Crouch, N.R., 2013. Red Listed medicinal plants of South Africa: Status, trends, and assessment challenges. South Afr. J. Bot. 86, 23–35.  
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.01.006>
- Web master 1 : Tela Botanica [WWW Document], 2017. . Tela-Bot. URL <https://www.tela-botanica.org/eflore/> (accessed 1.12.17).

### *Lettre Z*

- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 64, 555–559.  
[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)
- Zidane, A., Tits, M., Angenot, L., Wauters, J.-N., Frederich, M., Dib, I., Mekhfi, H., Aziz, M., Bnouham, M., Abdelkhaleq, L., Ziyyat, A., 2014. Phytochemical analysis of *Tetraclinis articulata* in relation to its vasorelaxant property. J. Mater. Environ. Sci. 5, 1368–1375.
- Ziyyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassouli, A., Serhrouchni, M., Benjelloun, W., 1997. Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. J. Ethnopharmacol. 58, 45–54. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00077-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00077-9)

---

---

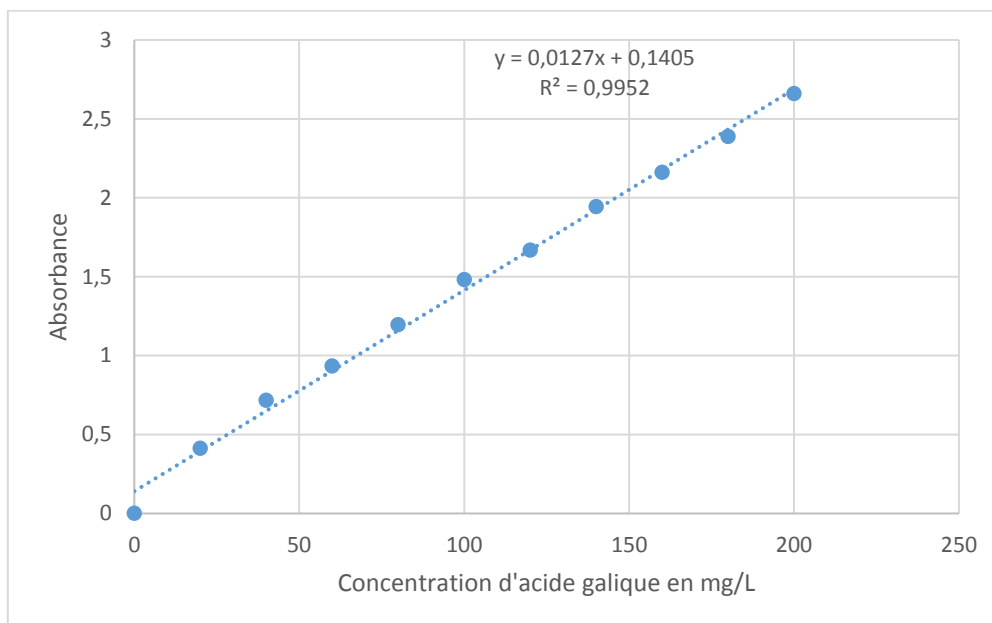
# *Annexe*

---

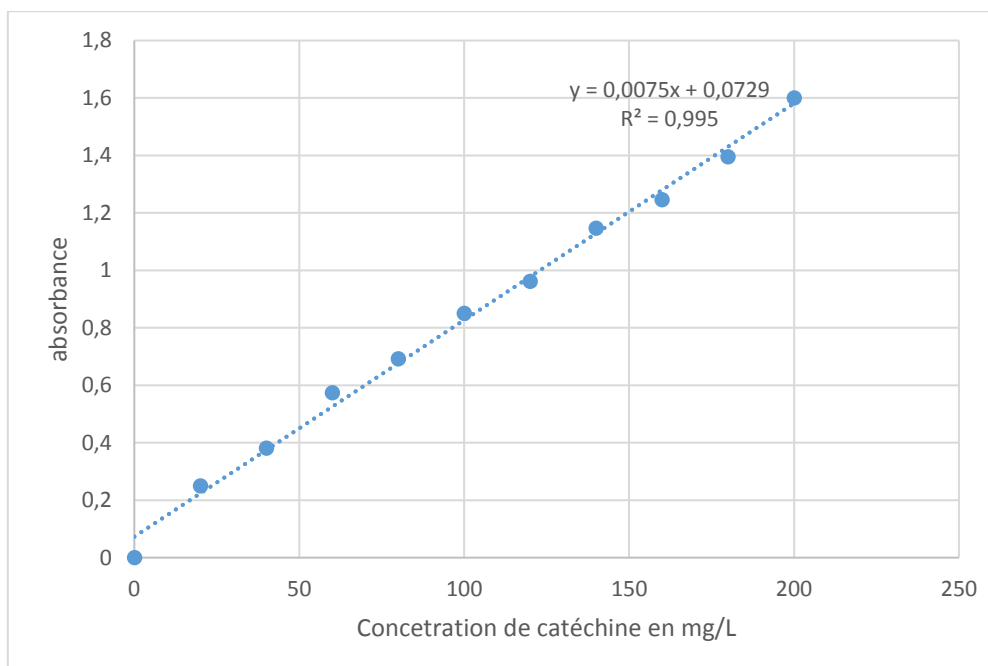
---



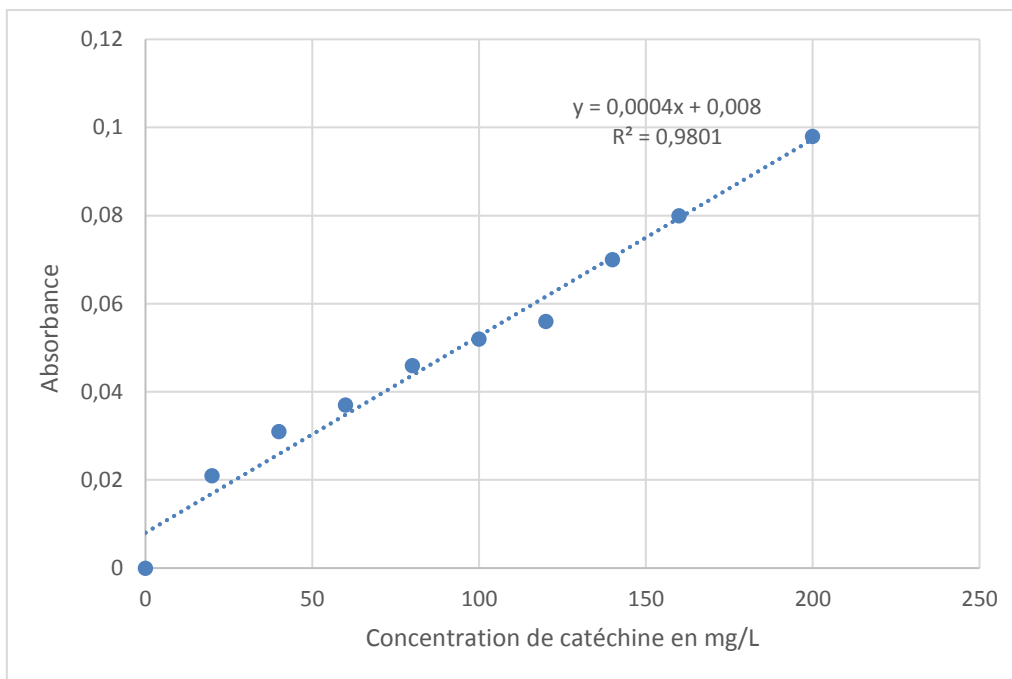
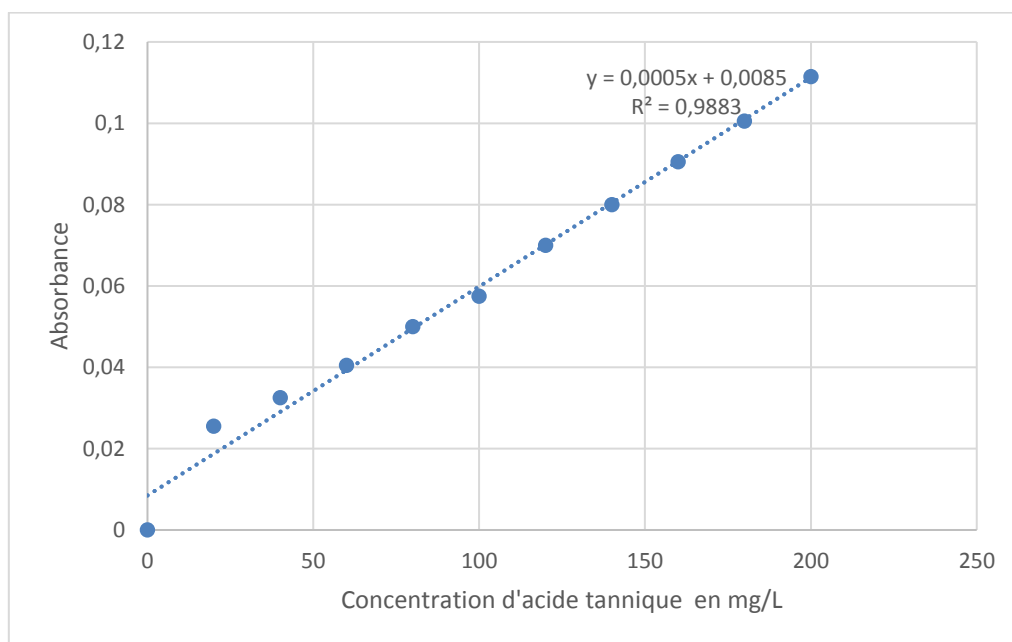
## Courbes d'étalonnages

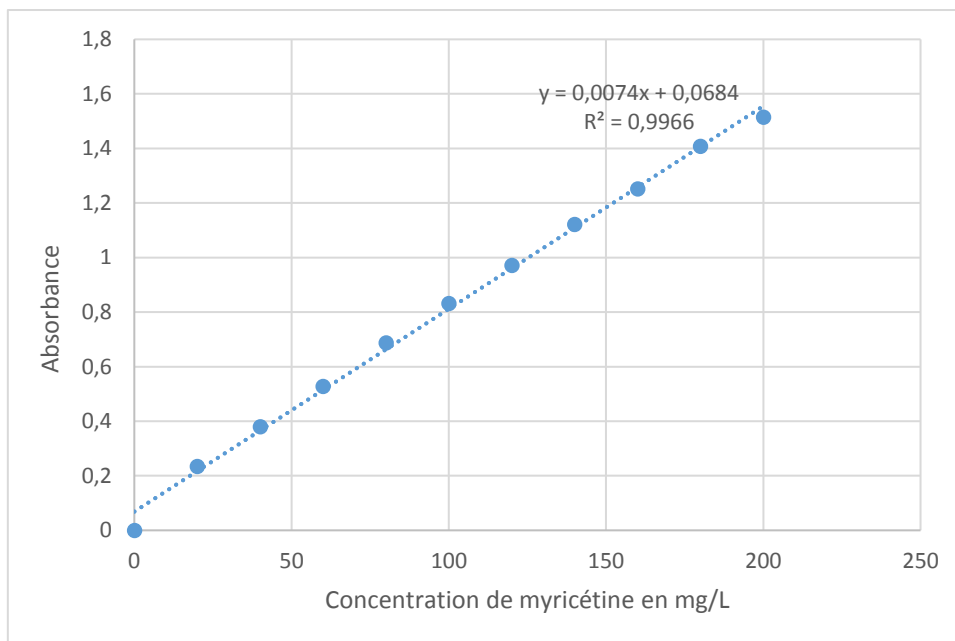
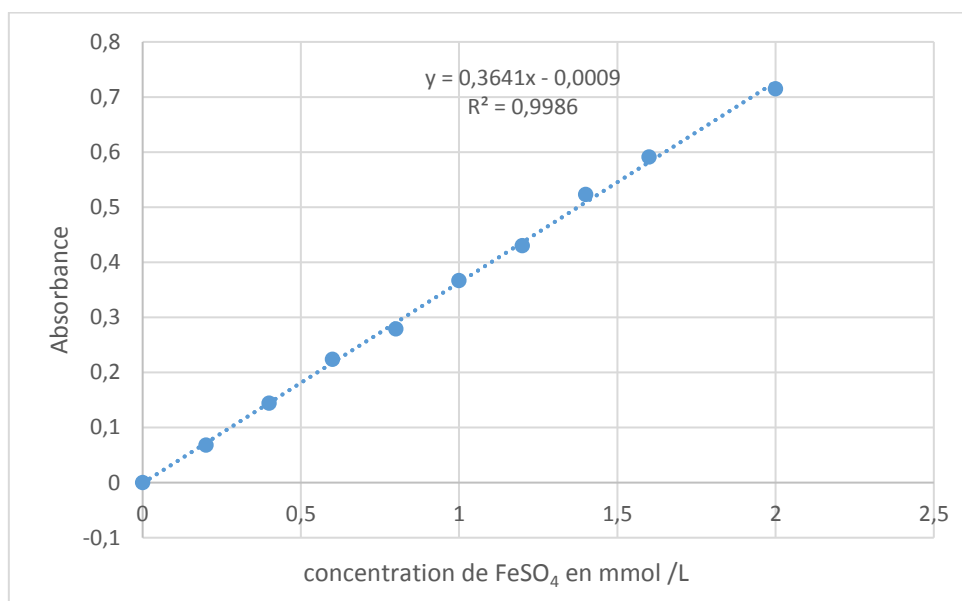


**Courbe d'étalonnage des phénols totaux**



**Courbe d'étalonnage des flavonoides**

**Courbe d'étalonnage des tannins condensés****Courbe d'étalonnage des tannins hydrolysables**

**Courbe d'étalonnage des flavonols****Courbe d'étalonnage pour le test de FRAP**