



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

serie

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمدة لخضر
Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued

كلية علوم الطبيعة و الحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

**Contribution à l'étude phytochimique de l'extrait brut
de *Lepidium sativum* (hab erchad) et leur effet sur
certains maladies**

Présentés Par:

M^{elle} BOUHAMED Raounek

M^{elle} ZIDANE Ouissam

Devant le jury composé de :

- ❖ Présidente: M^{me}. LOUAFI. H M.A.A, Université d'El Oued.
- ❖ Examineur : M^r. TLILI. M Elaid M.A.A, Université d'El Oued.
- ❖ Promotrice: M^{me}. MEDILA .IM.C.A, Université d'El Oued.

- Année universitaire 2018/2019

DÉDICACE

*Avec mes sentiments de gratitudes les plus profonds, Je dédie ce
modeste travail:*

À La lumière de ma vie ; Mes parents :

*Mon père : **ZIDANE Djaafar** et Ma mère : **REKKABI Ghania***

*sans eux je n'est pas pu être ce que je suis, qui ont œuvrés pour ma
réussite, de par*

*de leurs amour, leurs soutiens, tous les sacrifices consentis et leurs
précieux conseils,*

*pour toute assistances et leurs présences dans ma vie, reçoivent à
travers de ce travail*

*aussi modeste soient-ils, l'expression de mes sentiments et de mon
éternelle*

gratitude.

*À mon chère frère : **Dhia eddine***

*A mes amies, ceux que j'ai vécu avec elles des beaux moments au
cours de mon cursus à l'université: Rabab et Ichrak*

À toute ma famille et à tous ceux que j'aime.

Sans oublier ma binôm: Rounek et sa famille.

OUISSAM

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

*l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père
Mouadaa.*

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon coeur, ma vie et mon bonheur ; maman MENIAH Amel que j'adore.

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon mari SOUCI Tarek

A toutes mes soeurs: Doursaf, Sirine ,Mayssa et Chaima.

A mon cher frère: Louai.

Ainsi sa fiancée : Chahinez

A mon oncle : TAMIM

A mes chères amies: Basma, Roumaissa, Ikram et Assia

A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université: Rabab et Ichrak

A tous les étudiants de ma promotion.

Sans oublier ma binôme: Ouissam et sa famille.

Raounek

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier en premier lieu ALLAH, le tout Puissant de nous avoir donné courage, santé et patience pour achever ce travail.

À notre promotrice de mémoire, Mme MEDILA Ifriqya , maître de conference, faculté des sciences de la nature et de la vie -Université d'El Oued , qui nous a fait l'honneur d'accepter de diriger ce mémoire. Hommage respectueux.

Nous tenons à remercier profondément Mme ADAIKA Aicha , doctorante a la faculté de sciences exactes -Université d'El Oued, pour son sérieux et ses efforts, son aide et ses orientation, son ouverture d'esprit et sa vision de la recherche scientifique tout au long de notre travail.

Merci également pour votre disponibilité et votre gentillesse. Nous vous adressons notre profondes reconnaissances pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Mme LOUAFI Hayatte maître assistant classe A, faculté des sciences de la nature et de la vie -Université d'El Oued , pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire. Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance

à Mr TLILI Mouhammed Elaid , maître assistant A, faculté des sciences de la nature et de la vie -Université d'El Oued , d'avoir accepté d'examiner notre travail. nous tenons à lui exprimer notre grand respect.

Un grand merci à toute l'équipe de laboratoire d'EL MEDJED et CENTRE DE PATHOLOGIE Mouhamed ESSAIH ABI MILOUD, service l'anapath, de Touggourt (Ouargla)

pour leurs aides afin d'obtenir des bons résultats.

Nous adressons nos sincères remerciements a Melle GOUBI Sana ingénieur du laboratoire aussi à tout l'ensemble des membres du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université HAMMA LAKHDAR, Eloued.

Enfinement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à tout ce qui ont participent à la réalisation de ce mémoire surtout: Dr Berra Djamilia, Dr Guediri imen et Dr Hani mimouna.

Résumé

Le travail que nous avons entrepris a pour objectif principal d'évaluer les propriétés antioxydantes et hypoglycémiantes (*In vitro et In vivo*), et l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique des grains d'*lepidium sativum*, qui recèle de multiples propriétés médicinales.

In vitro, l'analyse phytochimique de l'extrait des grains a révélé la présence des polyphénols, flavonoïdes, tanins, et saponines. L'évaluation de l'effet antioxydant de cet extrait par deux méthodes d'analyse, spectroscopique (test de DPPH) et électrochimique (test de piégeage le radical superoxyde anion $O_2^{\bullet-}$), a donné des bons résultats. En revanche, l'activité antioxydante totale évaluée par la voltamétrie cyclique est plus importante à celle de l'acide gallique. En fin L'activité antibactérienne a montré un effet antibactérien sur les souches utilisées sauf *E.coli*.

In Vivo, Notre expérimentation a été réalisée sur 20 rattes wistar; divisées en 6 lots, 2 lots traités par une dose de 300mg/kg de *L.sativum* dont un lot exposé au métribuzine pendant un mois et un lot est traité par l'alloxane, et deux lots témoins un témoins pesticide et l'autre témoins alloxane, un lots exposé au metribuzine et traité par un agent chimiothérapeutique le carboplatine et en fin un lots témoin (sein). L'analyse montre une variation significative du poids relatif du foie de groupe exposé au métribuzine et du rein de groupe exposé à l'alloxane. Des changements notables dans les paramètres biochimiques étudiés, aussi pour les paramètres de stress oxydatif chez le lot exposé au métribuzine et lot exposé à l'alloxane. En revanche, le traitement par l'extrait méthanolique et par le carboplatine donne des résultats similaires en normalisant le poids relatif de foie et les paramètres biochimiques étudiés et en diminuant l'état de stress et le taux de glycémie. L'étude histologique a confirmé les résultats biochimiques obtenues.

Mots clés: *Lepidium sativum*, alloxane, métribuzine, rattes *Wistar*, activité antioxydante, Antidiabétique

ملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تقييم خصائص مضادات الأكسدة ونقص السكر في الدم (في المخبر و الجسم الحي) ، والنشاط المضاد للبكتيريا المستخلص الإيثانولي من بذور حب الرشاد ، والذي يحتوي على خصائص طبية متعددة.

في المخبر ، كشف التحليل الكيميائي النباتي لمستخلص الحبوب عن وجود البوليفينولات والفلافونيدات والصابونينات. أعطى تقييم تأثير مضادات الأكسدة لهذا المستخلص بواسطة طريقتين للتحليل ، النشاط المضاد للاكسدة (اختبار DPPH) والكهروكيميائية نتائج جيدة. من ناحية أخرى ، وضحت الفعالية المضادة للاكسدة الاجمالية اهمية المستخلص الايثانولي مقارنة بمحض الغاليك. في الاخير ، أظهر النشاط المضاد للبكتيريا الذي تم تقييمه تأثيراً مضاداً للبكتيريا مقارنة مع السلالات المرجعية.

على مستوى الجسم الحي ، أجريت دراستنا على 20 انثى من الجرذان البيضاء. مقسمة إلى 6 مجموعات ، مجموعتان معالجتان بجرعة 300 ملغم / كغم من مستخلص حب الرشاد، مجموعة واحدة تم تعريضها للميتريبيوزين لمدة شهر، ومجموعة عرضت للالوكسان، ومجموعتان من الجرذان الشاهدة (ميتريبيوزين و الالوكسان)، وهناك مجموعة تتعرض للميتريبيوزين وتعامل مع كاربوباتين و مجموعة من الجرذان الشاهدة (سليمة). أظهرت النتائج المتحصل عليها تبايناً كبيراً في الوزن النسبي في الكبد للمجموعة المعرضة للميتريبيوزين في الكلى للمجموعة المعرضة للالوكسان. هناك تغييرات كبيرة في المعلمات البيوكيميائية التي تمت دراستها ، وأيضاً المعلمات النشاط التأكسدي في المجموعة المعرضة للميتريبيوزين و الالوكسان . من ناحية أخرى ، فإن العلاج بمستخلص الإيثانولي والكاربوباتين يعطي نتائج مماثلة من خلال تطبيع وزن الكبد النسبي والمعلمات البيوكيميائية التي تمت دراستها وتقليل حالة التوتر ومستوى السكر في الدم. كما أكدت الدراسة النسيجية النتائج الكيميائية الحيوية التي تم الحصول عليها.

الكلمات المفتاحية: حب الرشاد، الالوكسان، الميتريبيوزين، جرذان ويستار، نشاط مضاد للأكسدة ، مضاد لمرض السكر.

Abstract

The main aim of the work we have undertaken is to evaluate the antioxidant and hypoglycemic properties (in vitro and in vivo), and the antibacterial activity of the ethanolic extract of lepidium sativum seeds of the *Lepidium sativum* plant, which contains multiple medicinal properties.

In vitro, phytochemical analysis of grain extract revealed the presence of polyphenols, flavonoids, tannins, and saponins. The evaluation of the antioxidant effect of this extract by two methods of analysis, spectroscopic (DPPH test) and electrochemical (trapping test superoxide radical anion $O_2 \cdot^-$), gave good results. On the other hand, the total antioxidant activity evaluated by cyclic voltammetry is greater than that of gallic acid. In the end The antibacterial activity showed an antibacterial effect on the strains used except *E. coli*.

In Vivo, Our experiment was carried out on 20 Wistar rats; divided into 6 batches, 2 batches treated with a 300 mg / kg dose of *L. sativum*, one batch exposed to metribuzin for one month and one batch treated with alloxane, and two batches with one pesticide witness and the other with alloxane, in the end a batch exposed to metribuzin and treated with a chemotherapeutic agent carboplatin and one batch witness (breast). The analysis shows a significant variation in the relative weight of the metribuzin-exposed group liver and the alloxan-exposed group kidney. Significant changes in the biochemical parameters studied, also for the parameters of oxidative stress in the batch exposed to metribuzin and lot exposed to alloxane. On the other hand, treatment with methanolic extract and carboplatin gives similar results by normalizing the relative liver weight and the biochemical parameters studied and decreasing the state of stress and the blood glucose level. The histological study confirmed the biochemical results obtained.

Key words: *L. sativum*, metribuzin, alloxane, Wistar rats, the antioxidant activity, the blood glucose level.


LISTE DES ABRÉVIATIONS

°C : Degrés Celsius C	H : Hydrogène
ADN : Acide ribonucléique	H₂O : eau
AFP : Alpha-FeotoProtéine	H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
ALAT : alanine aminotransferase	H₃PMo₁₂O₄₀ : acide phosphomolybdique
AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium	H₃PW₁₂O₄₀ : acide phosphotungstique
ASAT : aspartateaminotransférase	HPLC : chromatographie liquide haute performance
BHA : butylhydroxyanisole	HCl : Acide chlorhydrique
BHT : Butylhydroxytoluène	IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50
BSA : Sérum bovin albumin	In : Inflammation.
Carbopt : carboplatine	Ipa : courant de pic anodique
cm : centimètre	Ipc : courant de pic cathodique
CO₂ : anhydride carbonique	K₂HPO₄ : Phosphate de potassium dibasique
CPG : chromatographie en phase gazeuse	L.sativum : <i>Lepidium sativum</i>
DDT : Dichlorodiphényltrichloréthane.	M : molaire
DMSO : Dimethyl sulfoxide	MDA : malondialdéhyde
DO : Densité Optique	min : minute
DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle	ml : millilitre
DT : deoxythymidine	mm : millimeter
DTNB : 5,5'-dithiodis-2-nitrobenzoïque	mmol : millimole
E₀ : Potentiel formel	Moy : moyenne
EDTA : Acide éthylène Diamine Tétraacétique	Na₂CO₃ : Bicarbonate de sodium
Epa : potentiel de pic anodique	NaCl : Chlorure de sodium
Epc : potentiel de pic cathodique	NAD⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide
ERO : espèces réactives de l'oxygène	NaHCO₃ : bicarbonate de sodium
ESM : Ecartype moyenne	NH₃ : ammoniac
FeCl₃ : Chlorure de fer	NH₄Cl : Chlorure d'ammonium
FRAP : Ferric ion reducing antioxidant power	nm : nanometer
FVT : Flavonoïdes totaux.	Nm : nanomètre
GSH : Glutathion réduite	NS : différence Non Significantive
GSTs : glutathion-S-transférase	

Nz : Nécrose zonale
O₂^{•-} : superoxide
OH[•] : radical hydroxyle
OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
PAL : phosphatase alcaline
PG : gallate propylé
pH : potentiel Hydrogène pNPP
PPM : PhosPhoMolybdate
PPT : Polyphénols totaux
prot : protein
ROS : Reactive Oxygen Species
SM : métabolites secondaires
TGO : glutamate oxaloacétatetransaminase
TGP : glutamate-pyruvate-transaminase

Tm : Température
TP : Témoin Pesticide
tr/min : Tour par minute.
Tris : Trishydroxyméthylaminométhane
UI/L : Unité internationale par litre.
UV : Ultraviolet
UV-Vis : UltraViolet-Visible.
Vis : Visible
ΔEp : Différence de potential
µg EAG/ mg MS : Microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme de matière sèche.
µg EQ/mg MS : Microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme de matière sèche.
YGT : Gamma Glutamyl Transférase.

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Plante (A) et graines (B) de <i>Lepidium sativum</i>	5
Figure 02	Aspect morphologique de <i>Lepidium sativum</i> :feuilles; b:tiges; c:fleurs; d:grains	6
Figure 03	Carte géographique situant de <i>Lepidium sativum</i> ( Présence de plante)	7
Figure 04	La balance pro-oxydants et antioxydants	13
Figure 05	Les conséquences du stress oxydant	17
Figure 06	structure chimique de l'alloxane	23
Figure 07	Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de pétri	24
Figure 08	Protocole de préparation de l'extrait éthanolique	30
Figure 09	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH•entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH)	34
Figure 10	Voltammogramme cyclique typique pour un simple processus réversible d'oxydoréduction	35
Figure 11	Voltammogramme cyclique d'oxygène	38
Figure 12	Protocole expérimentaledes rattes traitées par pesticide	41
Figure 13	Protocole expérimentaledes rattes traitées par l'alloxane	43
Figure 14	Mécanisme d'action de l'alloxane	44
Figure 15	Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon le sexe	52
Figure 16	Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon l'âge	52
Figure 17	Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon la reconnaissance	53
Figure 18	Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon la source	53
Figure 19	Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon le niveau	54
Figure 20	Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon le mode d'utilisation	55
Figure 21	Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon le mode de préparation	55
Figure 22	Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon la partie utilisé	56
Figure 23	Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête	56

	ethnobotanique selon les maladies traitées	
Figure 24	courbe dosage de polyphénol	59
Figure 25	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique	60
Figure 26	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique	60
Figure 27	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait pâte	61
Figure 28	Valeur IC ₅₀ d'extrait éthanolique de <i>L.Sativum</i> et composé standard (Acide ascorbique)	61
Figure 29	Les courbe d'étalonnage d'acide gallique pour la voltamétrie cyclique	62
Figure 30	Voltampérogramme cyclique d'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i>	64
Figure 31	Voltammogrammes de O ₂ •- en présence de différentes concentrations d'acide gallique, dans le DMF+0.02 M Bu ₄ NBF ₄ , vitesse de balayage 100mv	64
Figure 32	Voltammogrammes de O ₂ •- en présence de différentes concentrations d'extrait pate , dans le DMF + 0.02 M Bu ₄ NBF ₄ , vitesse de balayage 100mv.	65
Figure 33	Evolution du pourcentage d'inhibition de superoxyde en fonction du concentration de l'acide gallique	66
Figure 34	Evolution du pourcentage d'inhibition de superoxyde en fonction du concentration d'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i> .	67
Figure 35	Effet de traitement par l'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i> et le carboplatine sur les enzymes hépatique (TGO, TGP) et le taux de PAL chez les rattes exposées au métribuzine, et les rattes exposées au alloxane	69
Figure36	Effet de traitement par l'extrait éthanolique de <i>L.sativum</i> et le carbopt sur le bilan rénal (urée, acide urique et protéine totaux) et la concentration sérique en glycémie chez les rattes exposées au métribuzine et les rattes injectées par l'alloxane.	70
Figure37	Effet de traitement par l'extrait éthanolique de <i>L.sativum</i> et le Carbopt sur le cholestérol, TG, HDL et LDL sur les rattes exposés au métribuzine et les rattes injectées par l'alloxane	71
Figure38	Effet de traitement par l'extrait pâte de <i>Lepidium sativum</i> et le Carbopt sur AFP et GGT chez les rattes exposées au métribuzine et les rattes injectées par l'alloxane	72
Figure39	Concentration de malondialdéhyde (MDA) hépatique, pulmonaire, rénal et cardiaque chez les différents groupes expérimentaux, avec la rate chez le lot de diabète	74
Figure40	Concentrations tissulaires de catalase chez les différents groupes expérimentaux.	75

Figure41	Concentrations tissulaires de glutathion réduit (GSH) chez les différents groupes expérimentaux.	77
Figure42	Observation microscopique d'une coupe histologique du foie chez les rattes de différents lots (x40) (Photos originales, 2019)	78
Figure43	Observation microscopique d'une coupe histologique du rein chez les rattes de différents lots (x40) (Photos originales, 2019)	80
Figure44	Observation microscopique d'une coupe histologique du poumon chez les rattes de différents lots (x40) (Photos originales, 2019)	81
Figure45	Observation microscopique d'une coupe histologique du cœur chez les rattes de différents lots (x40) (Photos originales, 2019)	82
Figure 46	Observation microscopique d'une coupe histologique du coueur chez les rattes des différents lots (x40) (Photos originales, 2019)	

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 01	La classification scientifique de <i>Lepidium sativum</i>	5
Tableau 02	Noms communs de <i>Lepidium sativum</i>	6
Tableau 03	Les critères de diagnostic (ADA , OMS)	21
Tableau 04	Exprimé le rendement de l'extrait éthanilique de <i>L.sativum</i>	57
Tableau 05	Résultats du criblage phytochimique des graines de <i>Lepidium sativum</i>	58
Tableau 06	Dosage des composés phénoliques dans l'extrait éthanolique	60
Tableau 07	Paramètres électrochimiques des fractions éthanoliques d'extrait éthanolique	63
Tableau 08	Activité antioxydante totale d'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i>	64
Tableau 09	Les intensités du courant d'oxydation (I _{pa}) de l'oxygène et les concentrations dans la cellule ainsi que les pourcentages d'inhibition de superoxyde, pour l'antioxydant standard et l'extrait éthanolique de <i>Lepidium sativum</i>	66
Tableau 10	IC ₅₀ d'acide gallique et d'extrait éthanolique avec les équations linéaire.	67
Tableau 11	Etude de l'activité inhibitrice d'extraits éthanolique de <i>Lepidium sativum</i>	68

Sommaire

Dédicace	
Remerciement	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale.....	01

partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I Généralité sur les plantes médicinales et les métabolites secondaires..	3
I. Généralité sur les plantes médicinales et métabolites secondaires	3
I.1. Généralité sur les plantes médicinales.....	3
I.1.1. Définition des plantes médicinales.....	3
I.1.2. Définition des principes actifs.....	3
I.1.3. Utilisation des plantes en médecine traditionnelle.....	4
I.2. Généralités sur la plante <i>Lepidium sativum</i>	4
I.2.1. La classification.....	4
I.2.1.1. La famille Brassicaceae (crucifères).....	4
I.2.1.2. Le genre <i>Lepidium</i>	4
I.2.1.3. L'espèce <i>Lepidium sativum</i>	4
I.2.2. la Description.....	6
I.2.3. Noms communs	6
I.2.4. Répartition géographique.....	7
I.2.5. Substances bioactives de <i>Lepidium sativum</i>	7
I.2.6. Vertus médicinales de <i>Lepidium sativum</i>	7
I.3. Les métabolites secondaires.....	8
I.3.1. Généralité.....	8
I.3.2. Définition des métabolites secondaires.....	8
I.3.3. Rôle biologique.....	8
I.3.4. Classification.....	8
I.3.4.1 Les composés phénoliques.....	9

I.3.4.3. Les composés Terpénoides.....	11
Chapitre II Les maladies métaboliques et les activités biologiques Synthèse bibliographique.....	13
II. Les maladies métaboliques et les activités biologiques.....	13
II.1. Stress oxydatif et cancer.....	13
II.1.1. Définition de stress oxydatif.....	13
II.1.2. Les radicaux libres.....	14
II.1.2.1. Définition.....	14
II.1.2.2. Les différents types des radicaux libres.....	14
II.1.2.2.1. Les radicaux libres primaires.....	14
II.1.2.2.2. Les radicaux libres secondaires.....	14
II.1.2.2.3. Les espèces actives de l'oxygène.....	14
II.1.2.3. Sources et formation des radicaux libres.....	16
II.1.2.3.1 Origine endogène.....	16
II.1.2.3.2. Origine exogène.....	16
II.1.2.4 Conséquences du stress oxydant.....	16
II.1.2.5. Système de défenses antioxydants.....	17
II.1.2.5.1. Définition.....	17
II.1.2.5.2. Les principaux antioxydants.....	17
II.2. Le cancer.....	18
II.2.1. Généralités sur le cancer.....	19
II.2.1.1. Définition du cancer.....	19
II.2.1.2. Caractéristiques des cellules cancéreuses.....	19
II.2.1.3. Les plantes médicinales et traitement anticancer.....	19
II.3. Diabète et critères de diagnostics.....	20
II.3.1- Définition de diabète.....	20
II.3.2. Les critères de diagnostic (ADA , OMS).....	21
II. 3.3- Classification étiologique de diabète sucrés:.....	21
II. 3.3.3- Autre type de diabète.....	22
II. 3.4. Diabète induit par l'alloxane.....	22
II. 3.4.1. Définition de l'alloxane.....	22
II. 3.4.2. Structure de l'alloxane.....	22

II. 3.4.3.Fonction.....	22
II.4. Activité antibactérienne.....	23
II.4.1.Définition.....	23
II.4.2.Antibiotique.....	23
II.4.3 Aromatogramme.....	24

partie II : Partie expérimental

Chapitre I: Matériels et méthodes.....	27
I. Matériels et méthodes.....	27
I.1. Matériels.....	27
I.1.1. Matériels biologiques.....	27
I.1.1.1. Matériel Végétal.....	27
I.1.1.2. Les microorganismes utilisés : (Souches microbiennes).....	27
I.1.1.3. Matériel animal.....	28
I.1.1.4. Enquête ethnobotanique.....	29
I.1.1.5 Appareillage et reactifs utilisées.....	29
I. 2.Méthodes.....	29
I.2.1. Préparation des extraits.....	29
I.2.1.1. Extraction par macération à l' éthanol.....	29
I.2.1.2. Détermination du rendement.....	29
I.2.2. Etude in vitro.....	31
I.2.2.1. Les tests phytochimiques.....	31
I.2.2.2. Analyse quantitative des composés phénoliques.....	32
I.2.2.3. Etude de l' activité antioxydant.....	33
I.2.2.4. Evaluation de l' activité antimicrobienne de l'extrait.....	38
I.2.2.4.1. Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme.....	39
I.2.2.4.2. Test de sensibilité aux extraits bruts des plantes antibioaromatogramme...	39
I.2.3. Etude in vivo.....	40
I.2.3.1. Préparation de la solution du pesticide.....	40
I.2.3.2. Préparation des solutions des extraits végétaux.....	40
I.2.3.3. Préparation le médicament de carboplatine.....	40
I.2.3.4. Conception expérimentale.....	40
I.2.3.5. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes.....	42

I.2.3.5.1 Méthodes de l' analyse sanguine.....	42
I.2.3.5.2 Prélèvement de certains organes.....	45
I.2.4. Analyses statistiques.....	49
Chapitre II:Résultats et Discussion.....	52
II.1. Résultats et interprétation.....	52
II.1.1. Enquête ethnobotanique.....	52
II.1.2. Rendement d'extraits éthanolique.....	57
II.1.4.Analyse quantitative des composés phénoliques.....	58
II.1.4.1.Teneur en polyphenols totaux (PPT).....	58
II.1.4.2.Teneurs en flavonoïdetotau(FVT)	59
II.1.5.Etude de l' activité antioxydant.....	60
II.1.5.1.Par méthode spectrométrique.....	60
II.1.5.2.Par méthode electrochimique.....	62
II.1.6.Etude de l'activité antibactérienne d'extraits brut de <i>Lepidium sativum</i>	67
II.1.7. Effet de traitement par l'extrait de <i>Lepidium sativum</i> et le Carboplatine chez les rattes exposées au métribuzine et les ratte diabétique.....	68
II.1.7.1. Effet sur le poids relatif des organes.....	68
II.1.7.2Effet sur les paramètres biochimiques.....	70
II.1.7.3.Effet sur les paramètres de stress oxydatif.....	75
Conclusion générale.....	82
Références bibliographique.....	84

Introduction

Introduction

Les plantes ont été utilisées par l'homme, depuis la période préhistorique, comme une source principale de nourriture. Ensuite, leur intérêt s'est développé pour être employées comme médicaments et remèdes à fin de soigner les différentes maladies (**Damintoti et al., 2005**). Selon les statistiques récentes, les deux tiers des médicaments actuels commercialisés sont d'origine naturelle (**Saatchi et al., 2011**). Ils ont été obtenus par hémisynthèse à partir d'un pharmacophore ou par modification des produits naturels ; composés issus des biotechnologies, vaccins, composés d'origine végétale, microbiologique ou animale. Seul un tiers des médicaments possède donc une origine purement synthétique (**Verpoorte et al., 2002**).

Autrement dit, environ 60% des médicaments anticancéreux et 75% des composés destinés pour le traitement des maladies infectieuses sont des produits naturels ou leurs dérivés (**Yangthong et al., 2009; Kilani-Jaziri et al., 2011**). De plus, parmi les 300 000 espèces végétales recensées, seulement 15% d'entre elles ont été étudiées sur le plan phytochimique, (**Oyedemi et Afolayan, 2011**). Ces informations semblent justifier que les plantes constituent des réservoirs de molécules bioactives encore peu explorées.

Deux groupes de métabolites ont été distingués, primaires et secondaires (**Hartmann, 2007**). Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Quant aux métabolites secondaires, ce sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale. Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils ont un intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie et constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés anti oxydantes, antifongiques, anti-inflammatoires et/ou mutagènes (**Epifano et al., 2007**); telle que *Lepidium sativum*, *Centaurea nigra*, *Nauplius graveolens*.

La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale, et la recherche trouve dans les plantes des molécules actives nouvelles ou des matières premières pour la hémisynthèse de composés actifs.

Le règne végétal constitue donc, une source inépuisable de nouvelles molécules utilisables directement comme principes actifs ou pouvant servir comme molécules guides pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques.

La flore algérienne regorge de plusieurs espèces des plantes encore peu ou pas étudiées, mais dotées de réelles propriétés pharmacologiques (**Graham et al., 2000 ; Bnouham et al., 2002 ; Gonzalez-Tejero et al., 2008**). Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques (**Ozenda, 1977**). *Lepidium sativum* ; plante fait partie de ces dernières, est utilisée traditionnellement dans les régions paysannes dans le traitement des brûlures cutanées et dans de nombreuses régions du monde comme anti inflammatoire, antimicrobienne (**Ben Mohamed, 1992**). Alors, que *Lepidium sativum* est utilisée dans le traitement des maux de gorge, l'asthme et les maux de tête (**Datta et al., 2011**). Et les maladies chroniques tels que le diabète ,le stress oxydant et le cancer .

Une étude bibliographique, réalisée sur cette espèce, a montré que l'on ne dispose que de peu d'informations de nature chimique. Pour pallier ce manque d'informations, l'étude s'est focalisée sur les analyses phytochimique.

Les principales parties de ce travail se résument comme suit :

La première partie consacrée à l'étude bibliographique est divisé en deux chapitres :

- Le première chapitre donne un aperçu sur les métabolites secondaire et dédié à une description botanique générale de l'espèce étudié (*Lepidium sativum*) et leurs répartitions géographiques.
- Le deuxième chapitre comporte les maladies métabolique et les activités biologique.

Dans la deuxième partie, divisé en deux chapitres, nous avons axé sur le matériel et les méthodes utilisés dans notre travail : le matériel d'étude, méthodes utilisées pour l'extraction, le dosage colorimétrique (des polyphénols et des flavonoïdes), les activités antioxydantes, l'activité antalgique de l'extrait méthanolique de notre plante.

Les résultats et la discussion de chaque expérimentation de notre travail, sont exposés dans le deuxième chapitre de cette partie.

Pour terminer, une conclusion sur l'ensemble de cette étude .

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Généralité sur les plantes médicinales et les métabolites secondaires

I. Chapitre Généralité sur les plantes médicinales et métabolites secondaires

I.1. Généralité sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales et aromatiques ont connus ces dernières années un important regain d'intérêt et ceci devant le recul des produits chimiques (**Baba Aissa, 2000**). La diversité de leur utilisation (pharmacologie, cosmétique, fabrication de détergents, teinture et produits de massage) a accru la demande, surtout en huiles essentielles. Cette demande a été étendue aux études de la valorisation des ressources phytogénétiques (biopesticides, pratique des cultures associées, industrie cosmétique, bioprospection, etc...). Les plantes médicinales portent à la fois sur les plantes spontanées dites « sauvage » ou « de cueillette » et sur les plantes cultivées.

I.1.1. Définition des plantes médicinales

Dans le code de la santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France « une plante » est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (**Mbojd, 2003**).

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

I. 1.2. Définition des principes actifs

Les effets bénéfiques des plantes sur la santé sont dus au fait qu'elles contiennent des substances appelées principes actifs, responsables de leurs effets thérapeutiques (**Jörg & Christof, 2007**).

Les plantes produisent un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures, ces composés sont appelés métabolites secondaires (**Ramawat & Merillon, 2008**).

Les métabolites secondaires sont des substances indirectement essentiels à la vie de la plante, ils participent à l'adaptation de la plante avec son environnement, à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température,...) et à la défense contre les pathogènes (moisissures et bactéries phytopathogènes,...) (**Sarni & Cheynier, 2006**).

On distingue trois principales classes des métabolites secondaires:

Les Composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes et stéroïdes (**Ramawat et Merillon, 2008**).

I .1.3.Utilisation des plantes en médecine traditionnelle

L'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde, notamment celle des pays en voie de développement où plus de 80 % de la population ont recourt presque exclusivement à la médecine traditionnelle pour ses besoins de santé primaire, du fait de son incapacité à accéder, voire bénéficier des vertus de la médecine moderne (**Rates,2001 ;Belkhir, 2013**).

Parmi ces plantes on trouve *Lepidium sativum*

I.2.Généralités sur la plante *Lepidium sativum*

I.2.1.La classification

I.2.1.1.La famille Brassicaceae (crucifères)

Les Brassicaceae sont cosmopolites, certaines se sont adaptées à des milieux particuliers, comme les montagnes ou les déserts, présentent une lignification poussée et une surface foliaire réduite. Cette famille des Crucifères est très homogène, très évoluée, facile à définir et très reconnaissable par ces fleurs à pétales disposés en croix, d'où le nom de crucifère (du latin « cruce[m] ferre », porter une croix) (**Guingard et Dupont, 2004**). La famille des crucifères est représentée par 10 tribus en Algérie (**Maire, 1967**).

I .2.1.2.Le genre *Lepidium*

Le genre *Lepidium* est constitué d'environ 175 espèces, largement distribuées à travers le monde, sur tous les continents. C'est l'un des genres les plus représentés de la famille des Brassicacées. Peu d'informations sont connues sur la période d'apparition de ce genre. Il semble que celui-ci soit originaire du bassin méditerranéen, où la plupart des espèces diploïdes ont été trouvées (**Dupont, 2004**).

Lepidium est la transcription du grec lepidion qui signifie petite coquille. Ce sont des plantes annuelles, vivaces ou sous-ligneuse, à fleurs petites, blanches, rose ou violacées, caractérisées par la silicule déhiscente, à loge renfermant une ou rarement deux graines (**Pierrick,2013**).

I.2.1.3.L'espèce *Lepidium sativum*

Lepidium sativum est le nom botanique du cresson alénois (ou passeraige cultivée), une plante médicinale bien connue (**Dupont, 2004**).

Tableau 01: La classification scientifique de *Lepidium sativum* (Friedel, 1904).

Règne	Plantae (plante)
Sous-règne	Tracheobionta (plantevasculaires)
Dévision	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Famille	Brassicaceae
Genre	Lepidium
Espèce	<i>Lepidium sativum</i>

**Figure 01 :** Plante (A) et graines (B) de *Lepidium sativum* (George, 1999).**D:**diamètre des grains de *L.sativum*

I.2.2.1a Description

Lepidium sativum est une plante annuelle de croissance rapide. Elle développe en quelques mois une plante haute (figure 2.a) de 20 à 50cm au moment de la floraison(figure 2.b). Les inflorescences sont apicales : quelques groupes de petites fleurs blanches (figure 2.c) à 4 pétales. Les graines sont produites par 2 dans de petites siliques dressées (figure 2.d), longue de 2 à 3 cm. les graines sont allongées, brun rouge(*George,1999*).

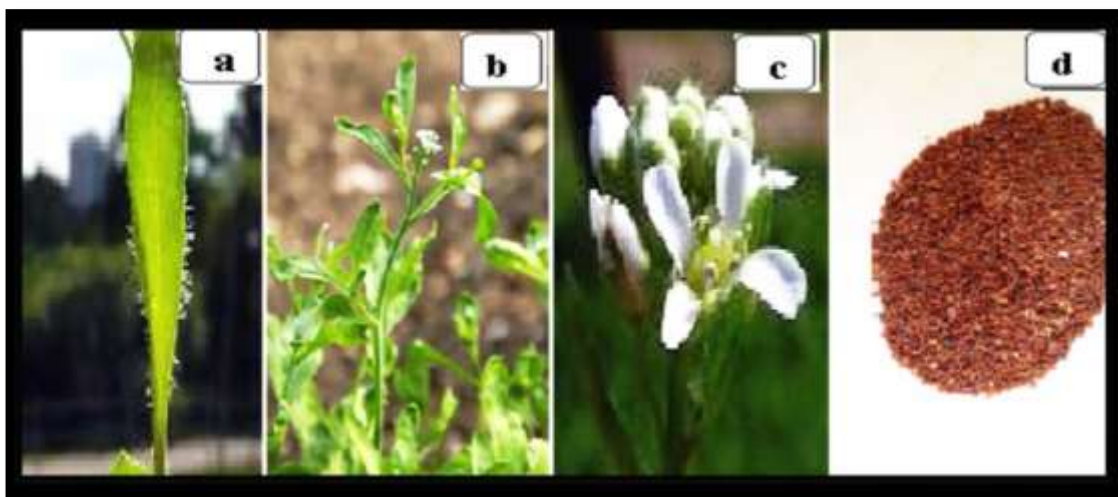


Figure 02 : Aspect morphologique de *Lepidium sativum*
a:feuilles; b:tiges; c:fleurs; d:grains (*George,1999*).

I .2.3.Noms communs

Tableau 02 : Noms communs de *Lepidium sativum*(*Friedel, 1904*).

Langue	Nom
Arabe	حب الرشاد
Français	Cresson alénois
Français	Passeragecultivée
Italie	Crescioneinglese
Anglais	Garden pepperwort
Anglais	Garden cress
Anglais	Upland cress
Allemand	Gartenkresse
Latien	<i>Lepidium sativum</i>

I .2.4.Répartition géographique

L'origine du cresson alénois est assez floue : Afrique du Nord ou de l'Est, Moyen-Orient, Asie de l'Ouest, mais on pense qu'il pourrait s'agir de l'Éthiopie et des pays avoisinants. Sa domestication s'est probablement faite en Asie occidentale. Il était cultivé dans l'Antiquité en Grèce et en Italie et peut-être aussi en Égypte. On le cultive aujourd'hui dans le monde entier, y compris la plupart des pays africains, mais surtout à petite échelle dans les jardins familiaux. On le trouve aussi dans la nature, échappé des cultures, mais on ne sait pas s'il existe quelque part à l'état sauvage (Gregory, 2007).



Figure 03 : Carte géographique situant de *Lepidium sativum*

(● Présence de plante). (Gregory, 2007)

I .2.5.Substances bioactives de *Lepidium sativum*

Il contient les graines et les feuilles ont la saveur légèrement piquante, intense et chaude; car elles renferment un composé soufré qui leur confèrent ce goût caractéristique de cette famille. Il est très riche en vit C, E, A, B1, B2, des sels minéraux, des glucosides (Aouadhi, 2010).

I .2.6.Vertus médicinales de *Lepidium sativum*

Cette plante se révèle efficace contre de nombreux troubles digestifs en raison de son action stimulante, laxative et diurétique. De plus, il lutte contre la constipation et les hémorroïdes et il apaise les maux de ventre. Par ailleurs, *Lepidium sativum* est utile en cas d'asthme ou de toux, diurétique, expectorant, stomachique ; employé dans le traitement des maladies respiratoires, faiblesse pulmonaire, bronchites chroniques, laryngites. Scrofulose, rachitisme, scorbut, dermatoses, engorgements ganglionnaires; maladies des voies urinaires; atonie

gastrique, dyspepsies, stimulant la digestion; possède une action hypoglycémiant qui le fait recommander dans le régime des diabétiques (**Aouadhi, 2010**).

I.3. Les métabolites secondaires

I.3.1. Généralité

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et bien que leurs rôles soient encore mal connus. (**Krief, 2003**).

Ces métabolites secondaires interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins) (**Gobbi & Khebbaz, 2014**). Et sont aussi se trouvent dans toutes les cellules végétales et nécessaire à leur croissance et à leur développement (**Raven et al., 2000**). Aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996**).

I.3.2. Définition des métabolites secondaires

Le terme «métabolite secondaire», qui a probablement été introduit par **Albrecht Kossel** en (**1891**), sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes, ils sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes (**Boudjouref, 2011**).

I.3.3. Rôle biologique

Les métabolites secondaires sont interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, ils participent ainsi, d'une manière très efficace, dans la tolérance des végétaux a des stress varies : action anti-herbivore, inhibition des attaques pathogènes des bactéries et des champignons, prédation d'insectes, défense contre la sécheresse et lumière UV. Aussi ils interviennent pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits; mais elles peuvent être antinutritifs. Beaucoup de métabolites secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole (**Boukri, 2014 ;Geula, 2017**).

I.3.4. Classification

Dont plus de 200.000 structures ont été définies (**Hartmann, 2007**); les métabolites secondaires sont appartiennent à trois grandes familles (**Merghem, 2009**)

- Les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, banthocyanidines, tanins) et les quinones.
- Les terpénoïdes et leurs dérivés.
- Les alcaloïdes.

I.3.4.1 Les composés phénoliques

- **Définition:**

Les composés phénoliques ou les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (**Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006**)

- **Détermination des polyphénols**

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de FolinCioclateu: ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMO_{12}O_{10}$. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Cioclateu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_{23} . L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (**Da costa, 2003**).

A. Les flavonoïdes

- **Définition**

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Bouakaz, 2006**). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Havasteen, 2002**).

- **Détermination des flavonoïdes**

Le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols (**Merghem, 2009**).

B. Les tanins

- **Définition**

Le terme « tanin » (ou tannin) vient du mot tannage. Les tanins sont des composés polyphénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire entre 500 et 3000 KD (polymères), et qui présentent, à côté des réactions des phénols des propriétés de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres (**Agbulut et al., 2001**).

- **Extraction des tanins**
- L'extraction des tanins (drogue fraîche) par un mélange d'eau et d'acétone.
- distillation pour l'élimination de l'acétone.
- Purification de la solution extractive par le dichlorométhane (élimination des pigments et des lipides)
- Extraction des proanthocyanidols dimères et des tanins galliques par l'acétate d'éthyle (Laboratoire de pharmacognosie Dr Sahraoui)

Les composés appartenant au groupe des tanins sont mis en évidence grâce à la réaction de STIASNY (Witabouna *et al.*, 2014).

I.3.4.2. Les alcaloïdes

- **Définition**

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont isolés des plantes (Boutaghane, 2013). Les alcaloïdes ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont des solides cristallisables, rarement colorés (Rakotonanahary, 2012).

- **Extraction des alcaloïdes totaux**

Il s'effectue sur le résidu d'alcaloïdes après extraction en milieu alcalin, le dosage est effectué soit par

- Méthode gravimétrique: consiste en une simple pesée du résidu d'alcaloïdes totaux mais manque de précision.
- Méthode volumétrique: elle met à profit le caractère basique des alcaloïdes.
- Méthode chromatographique (CPG, HPLC) Laboratoire de Pharmacognosie Dr Sahraoui W)
- **Extraction d'un alcaloïde spécifique**

Dans une drogue déterminée, le dosage peut se faire par technique : spectrophotométrie et Colorimétrie ; avec les réactions colorées spécifiques à certains alcaloïdes et en comparaison avec des substances de référence (Croteau *et al.*, 2000).

I.3.4.3. Les composés Terpénoides

- **Définition**

Le terme Terpénoides désigne un ensemble de substances présentant le squelette des Terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.). Ce sont des substances du métabolisme secondaire qui dérivent des Isoprénoides dont certains interviennent dans la photosynthèse, ainsi que plusieurs hormones végétales sont de structure Terpénique. Ce sont des produits hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaînes ouverte formées de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées dérivées du 2-Méthyle butadiène, appelées unités isopréniques (**Hopkins, 2003**).

Chapitre II

**Les maladies métaboliques et les
activités biologiques Synthèse
bibliographique**

Chapitre II : Les maladies métaboliques et les activités biologiques

II. Les maladies métaboliques et les activités biologiques

II.1. Stress oxydatif et cancer

II.1.1. Définition de stress oxydatif

Le stress oxydatif appelé aussi stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants. Il se développe lorsque les radicaux libres des molécules oxydantes sont produites plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme. Les radicaux libres sont formés le plus souvent par gain d'électron à partie de l'oxygène moléculaire. Il retrouvera sa stabilité en participant à des réactions chimiques dont les conséquences sont l'oxydation des lipides membranaires, l'oxydation des acides aminés composant les protéines, l'oxydation des glucides et l'oxydation des acides nucléiques.

De façon générale, l'excès des radicaux libres contribuent au stress oxydatif par une série de réactions en chaîne. (Rioux, 2009)

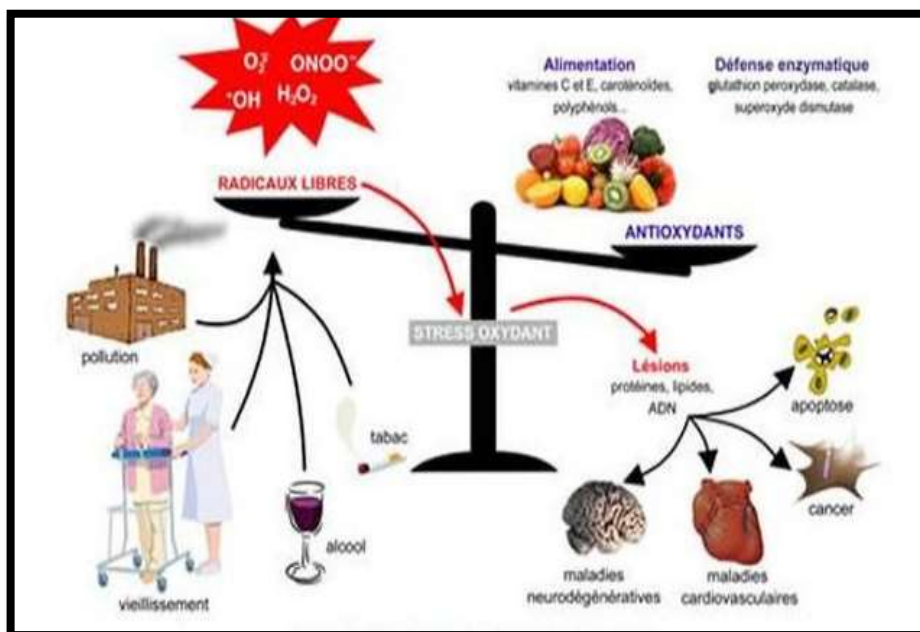


Figure 04 : La balance pro-oxydants et antioxydants (Sekkiou, 2017)

II.1.2. Les radicaux libres

II.1.2.1. Définition

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (EAO) (**Hamoudi, 2015**).

Les radicaux libres sont électriquement neutres ou chargés (ioniques) et comprennent l'atome d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée). Les radicaux libres sont des espèces chimiques très instables, leur structure comprend un électron célibataire qu'il cherche à appairer en attaquant et en endommageant les molécules voisines. L'appellation « dérivés réactifs de l'oxygène » n'est pas restrictive, elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxyde d'azote ($ONOO^-$) (**Rioux, 2009**).

II.1.2.2. Les différents types des radicaux libres

Parmi les composés oxydants formés après réduction de l'oxygène que nous respirons. On distingue:

II.1.2.2.1. Les radicaux libres primaires

Ils dérivent directement de l' O_2 par une réaction de réduction. (**Magali, 2013**).

II.1.2.2.2. Les radicaux libres secondaires

Ils sont formés par la réaction des radicaux libres primaires sur des composés biochimiques cellulaires (**Magali, 2013**).

II.1.2.2.3. Les espèces actives de l'oxygène

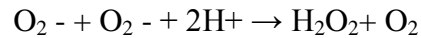
Ce sont des molécules ne possédant pas d'électron non apparié mais au fort pouvoir oxydant car elles peuvent donner naissance à des radicaux libres (**Magali, 2013**).

Les radicaux libres primaires et secondaires et les espèces actives de l'oxygène sont regroupées sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène ou ERO ou EOA (ou « ROS » en anglais pour Reactive Oxygen Species).

✓ L'anion superoxyde

L'anion superoxyde est l'espèce la plus couramment générée par la cellule, par réduction d'une molécule d'oxygène. Cette réaction semble surtout catalysée par des NADPH oxydases

membranaires (Shen, 1996). L'O₂ • peut également être formé dans certains organites cellulaires tels que les peroxysomes via la conversion de l'hypoxanthine en xanthine, puis en acide urique, catalysée par la xanthine oxydase et les mitochondries où 2% à 5% d'oxygène consommé est transformé en radicaux superoxydes (Favier, 2003).



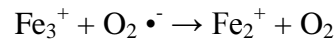
✓ **Le radical hydroxyle**

Le plus important des produits est le radical hydroxyle (OH•). C'est une espèce oxygénée très réactive qui provient de la coexistence de l'anion superoxyde et de peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène réagit avec le fer (forme ferreux) et produit du fer oxydé (forme ferrique) et le radical hydroxyle.

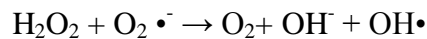
C'est la réaction de Fenton.



Ensuite le fer ferrique est réduit en fer ferreux par l'anion superoxyde principalement.

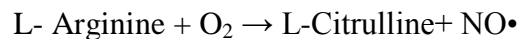


L'ensemble de ces réactions forme la réaction d'Haber Weiss.



✓ **Le monoxyde d'azote**

L'oxyde azotique NO• est principalement produit par un système enzymatique, la NO synthase, qui transforme l'arginine en citrulline en présence de la NADPH.



✓ **Nitrique dioxyde NO₂ •**

Formé à partir de la réaction du radical pyroxyle avec NO. Le nitrique dioxyde est un puissant déclencheur du lipide peroxydation par sa capacité d'arracher un atome d'hydrogène d'une double liaison au niveau des acides gras polyinsaturés.

✓ **Le peroxynitrite**

Le monoxyde d'azote par concomitance avec un ion superoxyde va entraîner la formation de peroxynitrite (ONOO⁻) qui est hautement cytotoxique. Cette réaction est surtout retrouvée au niveau des vaisseaux sanguins.



II.1.2.3. Sources et formation des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être d'origine endogène par le biais de différents mécanismes physiologiques dans l'organisme, mais aussi d'origine exogène, provoqués par plusieurs sources chimiques et physiques.

II.1.2.3.1 Origine endogène

Aux doses faibles, les ROS sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques tel que :

- La chaîne respiratoire.
- La réaction immunitaire.
- La transduction de signaux cellulaires.
- Les NADPH oxydases.
- Les oxydes nitriques synthases.
- Autres sources endogènes.

II.1.2.3.2. Origine exogène

Des facteurs environnementaux peuvent contribuer à la formation d'entités radicalaires. Une production importante des ROS est observée lors d'une intoxication par des métaux lourds (cadmium, mercure, arsenic) ou dans les phénomènes d'irradiations provoquant des dommages au niveau de l'ADN. Par ailleurs la fumée de tabac, l'alcool ou même certains médicaments (Xénobiotiques) peuvent être source de radicaux libres par oxydations de ces composés au niveau du cytochrome P450 (Favier, 2003).

II.1.2.4 Conséquences du stress oxydant

Les ROS deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme à des doses excessives. Cette surproduction au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement. Ces ROS attaquent principalement les lipides membranaires, mais aussi les protéines et les acides nucléiques (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

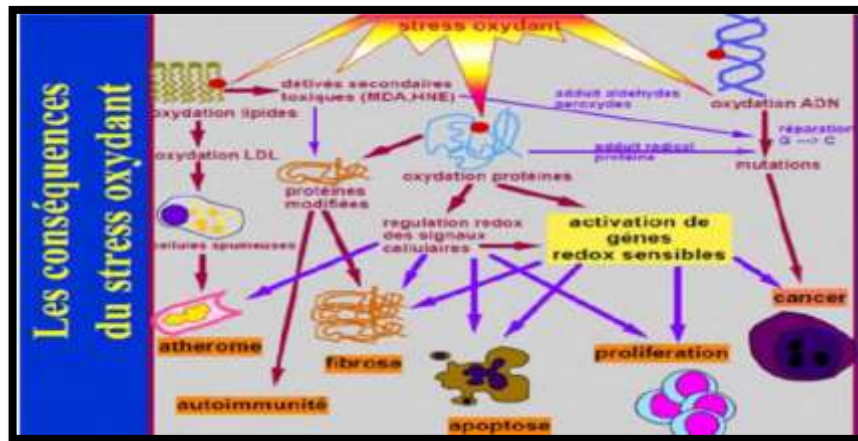


Figure05: Les conséquences du stress oxydant. (Koechlin-Ramonatxo, 2006)

II.1.2.5. Système de défenses antioxydants

Les cellules possèdent des mécanismes de défense endogènes enzymatiques et non enzymatiques qui, de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydant, résultant du métabolisme aérobie, appelés antioxydants (Huemer *et al.*, 2006).

II.1.2.5.1. Définition

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Ardestani et Yazdanparast, 2007). L'organisme possède un ensemble de systèmes de défenses antioxydants très efficaces afin de diminuer la concentration des espèces oxydantes dans l'organisme. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques (Mohammedi, 2006).

II.1.2.5.2. Les principaux antioxydants

❖ Les antioxydants endogènes

La production physiologique d'ERO, est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (La superoxydedismutase, La catalase, hème oxygénase, peroxyrédoxine,...), de molécules antioxydants de petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, ubiquinone,...) et de protéines (transferrine, ferritine,...). Un système secondaire de défense composé de phospholipases, d'ADN endonucléases, de ligases et de macroxy-protéinases empêche l'accumulation dans la cellule de lipides, d'ADN et de protéines oxydés et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques (Pincemail *et al.*, 2002).

❖ **Les antioxydants exogènes**

- **Médicaments** : Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéïnémiques, les bêta-bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydants.

❖ **Antioxydants naturels**

- ✓ **La vitamine C ou acide ascorbique** : C'est un puissant réducteur. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E.
- ✓ **La vitamine E ou tocophérol** : Préviend la peroxydation des lipides membranaires in vivo en capturant les radicaux peroxydes.
- ✓ **Les flavonoïdes** : Les relations entre les structures et les activités anti-oxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité anti-oxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation.
- ✓ **Les tanins** : Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation.
- ✓ **Les phénols** : Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales (**Diallo, 2005**).

II.2. Le cancer

Le radical hydroxyle HO• semble être le principal responsable des dommages oxydatifs sur l'ADN. Ces espèces étant très réactives, celles-ci sont donc générées sur le site de réaction. Certaines portions de l'ADN présentent des métaux de transition (Fe, Cu) et ne sont pas protégées par les histones donc ces zones peuvent être le siège des réactions qui sont catalysées par les métaux de transition. De nombreux facteurs étant retenus comme cancérigènes agissent en produisant des espèces radicalaires. Cela peut se faire directement comme pour le tabac, après phagocytose comme l'amiante, par réaction de Fenton par des métaux carcinogènes comme le nickel, par photolyse comme les UV A et B, comme par redox-cycling lors du métabolisme comme le benzopyrène. (**Favier, 2006**). Stress oxydant et pathologies humaines. (**Annales Pharmaceutique Françaises, 2012**).

II.2.1. Généralités sur le cancer

II.2.1.1. Définition du cancer

Selon l'OMS: « le cancer est un terme général appliqué à un grand groupe de maladies qui peuvent toucher n'importe quelle partie de l'organisme. L'une de ses caractéristiques est la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent essaimer dans d'autres organes, formant ce que l'on appelle des métastases ». Il peut aussi être défini comme une prolifération importante et anarchique de cellules anormales qui ont la capacité d'envahir et de détruire les tissus sains et de se disséminer dans l'organisme (**Spano, 2000**).

II.2.1.2. Caractéristiques des cellules cancéreuses

Il existe des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeur (Anti-oncogènes), qui jouent un rôle important et modulent l'apparition du processus du cancer.

La caractéristique majeure d'une cellule cancéreuse est de proliférer sans les contraintes fixées par l'homéostasie, qui imposent normalement l'arrêt de la prolifération. Les cellules cancéreuses ne répondent plus à ces règles et continuent à se diviser.

Dans les cellules cancéreuses, la perturbation des processus de régulation du cycle cellulaire, à la suite d'une altération du facteur de croissance et/ou de son récepteur et/ou des messagers secondaires, aboutit à une dérégulation de la prolifération cellulaire (**Spano, 2000**).

- **Perte de l'inhibition de contact** : La cellule cancéreuse ne répond pas aux signaux qui font intervenir différentes protéines de jonction (cadhérines et sélectines), aboutissant par la suite à des protéines de contrôle de la prolifération cellulaire qui bloquent cette dernière. (**Favier, 2006**).

- **Perte de la dépendance vis-à-vis de l'encrage** : C'est le pouvoir métastatique définis par la capacité d'envahir des tissus normalement réservés à d'autres cellules (**Spano, 2000**).

II.2.1.3. Les plantes médicinales et traitement anticancer

Les traitements actuels comprennent la chimiothérapie, la radiothérapie et des médicaments à base de chimie. Les traitements tels que la chimiothérapie peuvent mettre les patients sous une telle pression que leur santé est particulièrement détériorée. C'est pour cela que l'utilisation des traitements contre le cancer ou thérapies complémentaires attire

l'attention. Depuis de nombreuses années les plantes médicinales ont été utilisées et sont toujours utilisées dans les pays en voie de développement comme base fondamentale d'un traitement médical. Les plantes ont été utilisées en médecine pour leurs propriétés antiseptiques naturelles. Ainsi, la recherche s'est orientée vers le développement et l'étude des propriétés et des utilisations potentielles des extraits de plantes terrestres pour la préparation de médicaments, à base de matières nano contre les maladies, dont le cancer(Malikova, 2008).

Les composants qui ont été identifiés et extraits des plantes pour leurs propriétés anticancer comprennent les polyphénols, les brassinostéroïdes et les taxols(Malikova, 2008).

- **Polyphenol** : La cytotoxicité des polyphénols sur une série de cellules cancéreuses a été démontrée et leurs propriétés antioxydantes ont été mesurées. On considère que les polyphénols ont des propriétés comme l'apoptose démontrant ainsi des propriétés anticancer qui peuvent être utilisées (Malikova, 2008).
- **Flavonoïdes** : les extraits de flavonoïdes d'espèces de fougères et ont constaté que, même à de très faibles concentrations, elles manifestent une activité anticancereuse élevée (Diallo, 2005).
- **Brassinostéroïdes**: Les brassinostéroïdes ont été utilisés dans des recherches pour traiter différents types de groupes de cellules cancéreuses qui incluent les leucémies t-lymphoblastiques CEM, les myélomes multiples RPMI 8226, les carcinomes cervicaux HeLa, les carcinomes du poumons A-549 et les groupes de cellules d'ostéosarcomes HOS (Malikova., 2008).

II.3. Diabète et critères de diagnostiques

II.3.1-Définition de diabète

Le diabète sucré est un groupe d'affections métaboliques caractérisé par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de sécrétion ou d'action de l'insuline ou des deux. Il est associé aux complications aiguës, mais aussi aux complications à long terme touchant les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins(Garianiet *al.*, 2014).

II.3.2. Les critères de diagnostic (ADA , OMS)

Tableau 03: Les critères de diagnostic (ADA , OMS) (Garianiet et al., 2014).

Concentration en glucose	g/L**	(mmol/L)**
<i>Diabète</i>		
- à jeun	≥ 1,26	(7,0)
ou		
- 2 h après charge en glucose ou les deux*	≥ 2,00	(11,1)
<i>Intolérance au glucose (I.T.G.)</i>		
- à jeun (si mesurée)	< 1,26	(7,0)
et		
- 2 h après charge en glucose	≥ 1,40	(7,8)
<i>Hyperglycémie modérée à jeun (H.M.J.)</i>		
- à jeun	≥ 1,10	(6,1)
et	< 1,26	(7,0)
- 2 h après charge en glucose (si mesurée)	< 1,40	(7,8)

→ Glycémie a deux heures ≥ 2 g/l après une charge orale de 75 g de glucose au cours d'une HGPO.

→ symptômes d'hyperglycémie (polyurie, polydipsie, perte de poids inexplicée).

II. 3.3- Classification étiologique de diabète sucrés:

La classification étiologique des diabètes sucré proposée par l'ADA et l'OMS est actualisé en fonction des données scientifiques récentes, le diabète type 1 et 2 remplacent les termes DID et DNID (Touguit et al., 2015).

II.3.3.1.Le diabète type 1

Autre fois appelé insulino-dépendant ou encore diabète juvénile, ce diabète apparait le plus souvent de manière brutale, c'est la cause la plus fréquente de diabète chez l'enfant, mais il peut survenir a toute âge sa forme la plus fréquente est la conséquence d'une maladie auto-immune, c'est-à-dire la destruction des cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas par le système immunitaire, dont témoigne la présence d'anticorps dans le Sang (Touguit et al., 1999).

II .3.3.2- Diabète type 2

Autrefois appelé non insulinodépendant ou diabète de l'âge mûr survient classiquement chez l'adulte de plus de quarante ans présentant dans 80% des cas une obésité ou du moins un excès pondéral, avec souvent des ATCD, familiaux de diabète type 2. Au début de la maladie, la production d'insuline par le pancréas est normale (voire excessive), mais les organes chargés de capter et d'utilisés le glucose deviennent insensibles à l'insuline d'où une augmentation de la glycémie (**Bysschaert, 2006**).

II. 3.3.3- Autre type de diabète

- ✓ **le diabète gestationnel**: au cours des 2ème et 3ème trimestres de la grossesse, les besoins en insuline de la femme enceinte sont de 2 à 3 fois plus importants qu'en temps normale. Le pancréas produit d'avantage d'insuline pour compenser ce besoin, chez certaines femmes, l'insuline ne joue plus son rôle régulateur, si la glycémie est > 0,9 g/l la femme est considérée comme représentante d'un diabète gestationnel (**Bysschaert, 2006**).
- ✓ **Les diabètes de type MODY**: Ont été à juste titre séparés du diabète de type 2 et individualisés grâce à leurs caractéristiques génétiques et moléculaires. La catégorie des diabètes de la malnutrition est supprimée, la pancréa topathiefibro-calculuse est classée parmi les diabètes pancréatiques (**Rodier, 2001**).

II. 3.4.Diabète induit par l'alloxane

II. 3.4.1.Définition de l' alloxane

Est un dérivé pyrimidique (acide urique) qui a été synthétisé en 1838 Wohler.il a été considéré comme un médicament provoquent une nécrose dans les cellules β en1940 (**Touguitet *al.*, 1999**).

II. 3.4.2.Structure de l'alloxane

(2,4,5,6tetraoxypérimidine), est utilisé dans l'induction du diabète de type 1 chez les modèles animaux (souris, rats,...) (**Sandler et Swenne, 1983**).

II. 3.4.3.Fonction

L'alloxane exerce une action cytotoxique préférentiellement sur les cellules β pancréatiques, ils accumule rapidement sur les cellules hépatiques et pancréatiques, mais lentement dans les cellules musculaires (**Malaisse *et al.*, 1982**). Les effets cytotoxiques de

l'alloxane sont dus à son produit de réaction réduit, l'acide dialurique, et à la production des espèces oxygénées réactives (EOR) (Wattiz et al., 2012)

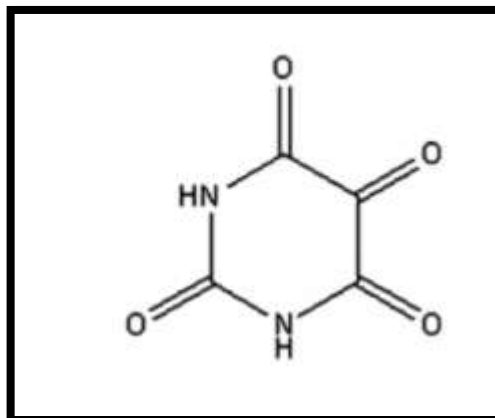


Figure 06 : Structure chimique de l'alloxane (Lenzen, 2008)

II.4. Activité antibactérienne

II.4.1. Définition

Dès la naissance l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutané-muqueux (Yakhlef, 2010); les pouvoirs antimicrobiens des plantes aromatiques et médicinales sont connus depuis l'antiquité. Toutefois il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser.

(Bendahou, 2012). L'activité antibiotique correspondant à l'activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal qui à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou la tue. La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien. Face à un antibactérien donné, la sensibilité d'une bactérie peut être très différente selon la souche d'appartenance (Kebili, 2016).

II.4.2. Antibiotiques

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle, semi-synthétique ou synthétique, capable à faible dose de tuer ou d'inhiber spécifiquement la croissance du germe par un mécanisme particulier jouant sur ses mécanismes vitaux (Kebili, 2016). Selon la structure chimique, les antibiotiques peuvent exercer leurs effets selon différents modes:

- Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi: β -lactamines, glycopeptides,
- Antibiotiques altérant la membrane plasmique: polymyxines, daptomycine,
- Antibiotiques inhibant la synthèse protéique (généralement par fixation sur les ribosomes): tetracyclines, chloramphenicol,

- Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques: rifampicine, etc (Yakhlef, 2010).

II.4.3 Aromatogramme

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques (Bendahou, 2012). Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts (Yakhlaf, 2010).

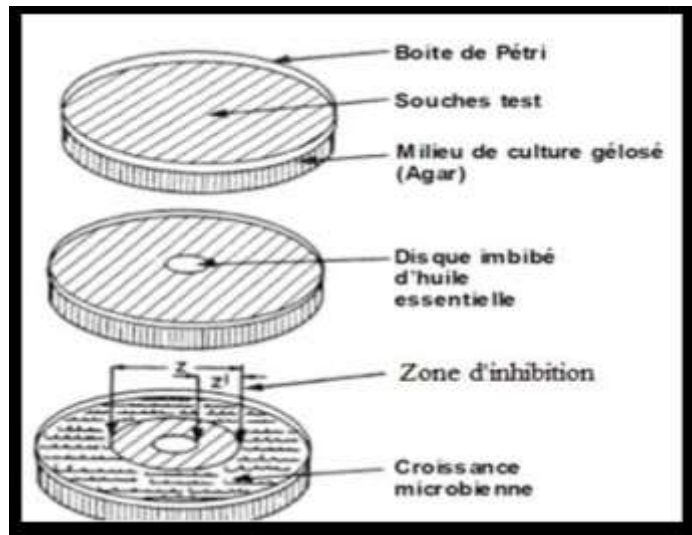


Figure 07: Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de pétri (Zaika, 1988).

Deuxième partie

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériels et méthodes

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériels

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Echahid Hamma Lakhdar d'ELOued. Les analyses sanguines ont été effectuées au niveau du laboratoire d'analyses médicales l'hôpital de KOUININE et les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du centre d'analyse pathologique Mouhamed ESSAIH ABI MILOUD, service l'anapath, de Touggourt (Ouargla).

I.1.1. Matériels biologiques

I.1.1.1. Matériel Végétal

Les grains de cresson *Lepidium sativum*, est une espèce médicinale appartenant à la famille **Brassicaceae**, d'origine de l'Afrique du Nord ou de l'Est, Moyen-Orient et Asie de l'Ouest (pas locale). On achète cette plante d'un herboriste.

I.1.1.2. Les microorganismes utilisés : (Souches microbiennes)

L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée en utilisant des souches référencées :

❖ Les bactéries Gram négatif

- *Escherichia coli* (ATCC 25922): Bacille, appartient à la famille des Enterobacteriaceae (Paterson, 2006). De forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm (Steven et al., 2004). *Escherichia coli* est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (Nauciel et al., 2005).

- *Pseudomonasaeruginosa* (ATCC 27853) : Bacille, opportuniste, fréquemment incriminée dans les infections nosocomiales grâce à sa capacité de persister dans les milieux hospitaliers, sa résistance naturelle et son pouvoir d'acquisition de multiples mécanismes de résistance aux antibiotiques (Chinbo et al., 2014). Elle est l'agent le plus pathogène courant provoquant une infection chronique (Pressler, 2011).

P. aeruginosa est impliquée dans les infections des plaies et de l'appareil respiratoire, infections des voies urinaires et les septicémies (Perry et al., 2004).

- *Klebsilla pneumoniae* (ATCC700603) : Genre de bactérie, non mobiles de famille Enterobacteriaceae, capsulés avec des colonies à aspect de muqueuses. (**Garbannelle et al., 1987**). Il est un type de bactérie qui est souvent répandu dans les unités de soins intensifs ou les maisons de soins infirmiers. Il se trouve généralement dans le tractus intestinal, où il fait partie de l'écosystème d'un côlon sain. Ce bactérie peut se propager à d'autres parties du corps, cependant provoquer des maladies mortelles (**Anadriamobololona, 2010**)

- *Salmonella Enteric* (Arizonae CIP 81-3):des entérobactéries, des bacilles, non sporulants (**Jawetz et al., 1973**), espèce majoritaire, qui se divise en six sous-espèces (**Popoff et al., 2004;Tindall et al.,2005**).

❖ Les bactéries Gram positif

-*La Listeriamonocytogenes*(ATCC 35152) :est un petit bacille, non sporulées et microaérophiles (aérobies facultatives). C'est une bactérie qui possède des flagelles, elle est mobile à 20-25°C et immobile à 37°C. peut se développer en présence ou absence d'oxygène. On peut la cultiver sur un milieu ordinaire, sur un milieu sélectif ou sur de la gélose au sang. (**Deguelte, Metge et al., 2004**).Elle a une paroi épaisse constituée de trois couches superposées. (**North, 1963**). En termes cliniques, la listériose couvre un large spectre de maladies, allant de symptômes de grippe bénigne à l'encéphalite méningée.(**Popoff et al., 2004**).

I.1.1.3. Matériel animal

Afin d'éviter la variabilité intersexe, nous n'avons utilisé pour l'activité anti-oxydante que des rattes femelles de type Wistar albino de l'institut pasteur d'Alger (I.P.A.). Pesant entre 90g et 150g au début de l'expérimentation.

Les rattes ont été séparées dans des cages aléatoirement. Ils sont divisés en quatre lots et hébergées au niveau de l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, à l'université Elchahid Hamma Lakhdar .Les cages sont munies d'un porte étiquette où sont mentionnés le nom du lot, l'intervalle des poids, avec la date de début de traitement. Les rattes sont soumises pendant un mois et demi à une période d'adaptation où elles ont un accès libre à l'eau et à l'aliment sous des conditions de lumière et de température contrôlées (12 heures d'éclairage / Température de 24 °C).

I.1.1.4. Enquête ethnobotanique

En vue de rendre compte de la valeur *Lepiduum sativum* représentée dans la région d'EL-Oued une enquête ethnobotanique est lancée auprès de la population. Au cours de cette enquête 100 personnes de 20 à 80 ans (24 hommes et 74 femmes) de différentes régions, El-oued, kouinine, Guemar, Zgoum et Robbah ont été questionnées.

I.1.1.5 Appareillage et réactifs utilisés

Les réactifs et les matériels utilisés dans les différents tests et dosages .

I. 2.Méthodes

I.2.1. Préparation des extraits

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénoliques contenues dans les grains de la plante (Madi, 2009)

I.2.1.1. Extraction par macération à l'éthanol

La plante étudiée (80g) est mis à macérer à l'obscurité et à température ambiante dans l'éthanol 800 ml pendant 48 heures. Après la macération, l'extrait ethanologique est récupéré par filtration sur papier Wattman. Ensuite l'extrait a été évaporé à 56°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R- 200) jusqu'à l'obtention d'une pâte. Puis séché à l'Etuve à une température ne dépasse pas 45 C°. Enfin la pâte a été conservé à une température de +4°C (Matkowski & Piotrowcka, 2006).

I.2.1.2. Détermination du rendement

Le rendement de la plante en extrait sec a été quantifié selon la formule :

$$R \% = PEB/PMV \times 100$$

R : Rendement.

PEB : Poids de l'Extrait Brut (g).

PMV: Poids de Matière Végétale(g).

- **Macération**

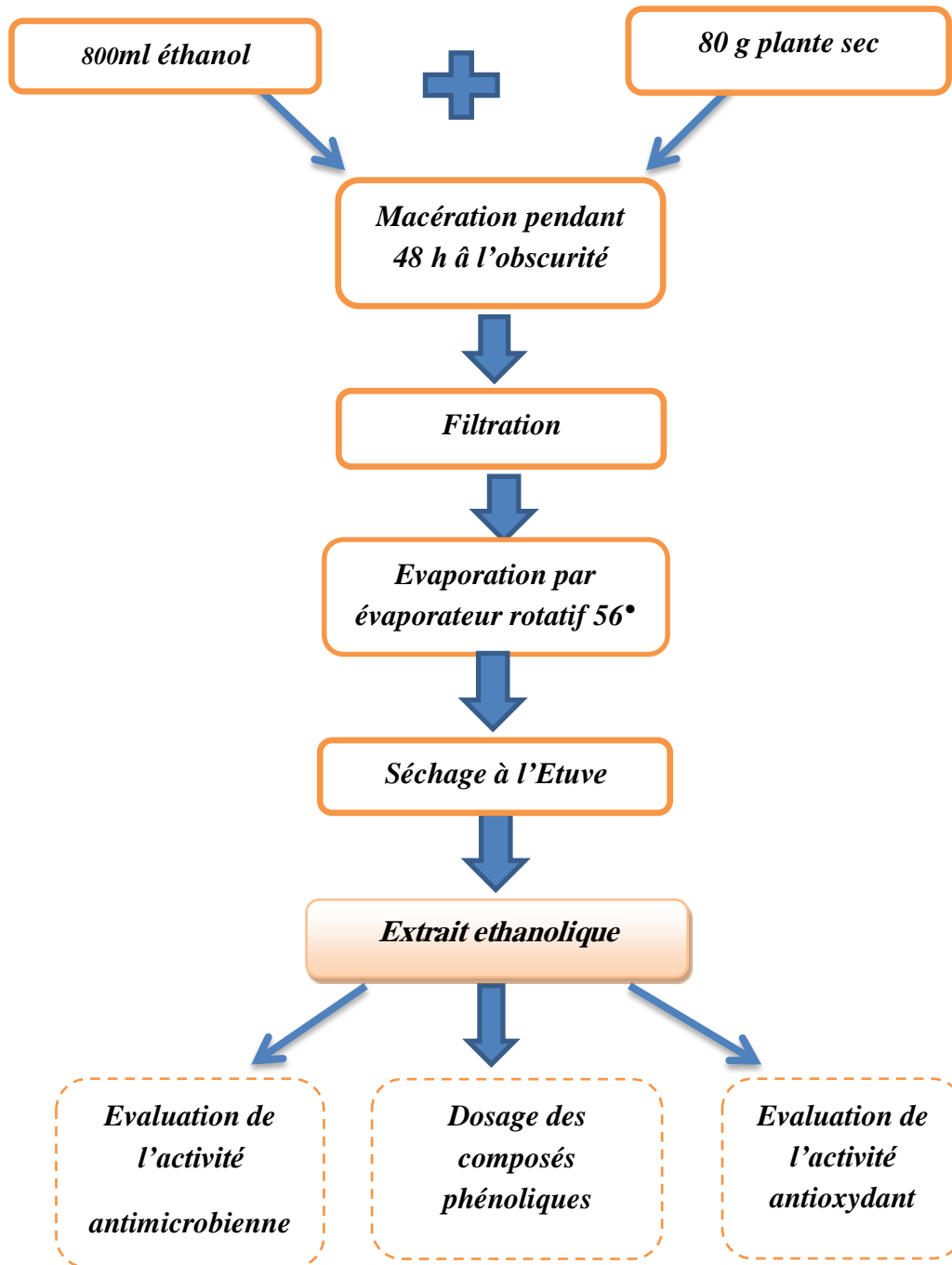


Figure 08 : Protocole de préparation de l'extrait éthanolique

I.2.2. Etude *in vitro*

I.2.2.1. Les tests phytochimiques

L'un des buts essentiels d'un test phytochimique consiste dans la détection des différentes familles de métabolites secondaires existant dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation (**Haoulia, 2015**). La phytochimie qualitative base sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisée sur les extraits (**Mohammedi, 2013**).

A. polyphénols

2mL de chaque extrait est ajouté une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique (FeCl_3) à 2%. Le chlorure ferrique provoque en présence de dérivés polyphénoliques l'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée (**Bidie et al., 2011**).

B. Flavonoïdes

Traité 0.5ml d'extrait alcoolique avec quelques gouttes d'HCl concentré et 0.5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe en après 3minutes (**Bouhadjera et al., 2005**).

C. Les tannins

Les tanins sont mis en évidence à partir de 0.5 ml d'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de FeCl_3 (1% préparé au méthanol). Après l'agitation de l'extrait, la couleur vert au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiqes (**Karumi et al., 2004; Rizk, 1982**).

D. Les saponosides (Test de mousse)

Nous avons introduit 10 mL de chacun des extraits ethanologique dans un tube à essai. Le tube est agité pendant 15 secondes (s) puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides. (**Bidie et al., 2011**).

E. Terpénoïdes

Dans un tube à essai, ajouter à 5ml d'extrait de plante, 2ml de chloroforme (CHCl_3) et 3ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. La formation d'une couleur brune rougeâtre indique la présence des terpénoïdes (**Dharmendra et al., 2012**).

F. Stéroïdes

Pour 1ml d'extrait végétal ajouter 0,5ml de solution d'acide acétique, est suivi par 0,5ml de H₂SO₄ concentré. Si la solution ne donne aucune couleur verte cela prouve la présence de stéroïdes non saturés. Dans un 2^{ème} tube, le même volume de H₂SO₄ est ajouté. La présence de la couleur rouge indique la présence des dérivés des stéroïdes (**Harborne et al.,1973**).

I.2.2.2. Analyse quantitative des composés phénoliques

Cette analyse permet d'avoir une estimation sur la teneur en phénols totaux de l'échantillon .Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de Singleton et Rossi en utilisant le réactif de Folin-Siocalteu, tandis que les flavonoïdes ont été quantifiés par le dosage direct par le trichlorure d'aluminium d'après une méthode adaptée de Lamaïosn et Carnat (**Belguidoum, 2012**).

A. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

- **Principe**

Le dosage des polyphénols est réalisé par la méthode de Singleton et Ross en utilisant le réactif de Folin-Ciocalte.

Il s'agit d'une solution d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) dont la réduction par l'action des polyphénols donne un mélange des complexes de sels de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃) de couleur bleu. Cette solution absorbe à une longueur d'onde de 725 nm. Ainsi, le dosage des PPT se fait par comparaison de l'absorbance de la solution étudiée par rapport à celle obtenue par un étalon qui est l'acide gallique (**Waterhouse, 1999**).

- **Mode opératoire**

Les composés phénoliques totaux sont dosés de la manière suivante, 0.2 ml des solutions d'acide gallique de concentration de 0.02 jusqu'à 0.16 mg/mL, ensuite 1 ml d'une solution de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillée est ajouté immédiatement. Après 5min, on ajoute 0.8ml d'une solution de Na₂CO₃ (7.5%). Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant environ 30 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 765 nm contre un blanc. Les lectures de la densité optique à 765nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Yogita et al , 2013**).

B. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

- **Principe**

Le réactif utilisé est : le chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 2%). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des carbones 4 et 5 des flavonoïdes par ce réactif, elle entraîne la formation d'un complexe jaune absorbe à 430 nm. (Abdurrahman et al.,2013 ; Yakhlef ,2010).

- **Mode opératoire**

Les flavonoïdes totaux sont évalués par colorimétrie, 1 ml de chaque solution a été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 1 ml de trichlorure d'aluminium (AlCl_3 , 2%) préparé dans l'éthanol (Abdurrahman et al.,2013).

I.2.2.3. Etude de l'activité antioxydant

A. Par méthode spectrométrique(DPPH)

- ❖ **Principedu test**

D'un point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant des groupes -SH, -NH et -OH. Le 2,2-diphényl-1 - picrylhydrazyle possède un électron non apparié sur un atome d'azote. Ce radical ne forment pas des dimères, il reste donc sous sa forme monomère qui est relativement stable (Popovici et al., 2009).

La réduction du DPPH par un agent antioxydant en DPPH-H induit une perte de sa couleur violette foncée qui va se transforme en jaune pâle (Molyneux, 2004) (figure 09). Cette réaction qui s'effectue à température ambiante pour éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles (Popovici et al., 2009) peut être suivie spectrophotométriquement en mesurant la diminution de son absorbance entre 515-518 nm. (Molyneux, 2004).

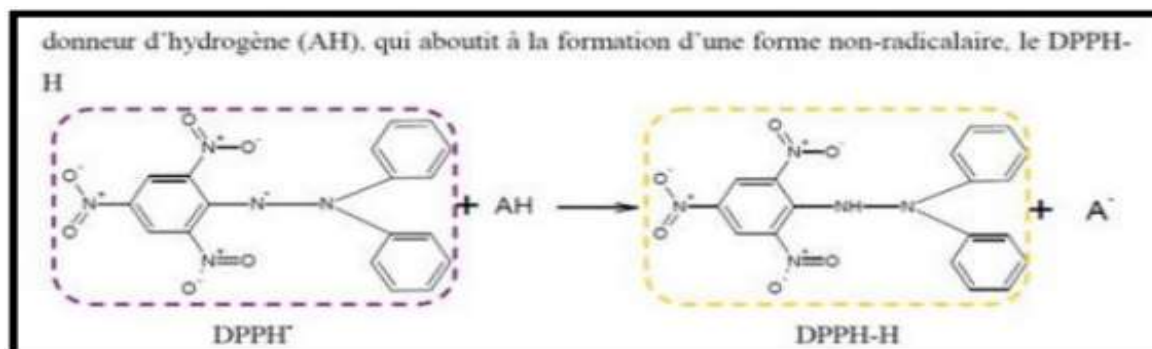


Figure 09: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH•entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) (Molyneux, 2004).

❖ **Protocole de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH(mesuré au spectrophotomètre) :**

La méthode décrite par **Brand-williams (1995)** ; différentes concentrations comprises entre 0.02-0.1 mg/ml d'échantillon étudié et de témoin (acide ascorbique avec différentes concentrations entre 0.002-0.01 mg/ml). Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 2 mg de DPPH dans 50 ml de méthanol. 0.5ml de solution échantillons et témoin sont ajoutées à 1 ml de la solution de DPPH, après incubation de 30 min en obscurité à la température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant.

Les résultats exprimés en IC_{50} qui sont calculés à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait. Il faut rappeler que plus la valeur de IC_{50} est petite, plus l'activité antioxydante des extraits est grande (**Popovici et al., 2009**) .

Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante:

$$I \% = [Abs\ contrôle - Abs\ échantillon / Abs\ contrôle] \times 100.$$

B.Par méthode électrochimique

❖ **Principe de la voltampérométrie cyclique**

La Voltammétrie cyclique est la technique la plus utilisée pour acquérir des informations qualitatives sur les réactions électrochimiques (**Wang, 2006**) .

Le principe général de la voltampérométrie est donc l'obtention d'une réponse (le courant) du système soumis à une perturbation (le potentiel) responsable de la réaction électrochimique

désirée. Cette opération est réalisée en effectuant une exploration par imposition et variation progressive du potentiel d'électrode (balayage de potentiel) (Gajewski et al., 2009)

Les courbes obtenues (qui sont caractéristiques de la solution électrolytique) peuvent être utilisées pour déterminer la nature et la concentration des espèces oxydables ou réductibles présentés (Wang, 2006).

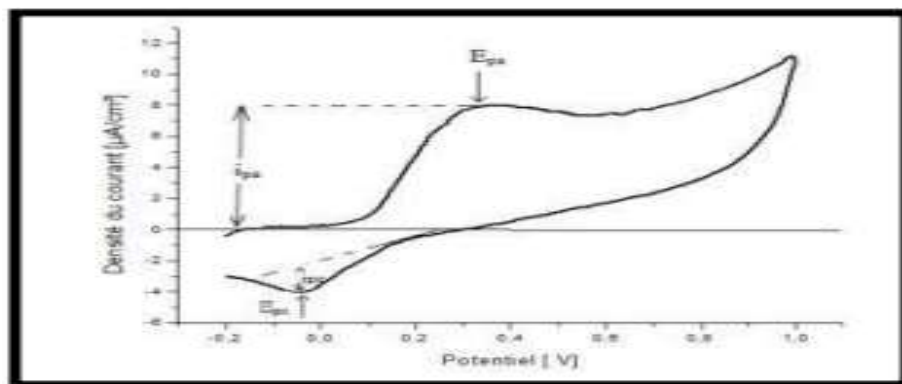


Figure10 : Voltammogramme cyclique typique pour un simple processus réversible d'oxydoréduction (Djouadi, 2012).

* **Epa et Epc** : sont les potentiels d'oxydations et de réductions.

Les mesures électrochimiques sont réalisées dans une cellule en verre contenant trois électrodes : l'électrode de travail, contre-électrode en platine et l'électrode de référence saturée avec KCl.

✓ **Etude de l'activité antioxydante totale**

❖ **Etude électrochimique du comportement de l'acide gallique**

L'étude électrochimique du comportement du standard utilisé qui est l'acide gallique est effectuée dans l'intervalle de concentration allant de 0.1mM à 1.1 mM, le potentiel E : -0.4 jusqu'à 1.6 mV et la vitesse de balayage est constante : 100 mV/s.

❖ **Obtention des voltammogrammes cycliques d'échantillons**

De la même façon et sous les mêmes conditions précédentes appliquées sur l'acide gallique, on traite l'extrait ethanologique de *L.sativum*, on obtient la voltampérogramme cyclique en ajoutant une quantité bien déterminée de l'extrait dans la cellule électrochimique (Boubekri, 2014).

❖ **La teneur de l'équivalent de l'acide gallique:**

Selon **Boubekri (2014)**, après l'obtention des voltammogrammes on peut lire le courant de pic anodique correspondant. Ce dernier est alors porté dans l'équation linéaire pour calculer la concentration équivalente de l'acide gallique. La teneur en acide gallique a été exprimée en grammes par litres. Alors, la teneur de l'équivalent de l'acide gallique est calculée comme suit:

Pour calculer la concentration de tout l'extrait, on divise donc la masse de l'extrait obtenue après extraction par le volume du solvant dans lequel on a dissout cet extrait (C (g/mL)) comme le montre la relation suivante :

- **La concentration massique d'échantillon en g/ml :**

$$Cg = \frac{m_{\text{extrait}}(g)}{v(mL)}$$

- **La concentration massique d'échantillon dans la cellule en g/mL :**

$$Cg' = \frac{Cg \times v_{\text{utilisé}}}{v_{\text{totale}}}$$

* **V ajoutée** : Le volume ajoutée de chaque extrait en mL

* **V Totale** : Le volume totale dans la cellule en mL

- **L'équation obtenue d'après la courbe linéaire de l'acide gallique est :**

Où : $Y = b + ax$

Y : Représente la valeur de la densité anodique du courant.

X: Représente la valeur de la concentration du standard en g.L⁻¹.

En remplaçant à chaque fois la valeur de la densité du courant dans l'équation précédente, on trouve la valeur de la concentration équivalente de l'acide gallique en g/L.

- L'activité antioxydante totale des extraits est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$AAT \left(\frac{mg}{g} \right) = \frac{Cg \left(\frac{g}{L} \right)}{Cg \left(\frac{g}{mL} \right)}$$

- ✓ Evaluation de l'activité antioxydante par le piégeage de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$

❖ Principe

Selon **Henni (2017)** et **Soulef (2017)**; les mesures voltampérométriques sont effectuées dans une cellule électrochimique de volume $V=25$ ml et un système à trois électrodes. L'anion radical superoxyde est généré par l'oxygène moléculaire commercial dissout dans le DMF qui contient 0.12M de Bu_4NBF_4 à la température de la salle ($28 \pm 1^\circ C$). La vitesse de balayage est maintenue à 100mV/s. La gamme de potentiel appliquée est de - 1.6V à 0.0V par rapport à ECS.

L'extrait ethanolique étudié est ajouté au radical superoxyde dissout dans le DMF et les voltammogrammes ont été enregistrés. La capacité de produit testé pour piéger les radicaux superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) est calculée en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Capacité inhibitrice du superoxyde\%} = \left(\frac{\%}{\%} \right) = \frac{I_{p0} - I_{ps}}{I_{p0}} \times 100$$

Où: I_{p0} et I_{ps} : Sont l'intensité du courant de pic anodique de l'oxygène respectivement sans et avec composé à tester.

❖ Voltammogrammes cyclique de l'oxygène

25ml de DMF sont mis dans la cellule électrochimique avec 0.16mg de Na_4BuF_4 , les trois électrodes ; de travail, auxiliaire et de référence nettoyés sont mis en place et la cellule a été bien fermée. Ensuite le mélange est barboté par l'oxygène commercial pendant 15 minutes pour but de générer le radical superoxyde dans la cellule. On fixe les conditions électrochimiques opératoires, et on met l'appareil en marche. Les voltammogrammes de l'oxygène sont ensuite enregistrés.

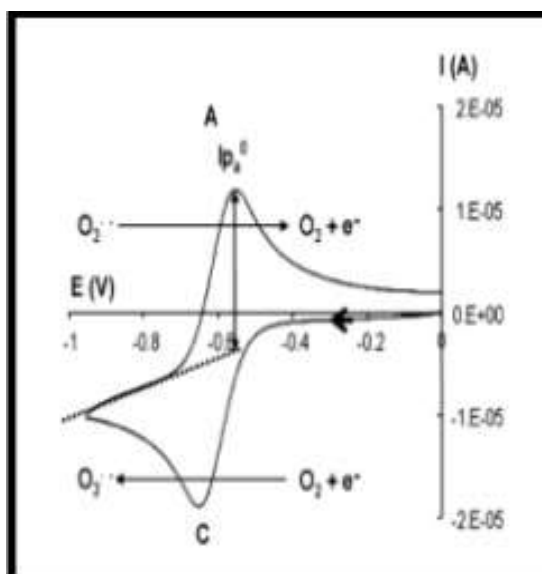


Figure 11: Voltammogramme cyclique d'oxygène(Djouadi, 2012)

I.2.2.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait

L'activité antimicrobienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion des disques cité par (Medjour & Ben aoun, 2017; Kebili, 2016; Meddor et al., 2013; Mostfaoui, 2017; Yakhlef, 2010).

➤ Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

- La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes .
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits des plantes.

➤ Conservation des souches

Les souches sont conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive).

➤ Préparation des précultures

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive et incubé pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

➤ **Préparation des disques**

Nous avons préparé les disques par papier wattman de 6mm de diamètre, ensuite elles sont mises dans un tube à essai, il faut stériliser les disques 30 minutes à 120°C dans un tube à essai bien fermé. Et garder le jusqu'à l'utilisation.

➤ **Préparation des suspensions bactériennes**

A l'aide d'une pipette pasteur nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et ont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (Na Cl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée et laissée sur la paillasse pendant 30 minutes.

➤ **Test de l'activité antibactérienne**

La gélose Mueller-Hinton stérile est coulée dans des boîtes pétrie stériles à 4 mm d'épaisseur et laissée se gélifier. On a trempé une pipette pasteur dans la suspension préalablement préparée et on a étalé la surface entière avec la gélose Mueller Hinton (GMH) à trois reprises.

I.2.2.4.1. Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de notre extrait brut. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. On a utilisé l'antibiotique de Pénicilline, Gentamicine et Amoxylline.

I.2.2.4.2. Test de sensibilité aux extraits bruts des plantes antibioaromatogramme

A l'aide d'une pince stérile, 4 disques de 6 mm de diamètre préalablement préparés, imprégnés des quatre concentrations de l'extrait éthanolique (0.5, 1, 2.5, 5 mg/ml). Sont déposés dans la boîte pétrie. Celles-ci sont ensuite fermées et laissées diffuser pendant 20 mn puis incubées à 37 °C pendant 24h.

=> Le témoin négatif était un disque imprégné avec l'eau distillée stérilisée. Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi et al., 2006).

I.2.3. Etude *in vivo*

I.2.3.1. Préparation de la solution du pesticide

La métribuzine a été solubilisé dans l'eau potable des lots 1 et 2 ,à raison de 30mg/Kg de poids corporel, par voie orale durant un mois (**Boutera et al., 2017**).

I.2.3.2. Préparation des solutions des extraits végétaux

L'extrait éthanolique de l'espèce végétale *Lepidium sativum* a été solubilisé dans l'eau physiologique stérile (NaCl 0,9%) est injecté par voie intra-péritonéal aux rattes des lots 1 (La concentration de l'extrait est calculée en fonction du poids vif de l'animal; 300mg/kg pendant une semaine successivement) .

I.2.3.3. Préparation le médicament de carboplatine

C'est médicament largement utilise en chimiothérapie de concentration 1mg/ml(**Nam et al.,2013**)

I.2.3.4. Conception expérimentale

L'ensemble des rattes ont été divisé en six groupes et garder dans des mêmes conditions. Après une période d'adaptation de 2 mois, les rattes ont été traités pendant un mois . Le poids a été enregistré pendant la durée de l'expérimentation :

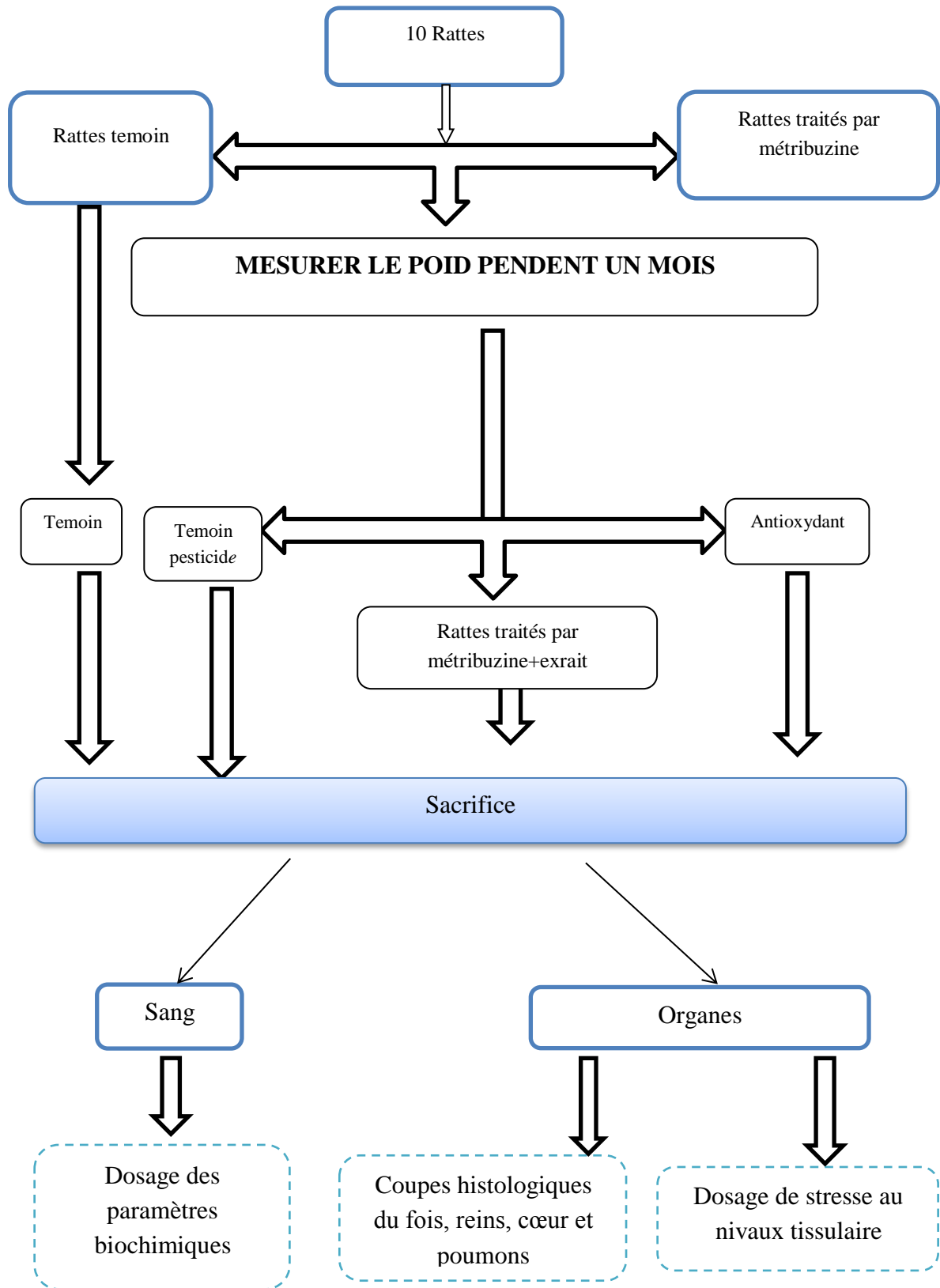


Figure 12: Protocole expérimentale des rattes traités par le pesticide

I.2.3.5. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes

Après 16 h de jeûne, les rattes sont sacrifiées (par décapitation) après la mesure de poids de chaque ratte. Au moment du sacrifice, le sang est collecté dans des tubes secs pour chaque ratte. Le sang est ensuite centrifugé à 3000 tours/minute pendant 15 minutes pour la récupération du sérum. Le sérum est utilisé pour le dosage des paramètres biochimiques. Après la dissection, le foie, les reins, le cœur et la rate sont attentivement prélevés, rincés avec l'eau physiologique et ensuite pesés. Les organes sont utilisés pour la préparation de l'homogénat. Les homogénats des organes sont utilisés pour le dosage des paramètres du stress oxydatif (MDA, GSH et catalase).

I.2.3.5.1 Méthodes de l'analyse sanguine

Les paramètres biochimiques mesurés sont les suivants:

Glycémie, Acide urique, Urée sanguin, TGO, TGP, Phosphatase alcalines, Cholestérol, LDL et le LDH. Chaque paramètre a une méthode de dosage spécifique et leur valeur liée au spectrophotomètre.

✓ Pour les rattes rendus diabétiques

Expérimentation animale après 3 mois d'adaptation, les rattes femelles ont été réparties en deux lots de trois rattes, la première lot injecté par l'alloxane et la deuxième lot injecté par l'alloxane et traité par l'extrait éthanolique de *L.sativum*. L'identification individuelle des rattes se fait par la coloration au niveau de la queue.

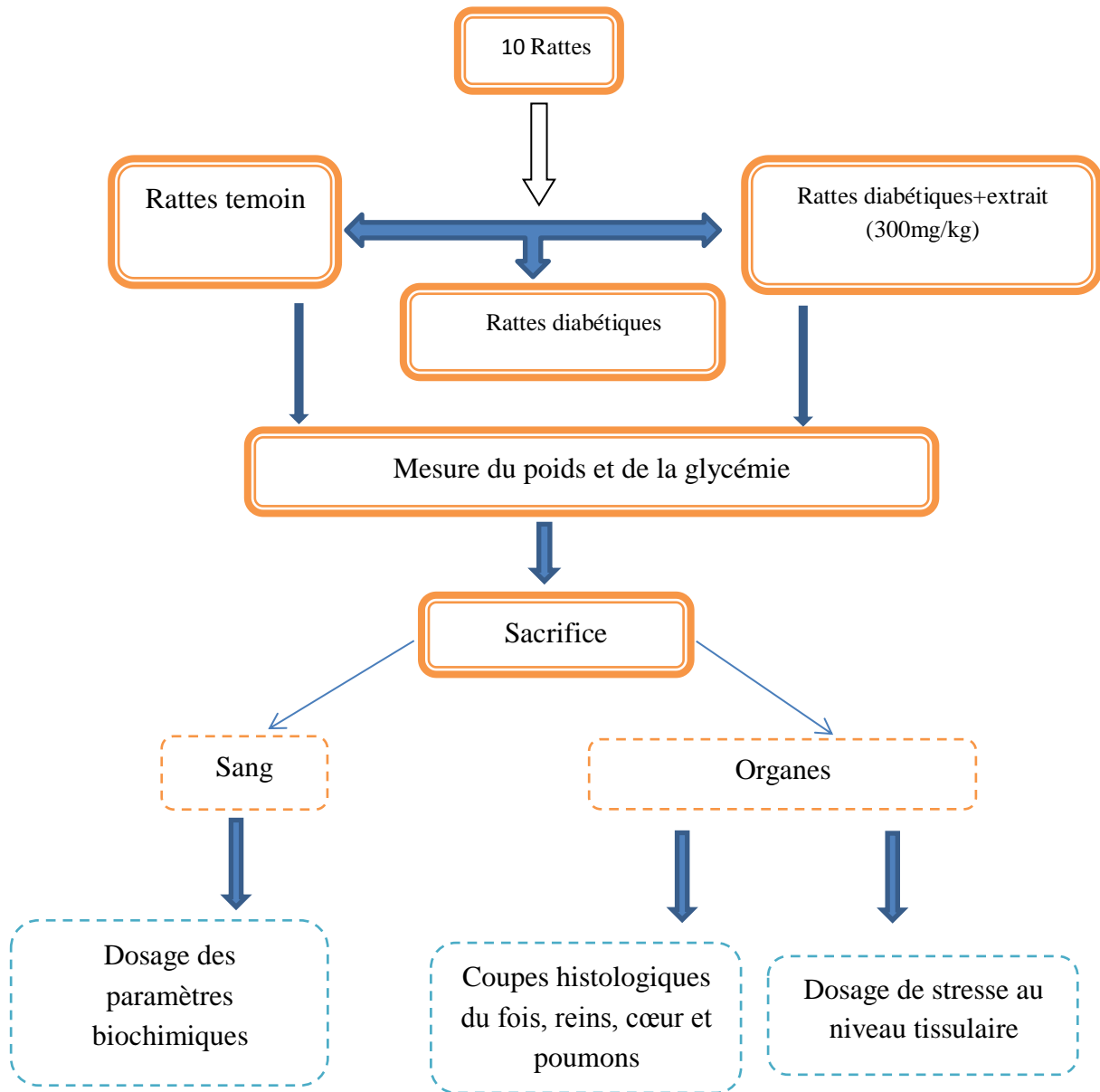


Figure 13: protocole expérimentale des rattes traités par l'alloxane

1. Induction de diabète par alloxane

L'induction du diabète expérimental chez la ratte en utilisant des produits chimiques qui détruisent sélectivement du pancréas les cellules β est très pratique et simple à utiliser. Les substances les plus habituelles pour induire le diabète chez la ratte sont l'alloxane et le streptozotocine. (Szkudelski, 2001). Dans notre étude l'alloxane a été utilisé (figure 13).

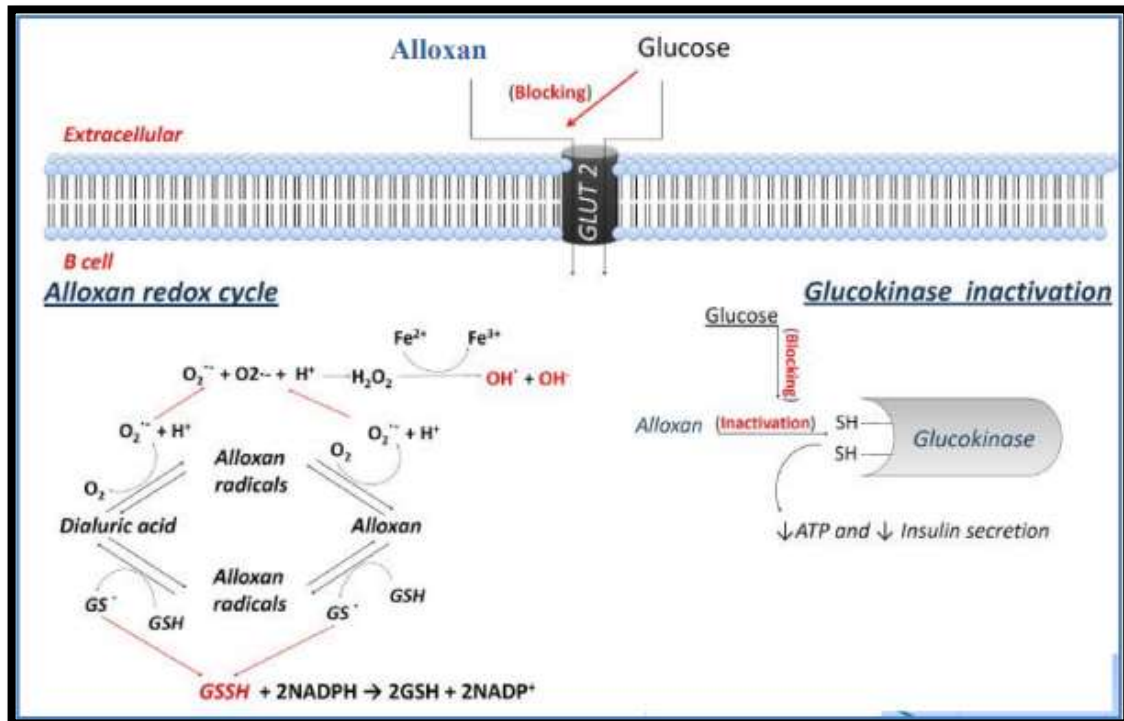


Figure14 : Mécanisme d'action de l'alloxane (Miroslav et al., 2016).

❖ Injection d'alloxane

Les animaux ont été pesés et injectés par voie intrapéritonéale par une dose de 150 mg / kg d'alloxane dissous dans une solution d'eau physiologique. Le diabète sucré a été confirmé après 72 heures d'injection d'alloxane en testant les niveaux de glucose sanguin à jeun en utilisant un glucomètre contrôle plus actif et bandelettes de test de glucose (Akinnuga, 2014). Après l'injection, les rattes avaient libre et accès à la nourriture et de l'eau, également après 6 heures les rattes injectées ont reçu une solution de glucose à 5% pendant la nuit pour éviter un choc hypoglycémique (Ahmad et al., 2016). Les rattes ayant une glycémie indice supérieur à 200 mg/dl ont été retenus pour l'étude expérimentale (Wacim et al., 2013). La glycémie des rattes a été mesurée par le glucomètre au début de l'essai et le premier jour de chaque semaine.

2. Traitement des animaux

Après la période d'induction du diabète les rattes ont été réparties en trois groupes de trois rattes qui ont été traités pendant 4 jours comme suivant:

Groupe 1 (Témoin) : Le groupe témoin non diabétique a reçu l'eau physiologique (0.9% NaCl) par gavage.

Groupe 2 (Diabétique) : Le groupe témoin diabétique a reçu seulement l'alloxane et le glucose.

Groupe 3 (Déiabétique+extrait) : Les rattes ont reçu 300mg/Kg d'extrait pâte de *Lepidium sativum* par injection pendant 4 jours.

3. Evaluation de la glycémie et le poids des rattes

Durant la période de traitement (jour 1 à jour 4), la glycémie a été mesurée à jeun dans les jours J1-J2-J3- J4 à l'aide d'un appareil glucomètre contrôle plus. En effectuant une petite incision dans la partie finale de la queue après qu'il doit être désinfecté par l'alcool. Dans le J4, la glycémie a été mesurée à jeun par dosage colorimétrique (après sacrifice).

4. Sacrifice et prélèvements des organes

A la fin de la période du traitement, les animaux sont mis à jeun pendant une nuit. La glycémie à jeun et le poids des rattes dans le dernier jour du traitement sont notés. Ensuite ils sont sacrifiés par décapitation, la glycémie a été mesurée et le sang a été immédiatement recueilli dans deux tubes différents:

L'un à EDTA : destiné au dosage des paramètres hématologiques.

L'autre sec: a subi une centrifugation à 5000 tours/min pendant 15 minutes, ensuite le sérum résultant est récupéré puis placé à -20 °C, il est destiné au dosage des paramètres biochimiques.

I.2.3.5.2 Prélèvement de certains organes

Après le sacrifice, le foie, les poumons, les reins, le cœur et la rate ont été prélevés. Les reins, la rate, le cœur, les poumons et une partie du foie, ont été stockés au congélateur à -20 °C pour le dosage des paramètres de stress oxydant.

Méthode de dosage des Malondialdéhyde (MDA) tissulaires

- **Principe**

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532 nm (Yagi, 1976).

Réactif :

Acide trichloroacétique (TCA) 20% P/V; Acide thiobarbiturique (TBA) 0,375% P/V; Butylhydroxytoluène (BHT) 0,01% P/V ; Chlorure d'hydrogène (HCl) 1 N. 375 mg de TBA, 20g de TCA, 0,01g de BHT, 25 ml de HCl 1 N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100 ml et le volume complété à l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

- **Mode opératoire**

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 100 µl d'échantillon, 400 µl de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100 °C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

- **Expression des résultats**

La concentration de TBARS a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{mol/l}$.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de prot}) = (Do \text{ échantillon} / 1,53 \times 10^5) / \text{mg de prot}$$

A. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH) tissulaires

- **Principe**

Le glutathion a été déterminé suivant une méthode colorimétrique de (Weckbercker & Cory, 1988) par un spectrophotomètre, la mesure de la densité optique résulte de la formation de l'acide 2- nitro-5 mercapturique à partir de la réduction de l'acide dithio-bis2-

nitrobenzoïque ce qu'on appelle réactif de d'Ellman avec les groupements SH existent dans le GSH.

- **Mode opératoire**

- ✓ Peser 250mg de tissus hépatique.
- ✓ Broyer le tissu avec 10 ml de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4) jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.
- ✓ Prendre 0.8 ml de solution homogène et 0.2ml de l'acide salicylique (0.25%) solution 2.
- ✓ Mélanger avec l'agitateur et laisser 15 minute dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 t/min pendant 5 minutes et le surnagent utiliser pour le dosage de glutathion comme suite :

$$(GSH)(nM/mg \text{ de prot}) = \frac{Do \times 1 \times 1.525}{13133 \times 0.8 \times 0.5 \times mg \text{ de prot}} \times d$$

13133: constante d'absorption des groupes SH à 412 nm.

DO: la lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.

1.525ml: volume total de mélange.

0.5ml: volume de solution surnagent.

1: volume de mélange de protéine.

0.8ml: volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.

(GSH): concentration de glutathion.

d : facteur de dilution.

C. Méthode de dosage de l'activité enzymatique du catalase

- **Principe**

Un mélange est constitué de 1 ml de tampon phosphate (KH₂PO₄, 0.1 M, pH 7.2), 0.975 ml de H₂O₂ fraîchement préparé (0.091 M) et de 0.025 ml de la source d'enzyme (homogénat). L'absorbance est lue à 560nm chaque minute pendant 2 minutes (Clairborne,1985).

Calcul

L'activité enzymatique est calculée en terme d'unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI / min/g de protéine), selon la formule :

$$UI/g = (2.3033/T) \times (\log A1/A2) /g \text{ de protéine}$$

A1 : Absorbance à la première minute.

A2 : Absorbance à la deuxième minute.

T : Intervalle de temps en minute.

I.2.3.5.3 L'étude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du centre d'analyse pathologique Mouhamed ESSAIH ABI MILOUD , service l'anapath, de Touggourt (Ouargla) .

➤ Le prélèvement d'échantillon

Le prélèvement histologique est une biopsie qui est un prélèvement d'un très petit morceau de chaque organe (foie, poumon, cœur et reins) pour effectuer des examens (**Rezzag Mohcen & Serout ,2015**). Ils doivent être rapidement prélevés les organes pour éviter son autolyse qui s'effectue après quelques instants de la mort de l'animal. Après le rinçage des échantillons avec l'eau distillé ensuite avec du NaCl 0,9%, ils sont immédiatement fixés dans une solution de formol 30%.La technique utilisée comporte les étapes suivantes (**Boutera et al., 2017**) .

➤ Préparation des cassettes porteurs les biopsies

On met les biopsies (fragments des tissus) dans le formol quelque jours, puis on prend les fragments des tissus et on les met dans les cassettes et ensuite on ajoute le paraffine pour fixer les fragments et en fin on met les cassettes dans le congélateur en -23C ° pour la conservation (**Julie, 2007**).

➤ Obtention des coupes histologiques

A l'aide d'un microtome, on fait les coupes histologiques :

- On place la cassette qui porte la biopsie dans l'appareil (le microtome) et en fait le coupage
par (18 µm puis 5, 8 ou 10 µm) pour obtenir des tranches fines (rubans).

- On met les tranches fines (rubans) dans un bain marie (à 37 C °) durant quelque seconds (≈ 1 min) pour le paraffine devient friable (détrempé).
- A l'aide des lames, on prend ces rubans du bain marie et en les place sur porte lame.
- Dans une étuve, on pose le porte lame à 110 C ° durant 7minutes pour éliminer le paraffine (**Jean et al., 2008**).

➤ **Coloration**

Pour la coloration, la technique utilisée est celle à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine) ; qui nécessite la présence de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70% + 50 ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée + 2 ml ammoniacque) et solution d'Eosine (100ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125 ml alcool éthylique à 95%, 375 ml d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique).La coloration suit les étapes suivantes :

Déparaffinage et hydratation des lames à l'eau du robinet puis rinçage à l'eau distillée. Puis sont misent dans un bain d'Hématoxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).Les lames sont plongées dans l'alcool acide (1 à 2 plongées); ensuite dans un bain d'eau du robinet avec vérification de la différenciation au microscope. Misent dans un bain d'eau ammoniacale, puis dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 minutes) qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme). Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet.

➤ **Le montage**

Après l'enlèvement des lames d'xylène on fait le montage; on humide un peu la lame par l'xylène puis on met un peu de quantité de colle spécifique (l'EUKITT) qui permet de coller bien la lame avec la lamelle et aussi de donner une observation très clair et transparent, puis on met la lamelle, et on presse un peu pour enlever le reste d'air (**Rezzag mohcen & Serouti ,2015**).

➤ **Observation**

On utilise le microscope optique pour observer les résultats par l'agrandissement(x40); et photographiées à l'aide d'un appareil photo.

I.2.4. Analyses statistiques

Les résultats des tests sont exprimés en moyenne \pm SD. L'évaluation statistique des résultats est effectuée par le test T student; qui est basé sur la comparaison entre deux moyennes. Pour cela, on a utilisé les logiciels de MINITAB (version 17) et EXCEL (version 2010).

La signification est déterminée par la valeur $\alpha=0.05$; Si :

$P < 0.05$: Différence significative.

$P < 0.01$: Différence hautement significative.

$P < 0.001$: Différence très hautement significative.

$P > 0.05$: Différence non significative.

Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition=f(concentration)].

Chapitre II

Résultats et Discussion

Chapitre II: Résultats et Discussion

II.1. Résultats et interprétation

II.1.1. Enquête ethnobotanique:

En janvier 2019, on a réalisé une enquête ethnobotanique sur la plante médicinale de *L.sativum* dans la région d'El-oued à l'aide d'une questionnaire distribuée à 100 personnes de 20 à 80 ans (24 hommes et 76 femmes).

- Selon le sexe

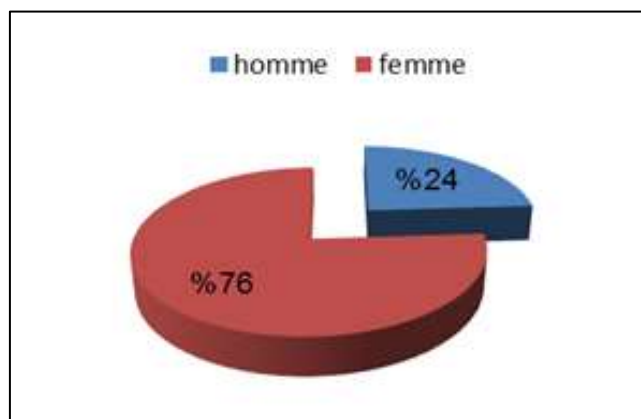


Figure 15: Représentation statistique des résultats l'enquête ethnobotanique selon le sexe.

Dans la zone d'étude, les hommes et les femmes sont concernés par la médecine traditionnelle (Figure 15). Cependant, les femmes ont un peu plus de connaissances sur les espèces médicinales *Lepidium sativum* par rapport aux hommes (76% contre 24%).

- Selon l'âge

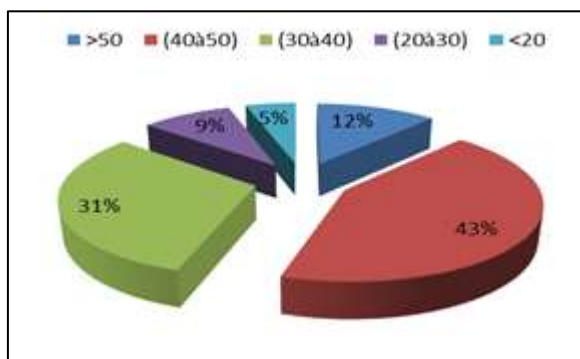


Figure 16: Représentation statistique des résultats l'enquête ethnobotanique selon l'âge.

L'utilisation des plantes médicinales (Figure16) dans la région d'El-oued est répandue chez toutes les tranches d'âge, avec une prédominance chez les personnes âgées de 40 à 50 ans (43%). Cependant, pour la tranche d'âge de 30 à 40 ans, on note un taux de

(31%), et pour la tranche d'âge de plus 50ans (12%), et pour les personnes de 20à30ans, l'utilisation des plantes médicinales (9%) ne représente pas un grand intérêt thérapeutique, la même chose chez les personnes inférieure de 20 ans(5%).

• **Selon la reconnaissance**

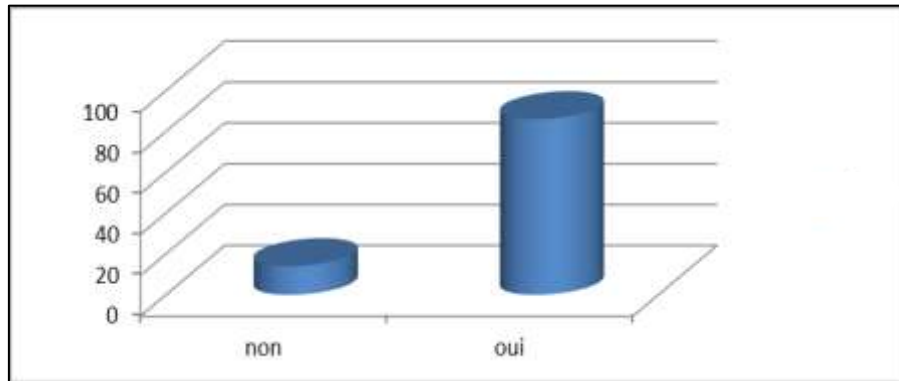


Figure 17: Représentation statistique des résultats d'enquête ethnobotanique selon la reconnaissance.

Dans la zone d'étude, la plupart des personnes connaissent *Lepidium sativum*.

• **Selon la source d'information**

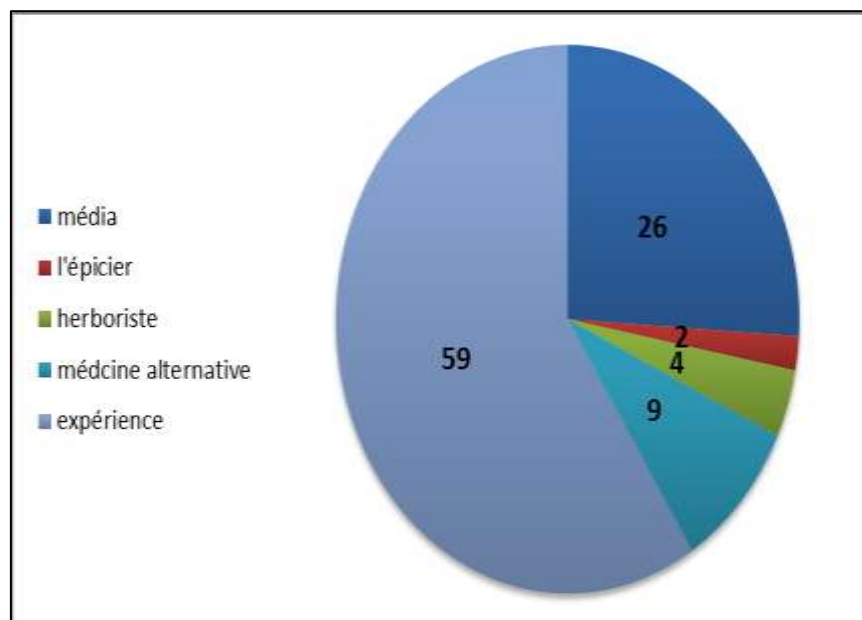


Figure 18: Représentation statistique des résultats l'enquête ethnobotanique selon la source d'information.

la source d'information de plante utilisée dans la région d'étude est un taux de 59% par expérience, médecine alternative 26% herboristes 4% et l'épicier 2%.

- Selon le niveau d'étude

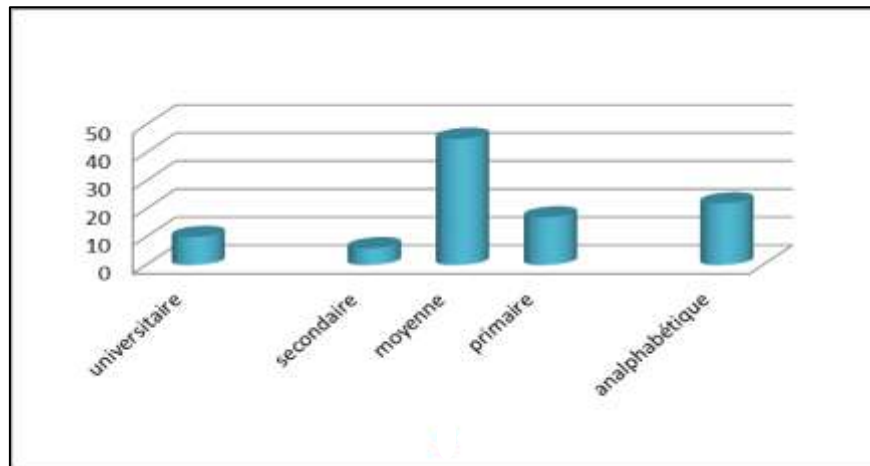


Figure 19: Représentation statistique des résultats d'enquête ethnobotanique selon le niveau d'étude.

Selon la (figure 19) , la grande majorité des usagers des plantes médicinales ont un niveau moyen avec un pourcentage de (40 %), cela est relativement lié avec le niveau d'étude de la population locale utilisatrice des plantes. Néanmoins, les personnes analphabétiques ont un pourcentage d'utilisation non négligeable des plantes médicinales qui est de (20%), alors que celles ayant un niveau d'études primaire ont un pourcentage (11%), sachant que ceux ayant le niveau secondaire et universitaires, utilisent très peu les plantes médicinales: niveau secondaire (5%) et universitaire (2%).

- Selon le mode d'utilisation

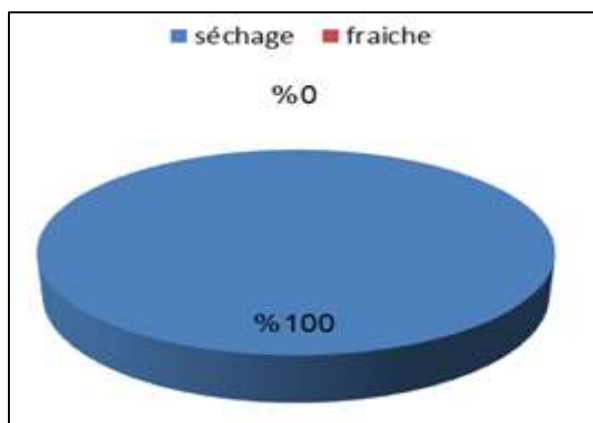


Figure 20: Représentation statistique des résultats d'enquête ethnobotanique selon le mode d'utilisation.

Dans notre enquête nous avons trouvé que la plupart des personnes utilisent la plante en état sèche (100%) .

- Selon le mode de préparation

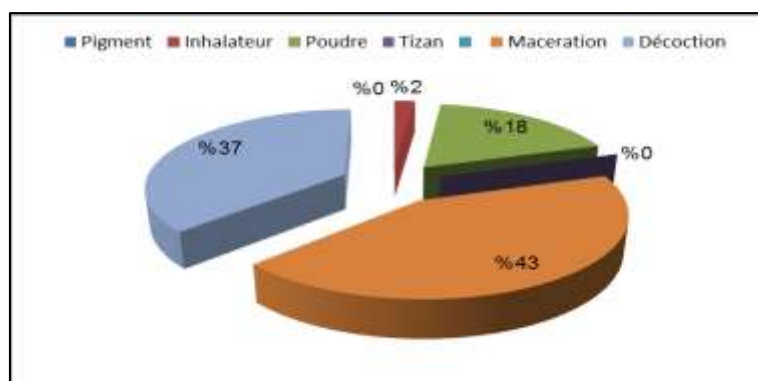


Figure 21: Représentation statistique des résultats de l'enquête ethnobotanique selon le mode de préparation.

D'après l'enquête, le mode de préparation de la plante varie en fonction de l'efficacité du mode vis à vis la plante. Le mode de macération est le mode le plus dominant (43%). Ce pourcentage montre que la population locale fait confiance à ce type de préparation. Le mode de décoction est indiquée avec un taux de (37 %). La préparation en poudre (18%) et inhalation (2%), pour pigment et tisane non utilisés (0%).

• Selon la partie utilisée

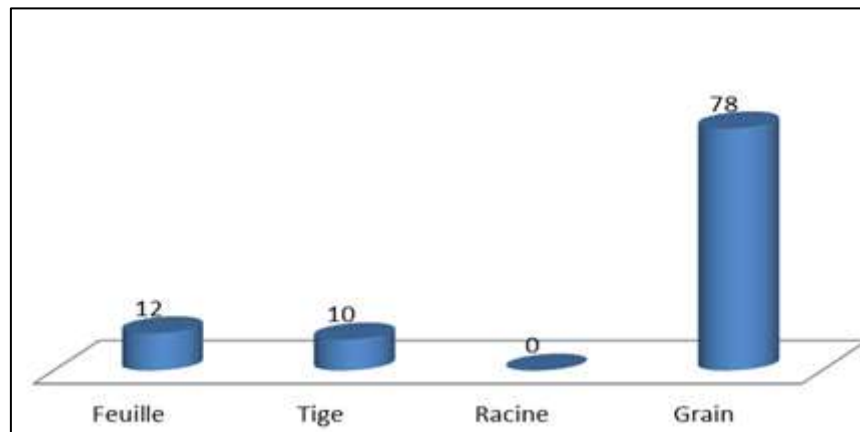


Figure 22: Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon la partie utilisée.

Les principes actifs peuvent être situés dans différentes parties des plantes médicinales (partie aérienne, plantes entière, feuilles, fleurs, racines, écorce, fruits, graines, rhizome...). Dans la zone d'étude, les graines sont les plus utilisées des plantes médicinales avec un taux de (78%), suivies par les feuilles (12%), puis vient le tige avec un taux d'utilisation de (10%), les racines et les autres combinaisons (0%), (Figure22).

• Selon les maladies traitées

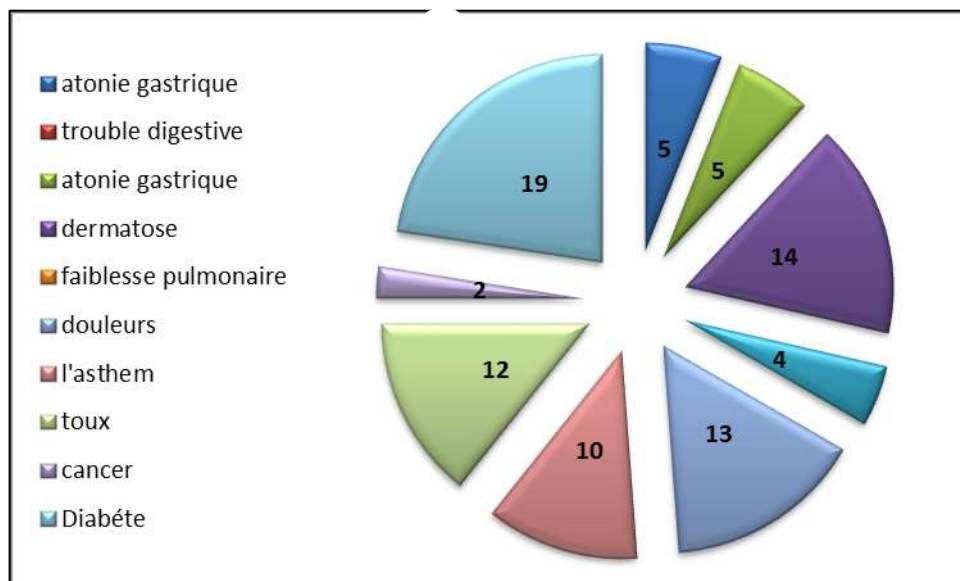


Figure 23: Représentation statistique des résultats d'enquête ethnobotanique selon les maladies traitées.

Les résultats obtenus montrent que *Lepidium sativum* est utilisé en médecine traditionnelle interviennent dans le traitement des troubles digestifs avec un pourcentage (21%), diabète (19%) dermatose (14%), douleurs (13%), le toux (12%) et l'asthme (10%) puis les autres affections (Figure 23).

II.1.2. Rendement d'extraits éthanolique

L'extrait obtenu après macération dans l'éthanol d'aspect collant et pâteux, de couleur marron foncé a été pesé pour déterminer son rendement.

Le rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche de plante étudiée par macération est représenté dans le tableau:

Tableau 04: Rendement de l'extrait éthanolique de *L.sativum*

	Poids sec utilisée (g)	Poids sec obtenus (g)	Pourcentage d'extrait (%)
Rendement	80	3.17	3.96

II.1.3. Screening phytochimique

Ce teste consiste à détecter les différents composés chimiques existants dans les graines de *Lepidium sativum* par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Ces dernières permettent de définir la présence ou non de quelques métabolites secondaires. Les résultats des tests de criblage phytochimique préliminaires sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 05: Résultats du criblage phytochimique des graines de *Lepidium sativum*

<i>Le composé chimique</i>		<i>Présence/Absence dans le matériel végétal</i>
<i>Quinones libres</i>		-
<i>Tanins</i>	<i>Condenses</i>	-
	<i>Catéchiques</i>	+++
<i>Saponines</i>		+
<i>Flavonoïdes</i>		++
<i>Phénols</i>		+++
<i>Stérols, triterpènes</i>	<i>Sterols</i>	+++
	<i>Triterpènes</i>	-
<i>Flavonoïdes glycosides</i>		+++

(+): Test faiblement positif, (-): Test négatif ; (++): Test positif , (+++): Test fortement positif

Ce tableau montre que les graines de *Lepidium sativum* renferment des flavonoïdes, des phénols, des tanins catéchiqes, des flavonoïdes glycosides, stérols et des saponines. Cette plante est toutefois dépourvue de tanins condensés, des triterpènes et des quinones libres.

II.1.4. Analyse quantitative des composés phénoliques

II.1.4.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)

La teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été effectuée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des polyphénols correspondantes d'extrait ont été rapportées en μg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (μg EAG/ g MS). est déterminé par l'équation de type:

$$y = 0.2176x + 0.084 \text{ avec } R^2 = 0,9954.$$

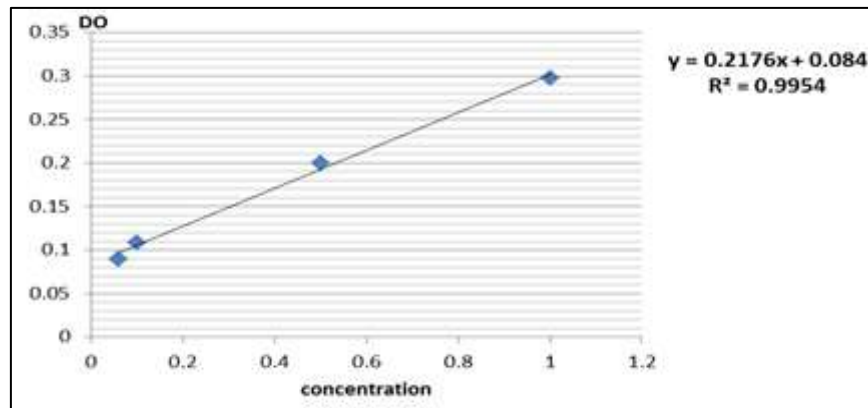


Figure24: Courbe d'étalonnage de dosage des polyphénols

3.2.Teneurs en flavonoïdes totaux (FVT)

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et l'étalon est la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme de matière végétale sèche (μg EQ/mg de ES). Le taux des flavonoïdes d'extraits a été obtenu à partir du courbe d'étalonnage qui suit une équation de type:

$$y=0.1339x+0.0001 \text{ avec } R^2 = 1$$

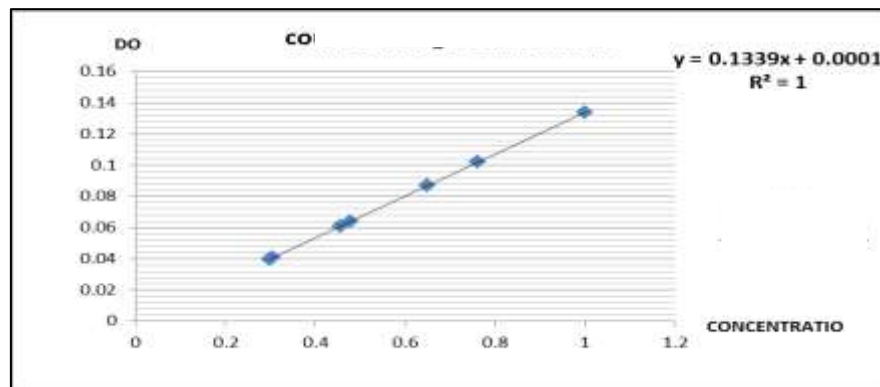


Figure 25: Courbe d'étalonnage de dosage des flavonoïdes.

Tableau 06: Dosage des composés phénoliques dans l'extrait éthanolique.

<i>Paramètres</i>	<i>Etalon sélectionné</i>	<i>Longueur d'onde (nm)</i>	<i>Taux ($\mu\text{g eq/mg ES}$)</i>
<i>Polyphénols</i>	<i>Acide gallique</i>	750	8693.182±0.006
<i>Flavonoïdes</i>	<i>Quercetine</i>	415	1003.788±0.003

II.1.5. Etude de l'activité antioxydant

II.1.5.1. Par méthode spectrométrique

✓ Test du piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydant de notre extrait a été évaluée par test DPPH; dans ce test on utilise l'acide ascorbique comme standard, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont représentés dans la courbe d'étalonnage (figure 25), ayant l'équation: $Y = 3588x - 3.075$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.982$

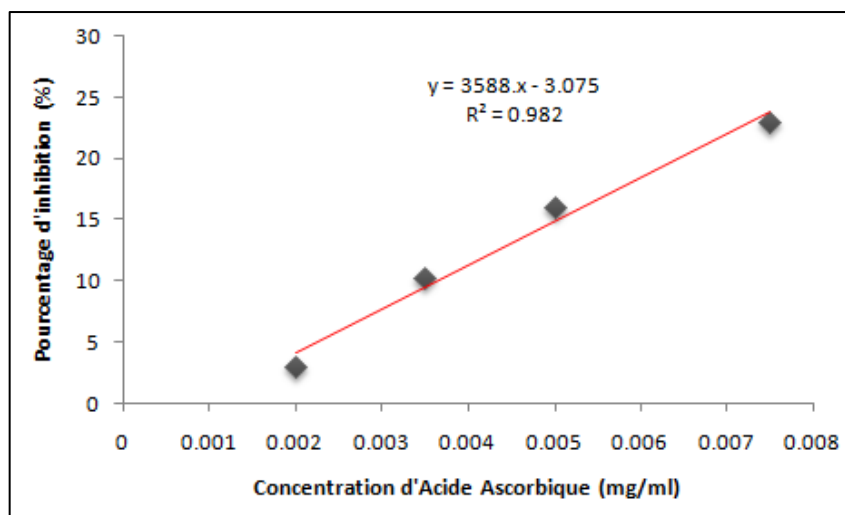


Figure 26: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

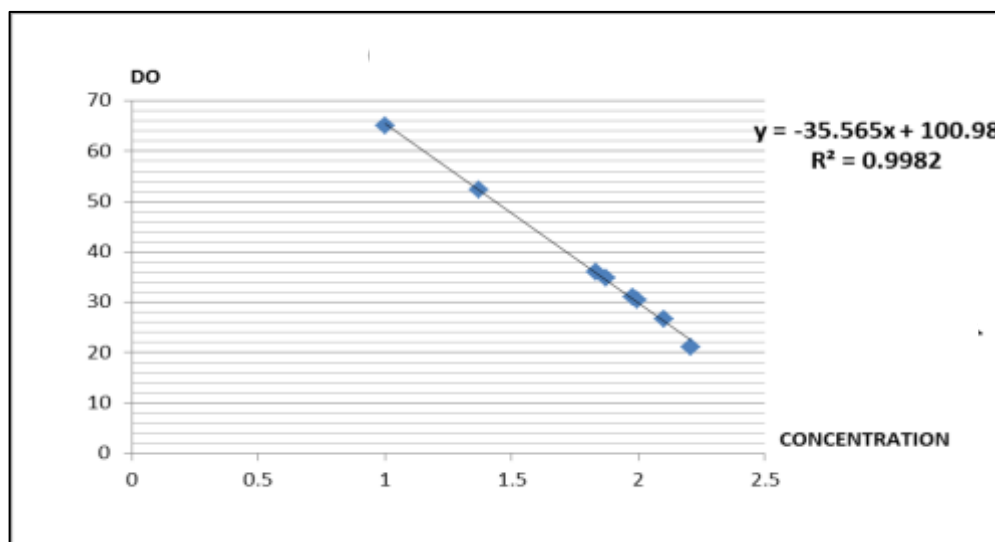


Figure 27: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait éthanolique.

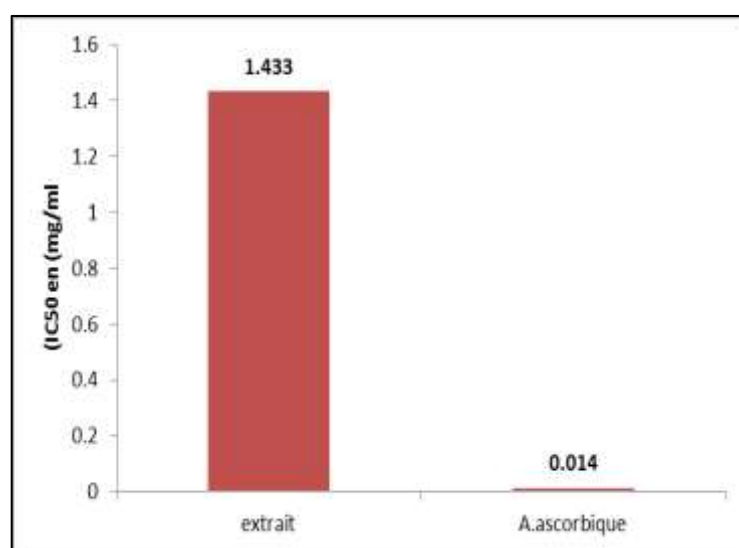


Figure 28: Valeur IC₅₀ d'extrait pate de *L.sativum* et composé standard (Acide ascorbique)

L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC₅₀(**figure 28**), ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). Ces IC₅₀ sont déterminés graphiquement des deux tests séparés, dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage. La valeur de chaque IC₅₀ exprime la concentration de l'extrait exigée pour réduire 50% de DPPH en solution.

Les résultats montrent un pouvoir antioxydant plus important de l'extrait éthanolique de *Lepidium sativum* ($IC_{50}=1.433 \pm 0.005$ mg/ml) en comparaison avec le contrôle positif "Acide ascorbique" ($IC_{50} = 0.014$ mg/ml).

II.1.5.2.Par méthode électrochimique

✓ Etude de l'activité antioxydante total

Puisque l'acide gallique est connu pour ses propriétés antioxydantes très intéressantes, il est donc utilisé comme standard dans notre étude, nous notons que l'étude est effectuée dans le domaine d'électroactivité d'acide gallique pour évaluer l'activité antioxydante de notre échantillon.

❖ Réponse de courant et la courbe d'étalonnage d'acide gallique

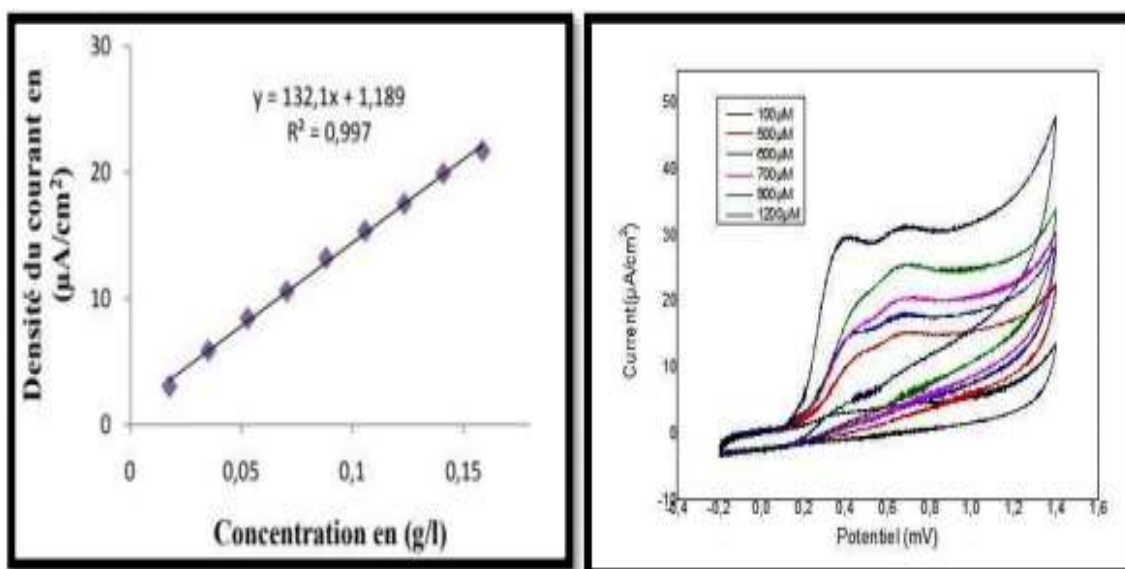


Figure 29: Les courbe d'étalonnage d'acide gallique pour la voltamétrie cyclique.

❖ Voltampérogramme cyclique d'extrait éthanolique

❖ Paramètres électrochimiques

Les paramètres électrochimiques d'extrait éthanolique de *L.sativum* étudiés sont rassemblés dans les tableaux ci-dessous:

Tableau 07 : Paramètres électrochimiques de voltamogramme d'extrait éthanolique

C (mg/ml)	C (g/ml)	I ($\mu\text{A}/\text{cm}^{-2}$)	E(mV)
0.508	0.00508	2.7068	306.95

la valeur de l'activité antioxydante totale calculées par la formule:

$$AAT \left(\frac{mg}{g} \right) = \frac{Cg \left(\frac{g}{L} \right)}{Cg \left(\frac{g}{mL} \right)}$$

Tableau 08: Activité antioxydante totale d'extrait éthanolique de *Lepidium sativum*

Equation	A	B	C	AAT(mg/ml)
			nouvel(mg/ml)	
$Y=96.424x+2.6344$	96.424	2.634	0.0007508504	1.5

✓ Evaluation de l'activité antioxydante par le piégeage de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$

❖ Voltammogramme et courbe d'étalonnage d'antioxydant standard (Acide gallique)

L'antioxydant standard avec différentes quantités est dissout dans le DMF, pour obtenir des concentrations différentes à chaque injection dans la cellule avec lesquelles on peut tracer leur courbe d'étalonnage. Ensuite, les voltammogrammes du standard ont été enregistrés.

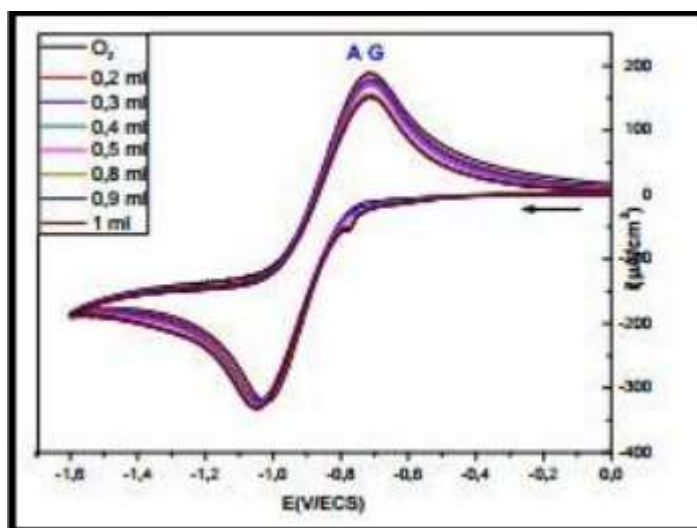


Figure 31: Voltammogrammes de $O_2 \bullet^-$ en présence de différentes concentrations d'acide gallique, dans le DMF+0.02 M Bu_4NBF_4 , vitesse de balayage 100mv

❖ Voltammogrammes des produits étudiés (testés)

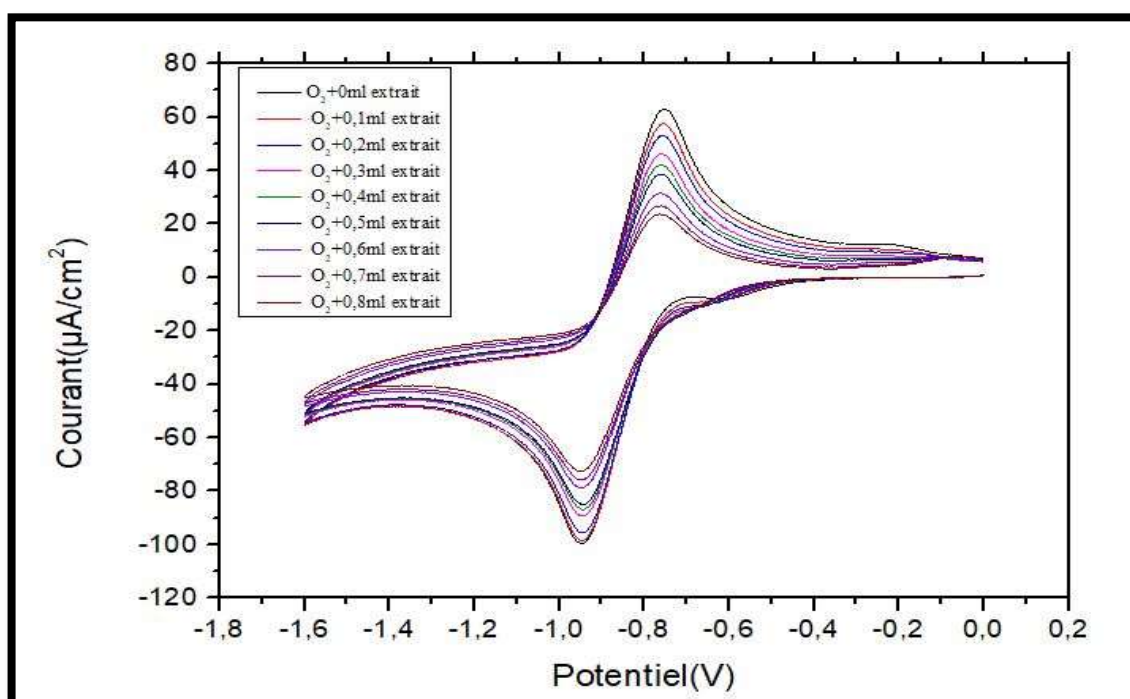


Figure 32: Voltammogrammes de $O_2 \bullet^-$ en présence de différentes concentrations d'extrait éthanolique, dans le DMF + 0.02 M Bu_4NBF_4 , vitesse de balayage 100mv.

En se basant sur l'équation : $(\%) = \frac{I_{p0} - I_{ps}}{I_{p0}} \times 100$

on peut calculer les pourcentages d'inhibition du superoxyde anion dans la cellule par les antioxydants standards ainsi que par les produits étudiés.

On peut tracer la courbe qui représente les pourcentages d'inhibition de superoxyde en fonction des concentrations d'antioxydants standard dans la cellule.

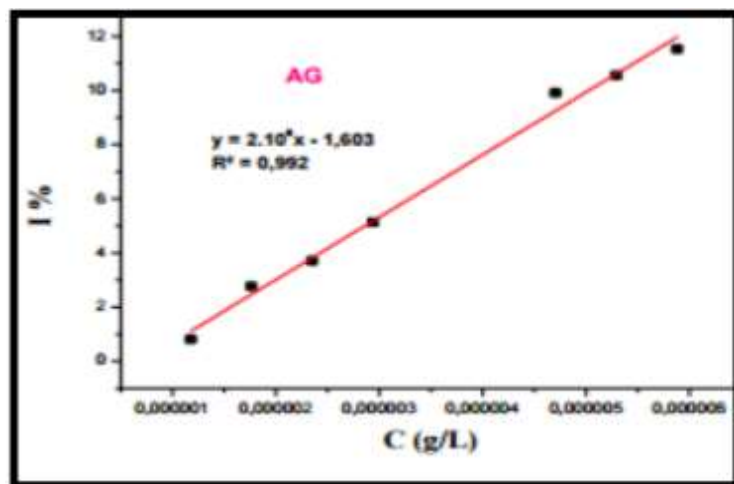


Figure 33: Evolution du pourcentage d'inhibition de superoxyde en fonction du concentration de l'acide gallique.

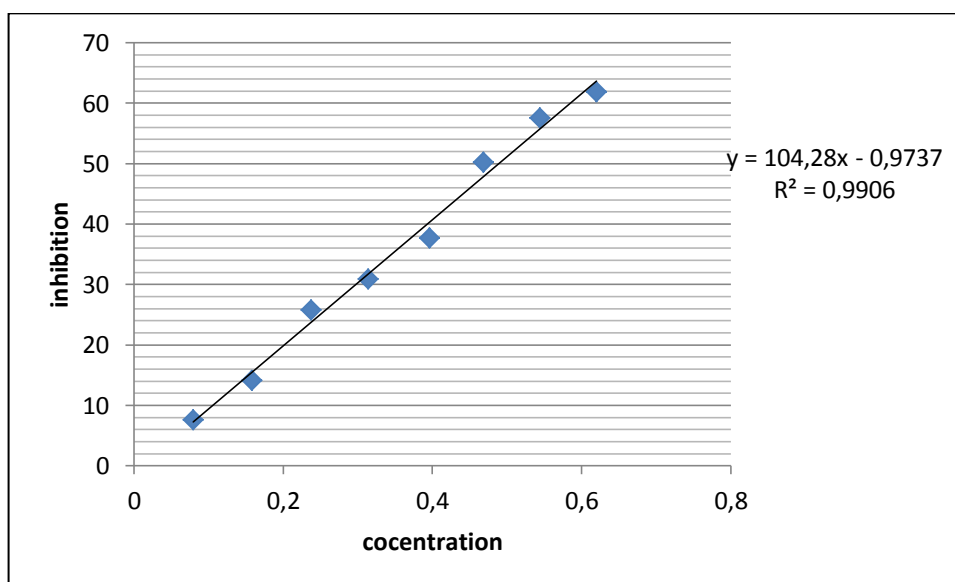


Figure 34: Evolution du pourcentage d'inhibition de superoxyde en fonction du concentration d'extrait éthanolique de *Lepidium sativum*.

A partir des équations linéaire , on peut calculer les IC₅₀ en g/l (tableau10).

Tableau 10: IC₅₀d'acide gallique et d'extrait éthanolique avec les équations linéaire.

Composition	Equation	R ²	IC ₅₀
Acide gallique	y=79.83x- 1.603	0,992	2,58.10 ⁵
Extrait éthanolique	Y=104.28x-0.9737	0.99	0.488

II.1.6. Etude de l'activité antibactérienne d'extraits brut de *Lepidium sativum*

L'étude du pouvoir antibactérien d'extraits de *Lepidium sativum* par la méthode de diffusion sur gélose. La mesure du diamètre des zones d'inhibition y compris le disque (5 mm) permettent de déterminer cette activité antimicrobienne de cette plante in vitro. Le tableau indique les résultats des tests d'activité antimicrobienne d'extrait issus de la plante "*Lepidium sativum* "sur les souches bactériennes.

Tableau 11: Etude de l'activité inhibitrice d'extraits de *Lepidium sativum*

Souche	Diamètres d'inhibition en (mm)	Les antibiotiques standard			Concentratin de plante en (mg/ml)			
		Pénicilline	Gentamicine	Amoxilline	0.5	1	2.5	5
<i>Escherichia coli</i>		0	26	14	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		0	39	0	10	7	9	9
<i>Klebsilla pneumonie</i>		0	28	0	12	10	10	10
<i>Salmonella Enteric</i>		0	34	0	8	9	10	7
<i>Listeria monocytogenes</i>		0	24	42	10	6	6	9

NB: Notre extrait a réagi avec les souches microbiennes testée sauf la souche *E.coli* .

On remarque aussi la présence de pouvoir inhibitrice d'extrait contre la croissance bactérienne dans différents concentrations comparativement au témoin positif qui a réagi fortement .

II.1.7. Effet de traitement par l'extrait de *Lepidium sativum* et le Carboplatine chez les rattes exposées au métribuzine et les ratte diabétique

II.1.7.1. Effet sur le poids relatif des organes

Les foies, les reins, les cœurs et les poumons sont attentivement prélevés, les poids relatif de ces organes sont calculés comme suit :

$$\frac{\text{poids d'organe}}{\text{poids totale deratte}} \times 100$$

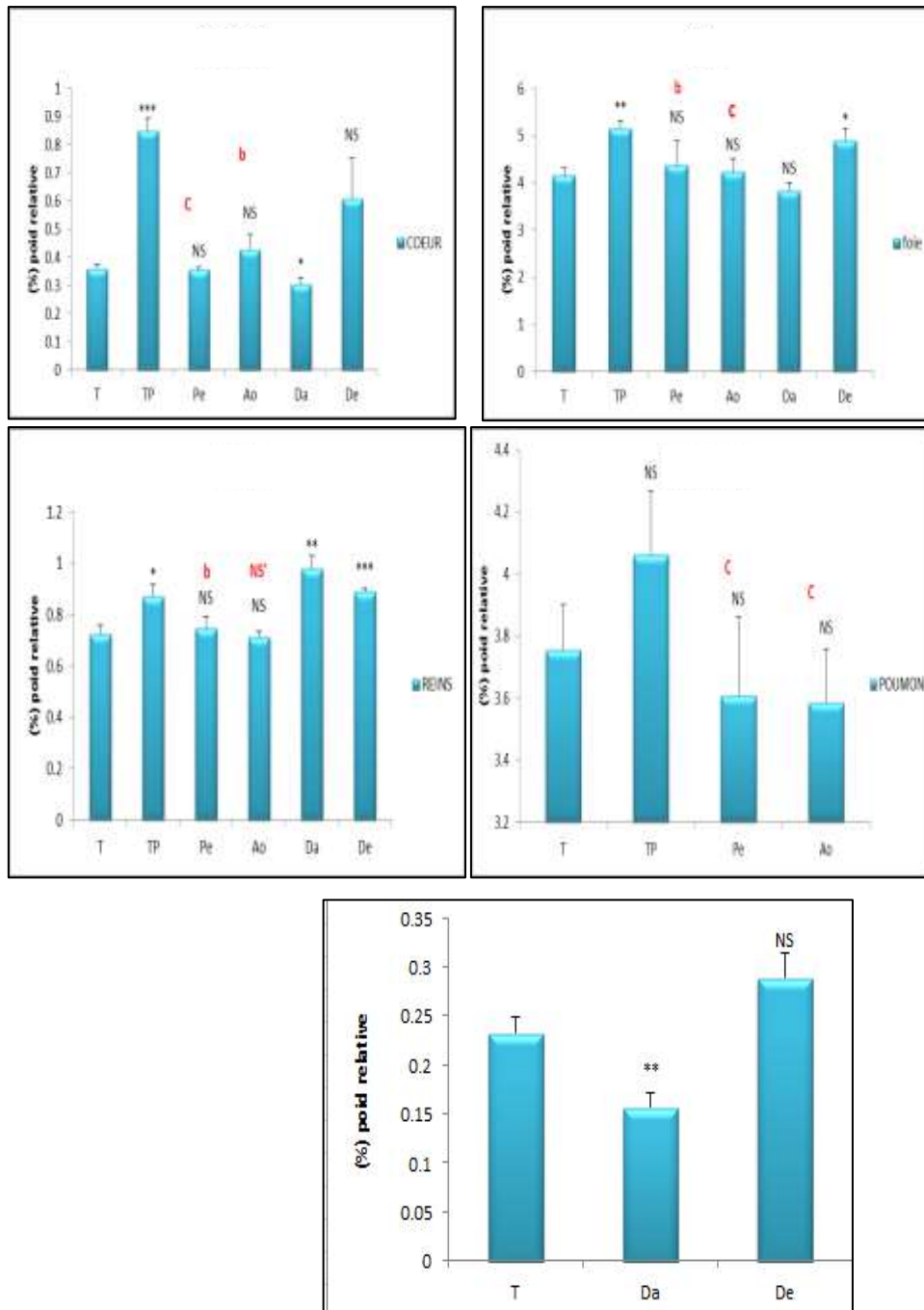


Figure 35: Poids relatif des organes (foie, reins ,cœur, la rate et poumon) chez les différents groupes expérimentaux.

*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001 ; NS P > 0.05 comparaison avec le lot témoin.

a p < 0.05; b p < 0.01; c p < 0.001 ; NS' P > 0.05 comparaison avec le lot témoin pesticide.

TP:temoin pesticide; **T:**temoin; **Pe:** pesticide +extrait;**Ao:** pesticide+carboplatine; **Da:** diabète+ alloxane;**De:** diabète+ extrait.

Les résultats présentés dans la figure 35 : montrent une augmentation significative (p0,05) du poids relative des reins de groupe exposé au métribuzine (TP) et augmentation non

significative concernant le poids relatif de poumon et augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) par rapport au groupe Témoin (T). En revanche; une diminution, hautement significative ($p < 0.01$) de poids relatif des reins et de foie chez les groupes traités d'extrait de *Lepidium sativum* (Pe) et diminution très hautement significative pour les poumon et le coeur ($p < 0.001$); et diminution non significative pour les rates traitées par AO pour les reins, hautement significative pour le Coeur et très hautement significative pour le foie et le poumon par rapport au (TP).

Et concernant les rates diabétique il ya une augmentation hautement significative pour les reins ($p < 0.01$), diminution non significative ($P > 0.05$), significative successivement pour le foie et la rate. Pour les rates traits par l'extrait de *Lepidium sativum* prouvoque une augmentation non significative pour la rate et le Coeur, augmentation significative pour le foie et très hautement significative pour les reins.

II.1.7.2 Effet sur les paramètres biochimiques

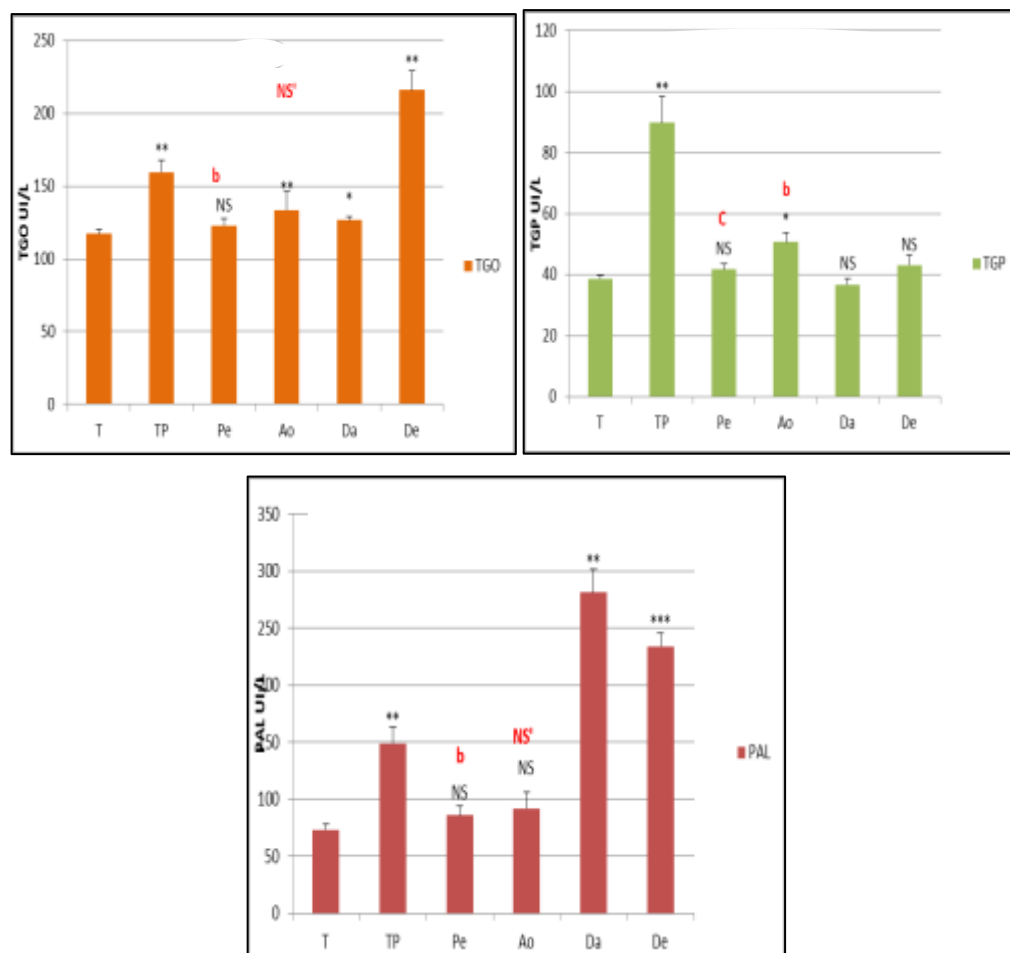


Figure 36: Effet sur les enzymes hépatique (TGO, TGP) et le taux de PAL chez les rates exposées au métribuzine, et les rates exposées au alloxane.

*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001 ; NS P > 0.05 comparaison avec le lot témoin.

a p < 0.05; b p < 0.01; c p < 0.001 ; NS' P > 0.05 comparaison avec le lot témoin pesticide.

Les résultats (fig.36) montrent que l'exposition des rattes au métribuzine(TP) provoque une augmentation hautement significative de taux du PAL, TGP, TGO (p < 0.01) par rapport aux rattes sains témoins(T). En revanche, le traitement des rattes par l'extrait de *Lepidium sativum*(Pe) de dose 300mg/kg provoque une diminution hautement significative de taux du PAL et TGO (p < 0.01) et une diminution très hautement significative (p < 0.001) de TGP, et pour le traitement des rattes par carboplatine (AO) on remarque une diminution non significative (P > 0.05) de PAL et TGO, et une diminution hautement significative (p < 0.01) de taux TGP par rapport aux rattes exposées au métribuzine (témoin pesticide).

D'un autre côté, les rattes diabétique injectées par alloxane (Da) provoque une augmentation hautement significative (p < 0.01) de PAL et augmentation significative (p < 0.05) de taux de TGO et provoque une diminution non significative de TGP (P > 0.05). on remarque aussi que le traitement des rattes diabétique par l'extrait de *Lepidium sativum*(De) provoque une augmentation très hautement significative (p < 0.001) de PAL, une augmentation hautement significative (p < 0.01) et non significative (P > 0.05) du TGO et TGP successivement, ces comparaisons par rapport aux rattes sains témoins (T).

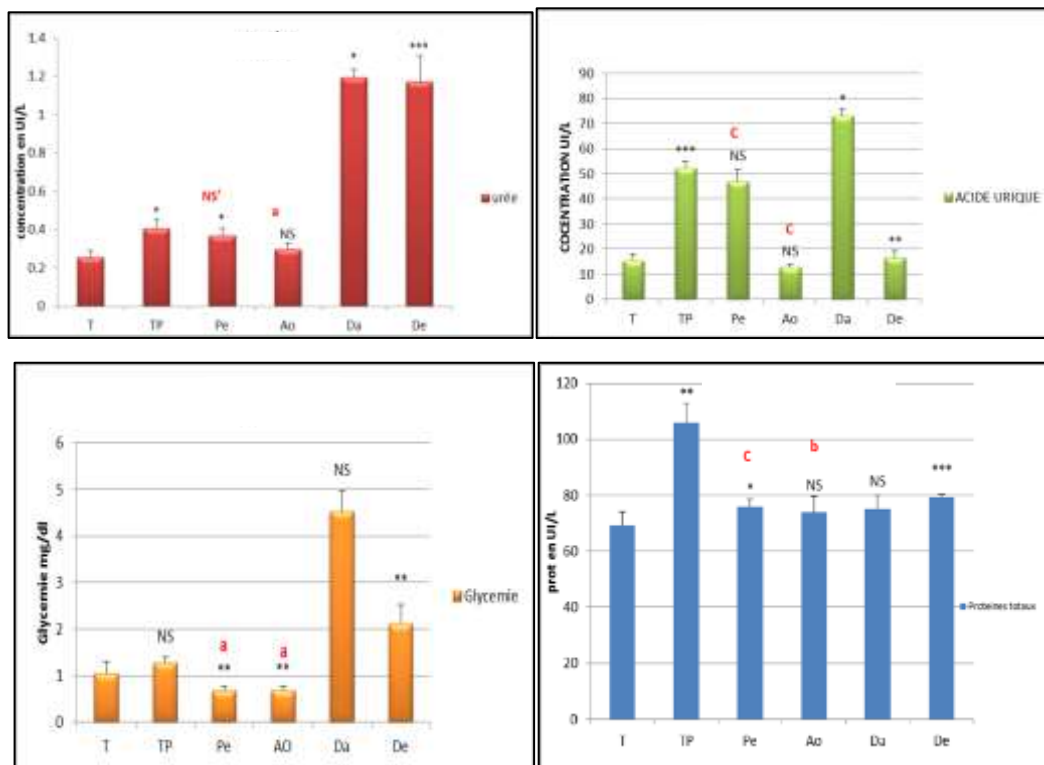


Figure 37: Effet de traitement par l'extrait éthanolique de *L.sativum* et le carbopline sur le bilan rénal (urée, acide urique et protéine totaux) et la concentration sérique en glycémie chez les rattes exposées au métribuzine et les rattes injectées par l'alloxane.

*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001 ; NS P > 0.05 comparaison avec le lot témoin.

a p < 0.05; b p < 0.01; c p < 0.001 ; NS' P > 0.05 comparaison avec le lot témoin pesticide.

Les résultats présentés dans la (figure37) chez les rattes exposée au métribuzine (TP)montrent une augmentation significative (p< 0.05), hautement significative (p < 0.01), très hautement significative (p< 0.001)et non significative (P > 0.05) respectivement deUrée, Protéines totaux, Acide uriqueetGlycémie par rapport aux rattes sains témoins (T). Cependant, le traitement des rattes par l'extrait de *Lepidium sativum* (Pe) provoque une diminution très hautement significative(p < 0.001) de Acide urique et Protéines totaux et on observe une diminution significative (p < 0.05)et non significatif (P > 0.05) respectivement de Glycémie et Urée, pour les rattes traitées par carboplatine(AO);il y'a une diminution significative (p < 0.05)de Urée et Glycémie, et une diminution hautement significative (p < 0.001) et très hautement significative (p < 0.001) successivement de Protéine totaux et Acide urique par apport aux rattes exposées au métribuzine (TP).

D'autre part les rattes diabétiques(Da) créés une augmentation significative de taux du Urée et Acide urique (p < 0.05)et une augmentation non significative (P > 0.05) de Glycémie et

Protéines totaux .en revanche, le traitement des rattes diabétique par l'extrait de *Lepidium sativum* (De) augmentation hautement significatif ($p < 0.01$) de taux Acide uriqueetGlycémie et très hautement significative ($p < 0.001$) du Urée et Protéine totaux par rapport aux rattes sains (T).

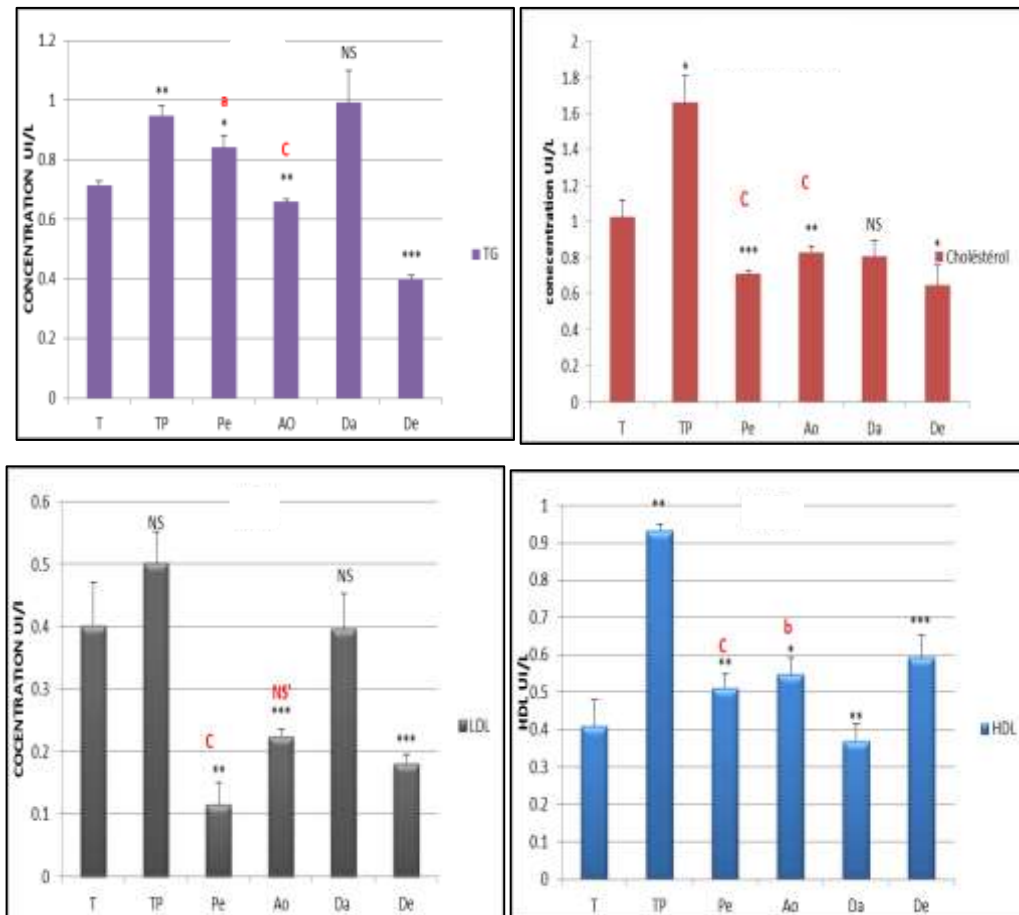


Figure 38: Effet de traitement par l'extrait ethanologique de *L.sativum* et le Carboplatine sur le cholestérol, TG, HDL et LDL sur les rattes exposés au métribuzine et les rattes injectées par l'alloxane.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; NS $P > 0.05$ comparaison avec le lot témoin.

a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$; NS' $P > 0.05$ comparaison avec le lot témoin pesticide.

Les résultats obtenus (fig.38) montrent que l'exposition des rattes au métribuzine(TP) provoque une augmentation hautement significative de TG et HDL ($p < 0.01$)et augmentationsignificative($p < 0.05$)et non significative ($P > 0.05$) respectivement de Cholestérol et LDL par rapport aux rattes saines.Ainsi le traitement des rattes par l'extrait de *Lepidium sativum*(Pe) provoque une diminution significative de taux deTG ($p < 0.05$), il provoque aussi diminution très hautement significative du Cholestérol et LDL ($p < 0.001$). En revanche, le traitement des rattes par carboplatine(AO) marqué une diminution très

hautement significatif de ces paramètres TG, Cholestérol ($P > 0.05$) et une diminution hautement significative ($p < 0.01$), non significatif ($P > 0.05$) du HDL et LDL successivement; par rapport aux ratte exposées au métribuzine (TP).

Les résultats des ratte diabétiques injectées par alloxane (Da) expliquées une augmentation non significative de taux de TG ($P > 0.05$), et on observe une diminution non significative du Cholestérol et LDL ($P > 0.05$) et diminution hautement significative ($p < 0.01$) de HDL par rapport aux ratte sains (T). D'un autre côté, le traitement des ratte diabétique par *Lepidium sativum* (De) provoque une diminution très hautement significative du LDL et TG ($p < 0.001$) et diminution significative de taux de Cholestérol ($p < 0.05$) par contre de paramètre HDL marquée une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$).

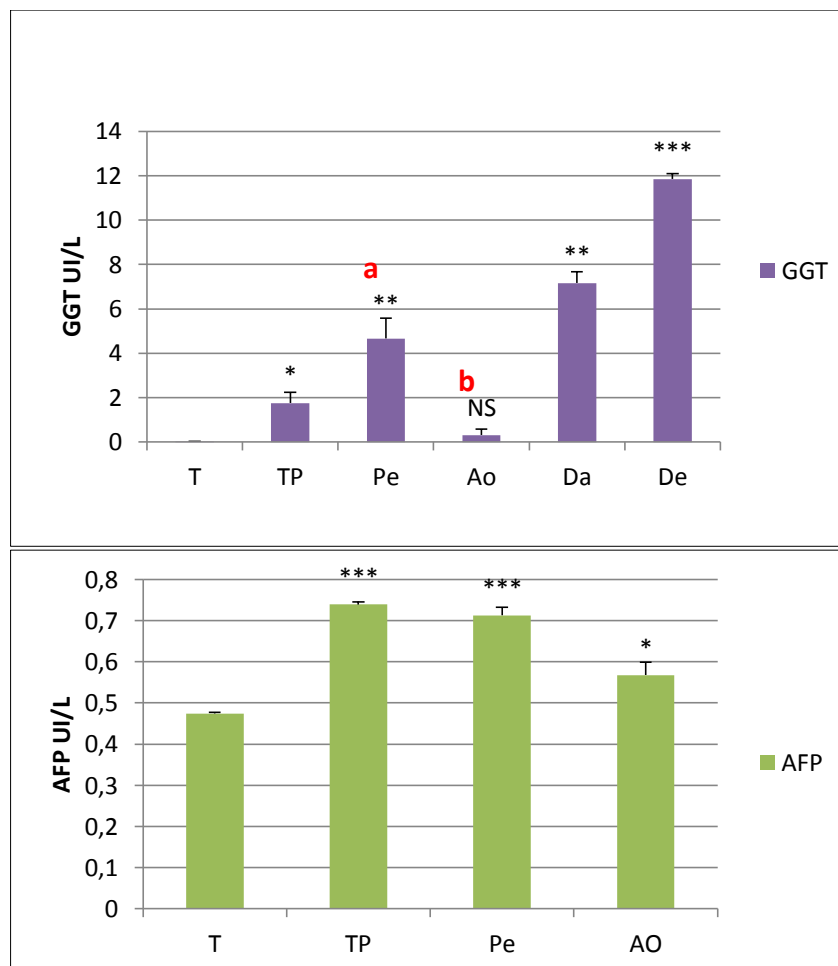


Figure 39: Effet de traitement par l'extrait ethanolique de *Lepidium sativum* et le Carboptine sur AFP et GGT chez les ratte exposées au métribuzine et les ratte injectées par l'alloxane.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; NS $P > 0.05$ comparaison avec le lot témoin.

a $p < 0.05$; **b** $p < 0.01$; **c** $p < 0.001$; NS' $P > 0.05$ comparaison avec le lot témoin pesticide.

Les résultats obtenus (fig.39) montrent que l'exposition des ratte au métribuzine (TP) provoque une augmentation très hautement significative de AFP et ($p < 0.001$) et

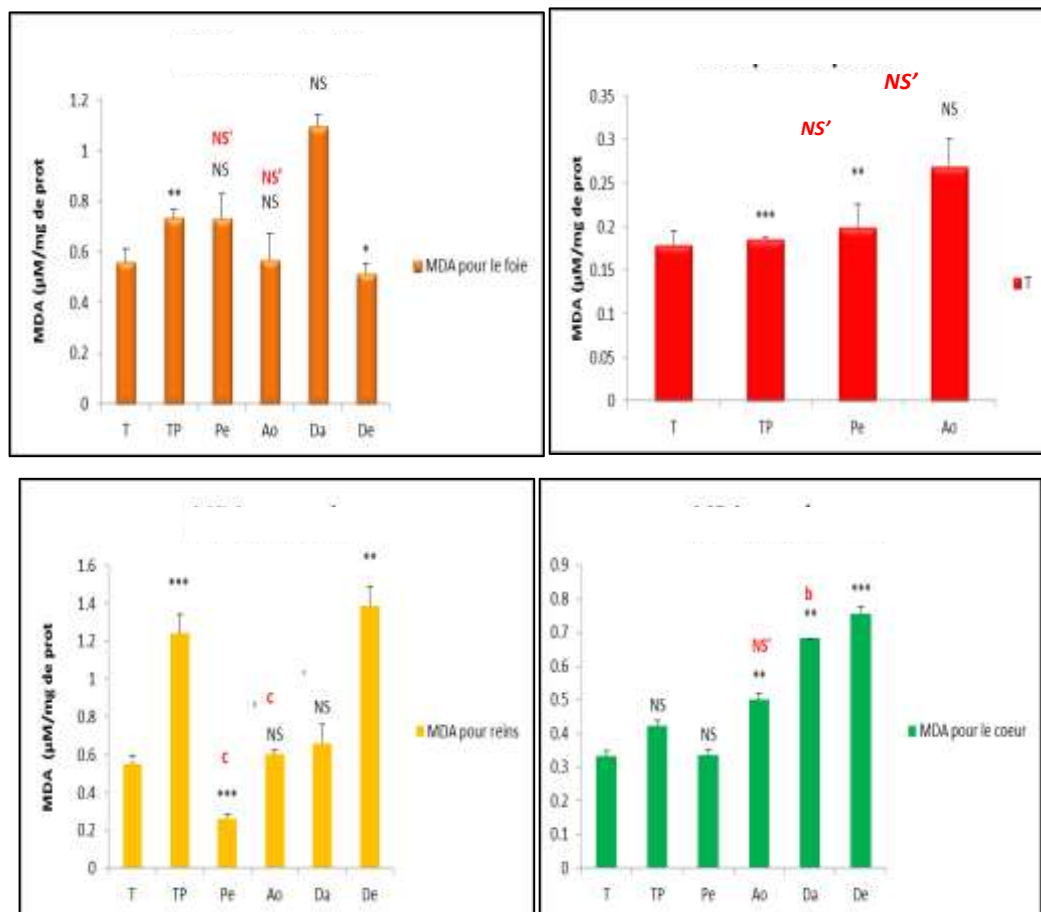
augmentationsignificative($p < 0.05$) pour GGT par rapport aux rattes saines.Ainsi le traitement des rattes par l'extrait de *Lepidium sativum*(Pe) provoque une diminution très hautement significative de taux de AFP ($p < 0.001$), il provoque aussi augmentation significative du GGT($p < 0.01$). En revanche, le traitement des rattes par carboplatine(AO) marqué une diminution très hautement significative de GGT ($p < 0.001$), et une diminution significative($p < 0.05$),par apport aux rattes exposées au métribuzine (TP).

Les résultats des rattes diabétiques injectées par alloxane (Da) expliquées une augmentation hautement significative de taux de GGT ($P > 0.01$) par apport aux rattes sains(T). D'un autre côté, le traitement des rattes diabétique par *Lepidium sativum* (De) provoque une augmentation très hautement significatif ($P > 0.01$).

II.1.7.3.Effet sur les paramètres de stress oxydatif

Après un mois d'exposition des rattes au métribuzine sont traitées par l'extrait ethanolique de *Lepidium sativum* (de dose300/kg) et le carboplatine pendant 7 jours, et des rattes diabétiques traités par *Lepidium sativum*, dans les organes prélevés ont été effectués les tests des stress oxydatifs (Malondialdéhyde« MDA», glutathion réduit «GSH» et catalase « CAT»).

• MDA



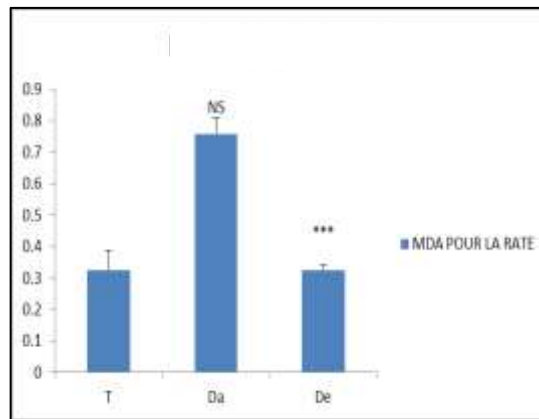


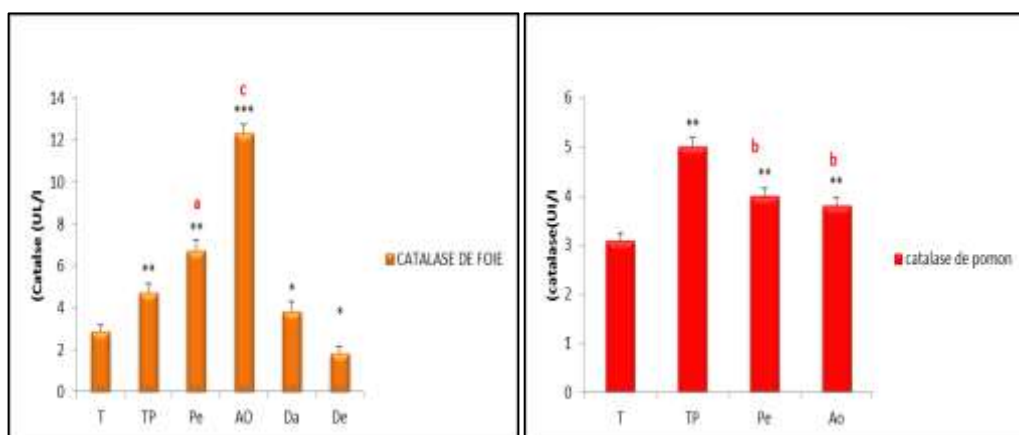
Figure 40: Concentration de malondialdéhyde (MDA) hépatique, pulmonaire, rénal et cardiaque chez les différents groupes expérimentaux, avec la rate chez le lot de diabète.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; NS $P > 0.05$ comparaison avec le lot témoin.

a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$; NS' $P > 0.05$ comparaison avec le lot témoin pesticide.

Les résultats obtenus (fig.40) montrent que l'exposition des rattes au métribuzine (TP) provoque une augmentation très hautement significative de la concentration pulmonaire et rénal de MDA ($p < 0.001$), une augmentation hautement significative de la concentration hépatique de MDA ($p < 0.01$) et une augmentation non significative de la concentration cardiaque de MDA ($p > 0.05$); par rapport aux rattes saines. Les résultats montrent aussi que le traitement par l'extrait de *Lepidium sativum* (Pe) provoque une diminution non significative pour les concentrations hépatique et cardiaque ($p > 0.05$), diminution très hautement significative pour les reins de MDA ($p < 0.001$) et une augmentation non significative pour les poumon ($p > 0.05$).

- **CATALASE**



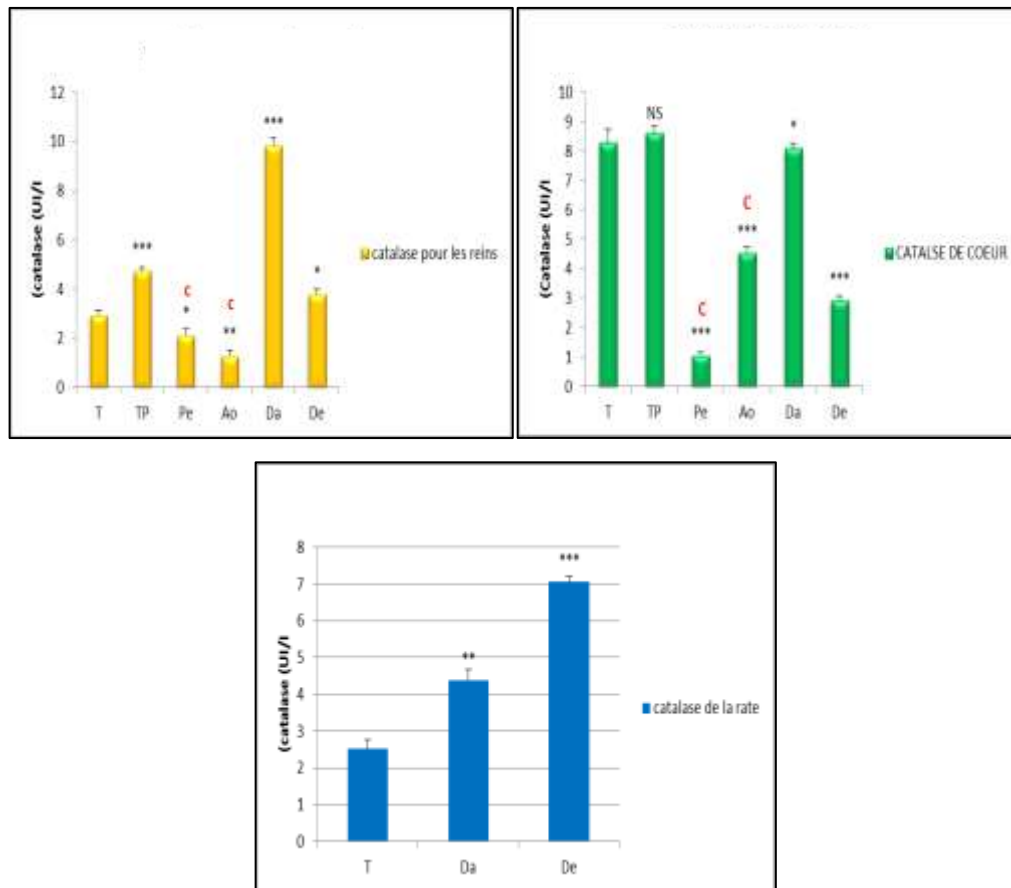


Figure41: Concentrations tissulaires de catalase chez les différents groupes expérimentaux.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; NS $P > 0.05$ comparaison avec le lot témoin.

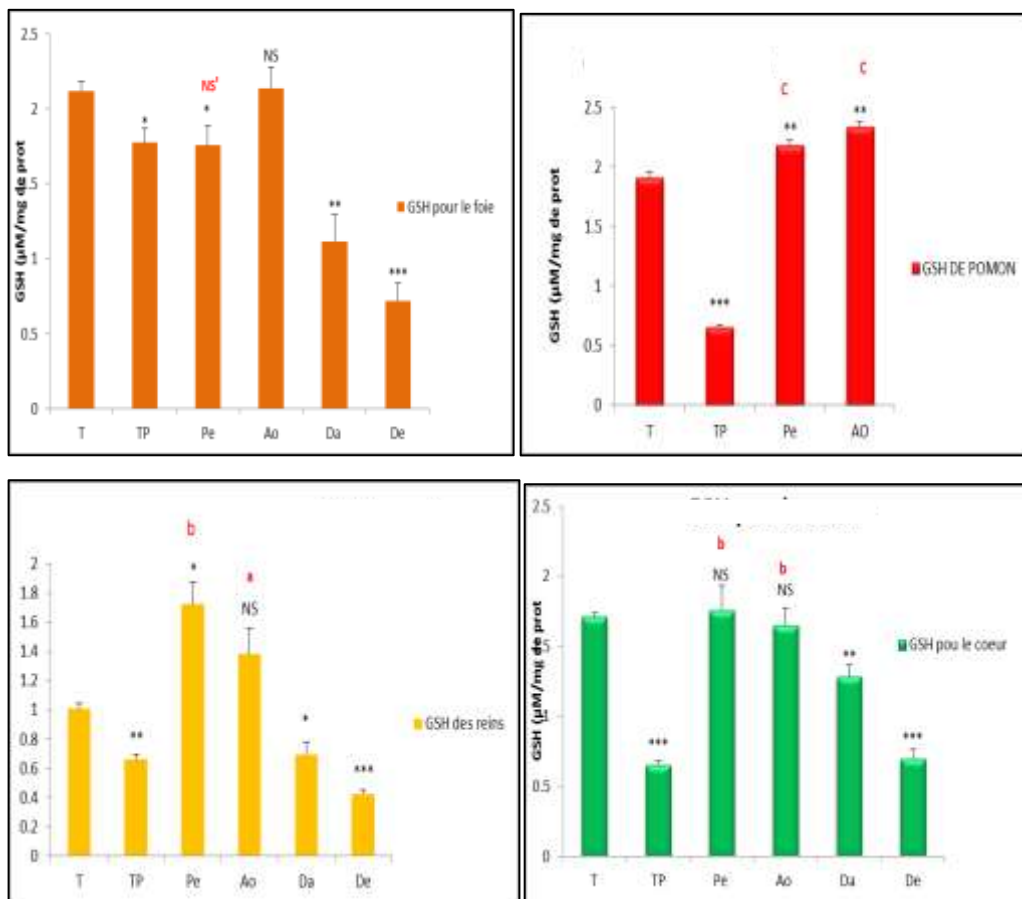
a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$; NS' $P > 0.05$ comparaison avec le lot témoin pesticide.

Les résultats obtenus (fig.41) montrent que l'exposition des ratte au métribuzine (TP) provoque une augmentation hautement significative de la concentration hépatique et pulmonaire de catalase ($p < 0.01$), une augmentation très hautement significative de la concentration rénal de catalase ($p < 0.001$) et une augmentation non significative de la concentration cardiaque de catalase ($P > 0.05$) par rapport aux ratte saines. Les résultats montrent aussi que le traitement des ratte par l'extrait de *Lepidium sativum* (Pe) provoque une diminution très hautement significative de la concentration rénal et cardiaque de catalase ($p < 0.001$), une diminution hautement significative de la concentration pulmonaire de catalase ($p < 0.01$) et provoque une augmentation significative de la concentration hépatique de catalase ($p < 0.05$). En parallèle, le traitement par carboplatine (AO) crée une augmentation très hautement significative de la concentration hépatique de catalase ($p < 0.001$), une diminution très hautement significative de la concentration rénal et cardiaque de catalase ($p < 0.001$) et

provoque une diminution hautement significative de la concentration pulmonaire de catalase ($p < 0.01$); par rapport aux rattes exposées au métribuzine (témoin pesticide).

En revanche, les rattes exposées au alloxane (Da) provoque une augmentation significative de la concentration hépatique de catalase ($p < 0.05$), une augmentation hautement significative de la concentration de la rate de catalase ($p < 0.01$) et pour la concentration rénal marque une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) et une diminution significative de la concentration cardiaque de catalase ($p < 0.05$) et pour le traitement des rattes diabétique par *Lepidium sativum* (De) provoque une diminution significative de la concentration hépatique de catalase ($p < 0.05$), une diminution très hautement significative de la concentration cardiaque de catalase ($p < 0.001$) et provoque une augmentation significative de la concentration rénal de catalase ($p < 0.05$), une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la rate; par rapport aux rattes sains (T).

- GSH



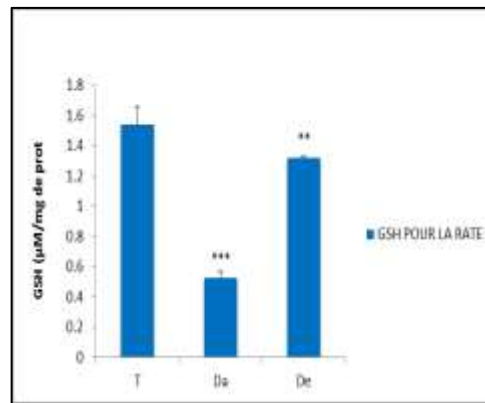


Figure 42 : Concentrations tissulaires de glutathion réduit (GSH) chez les différents groupes expérimentaux.

*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001 ; NS P > 0.05 comparaison avec le lot témoin.

a p < 0.05; b p < 0.01; c p < 0.001 ; NS' P > 0.05 comparaison avec le lot témoin pesticide.

Les résultats obtenus (fig.42) montrent que l'exposition des rattes au métribuzine (TP) provoque une diminution significative ($p < 0.05$), hautement significative ($p < 0.01$) et très hautement significative ($p < 0.001$) respectivement des concentrations hépatique, rénal, pulmonaire et cardiaque pour le GSH par rapport aux rattes saines (T). Les résultats montrent aussi que le traitement des rattes par l'extrait de *Lepidium sativum* (Pe) marque une augmentation hautement significative des concentrations rénal et cardiaque de GSH ($p < 0.01$), une augmentation très hautement significative de la concentration pulmonaire de GSH ($p < 0.001$) et provoque une diminution non significative de la concentration hépatique de GSH ($p > 0.05$). En parallèle, le traitement par carboplatine (AO) crée une augmentation non significative de la concentration hépatique de GSH ($p > 0.05$), une augmentation significative de la concentration rénal de GSH ($p < 0.05$), augmentation hautement significative de la concentration cardiaque de GSH ($p < 0.01$) et provoque une augmentation très hautement significative de la concentration pulmonaire de GSH ($p < 0.01$); par rapport aux rattes exposées au métribuzine (témoin pesticide).

D'autre part, les rattes exposées au alloxane (Da) provoque une diminution significative de la concentration rénal de GSH ($p < 0.05$), une diminution hautement significative des concentrations hépatique et cardiaque de GSH ($p < 0.01$) et pour la concentration de la rate marque une diminution très hautement significative de GSH ($p < 0.001$) et pour le traitement des rattes diabétique par *lepidium sativum* (De) provoque une diminution très hautement significative des concentrations hépatique, rénal, cardiaque GSH ($p < 0.05$), une diminution hautement significative de la concentration de la rate de GSH ($p < 0.01$); par rapport aux rattes sains (T)

Conclusion

Conclusion

La flore algérienne jouie d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques. Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, une plante aromatique *Lepidium sativum* a fait l'objet d'une étude phytochimique de leur extrait et d'une évaluation de leur potentiel antioxydant et antidiabétique.

In vitro, Dans le présent travail, le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires, où nous avons constaté la présence des flavonoïdes, tanins, stérols, saponine et des phénols.

L'estimation quantitative de l'extrait ethanologique analysé montre qu'il est riche par les polyphénols et les flavonoïdes.

L'activité antioxydante *in vitro* est étudiée par le test du piégeage du radical libre DPPH, donne une Valeur IC_{50} de (1.433 mg/ml), qui est un valeur très importants par rapport l'acide ascorbique (0.014 mg/ml). Les résultats de l'activité antioxydante, par la technique de la voltampérométrie cyclique, montrent que l'extrait ethanologique a une activité antioxydante totale importante comparé par l'acide gallique, Ainsi par la même méthode, le test de piégeage de l'anion superoxyde montre une inhibition du radical $O_2^{\cdot -}$ très importante par l'extrait pâte de *Lepidium sativum*

L'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne de l'extrait pâte étudiée a montré un faible effet antibactérien par rapport aux antibiotiques standards utilisés sauf la souche *E.coli* ;il marque aucun activité antibactérien.

In vivo, le traitement par notre plante *Lepidium sativum* à des rattes exposées au métribuzine a induit une importante restauration de certains paramètres biochimiques, ce qui montre l'effet protecteur de cette plante. La diminution de l'état de stress oxydatif induit par l'exposition à la métribuzine et l'effet hypoglycémiant sont plus important et plus efficace.

Enfin, les analyses histopathologies viennent confirmer nos résultats, c'est bien que l'analyse tissulaire réalisée au niveau des foies, des Cœurs, des poumons et des reins traités et non traités par *L.sativum* a permis de montrer que les métabolites secondaires possède une activité antioxydant, activité hypoglycémiant et provoque une protection contre la nécrose tumorale en empêche la progression tumorale.

Références bibliographique

Références bibliographique

1. Abdulkader, A. M., Ghawi, A. M., Alaama, M., Awang, M., & Merzouk, A. (2013). Leech therapeutic applications. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 75(2), 127 .
2. Abston, P. A. and J. D. Yarbrough (1976). "The in vivo effect of mirex on soluble hepatic enzymes in the rat." *Pesticide Biochemistry and Physiology* 6(2): 192-199.
3. Abu-Bedair, F. A., El-Gamal, B. A., Ibrahim, N. A., & El-Aaser, A. A. (2003). Serum lipids and tissue DNA content in Egyptian female breast cancer patients. *Japanese journal of clinical oncology*, 33(6), 278-282.
4. Abukutsa-Onyango, M. (2005). "The diversity of cultivated African leafy vegetables in three communities in Western Kenya." *Developing Afrcan leafy vegetables for improved nutrition*: 85. *alaternus L.* p64: 390-396.
5. Adeneye, A., O. Ajagbonna, et al. (2006). "Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem bark aqueous extract of *Musanga cecropioides* in rats." *Journal of Ethnopharmacology* 105(3): 374-379.
6. Adhikary, A., J. Nam, et al. (2013). "Joint spatial division and multiplexing—The large-scale array regime." *IEEE transactions on information theory* 59(10): 6441-6463.
7. Agbogidi, O.M. (2010). Screening six cultivars of cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp) for adaptation to soil contaminated with spent engine oil. *Academic Arena*2(4): 33-40.
8. Ahmed, S., M. Ahmad, et al. (2016). "A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise." *Journal of advanced research* 7(1): 17-28.
9. Akinnuga, A., S. Jeje, et al. (2014). "Virgin coconut oil: Remedial effects on renal dysfunction in diabetic rats." *Physiology Journal* 2014.
10. Alekhin, S., A. Djouadi, et al. (2012). "The top quark and Higgs boson masses and the stability of the electroweak vacuum." *Physics Letters B* 716(1): 214-219.
11. Amiard, J-C., Amiard-Triquet, C. (Ed.). (2008). *Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques*. Paris : Lavoisier.
12. Amiot, M. J., A. Fleuriet, et al. (1986). "Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34(5): 823-826.
13. Ammon, H., P. Bieck, et al. (1983). "Adaptation of blood pressure to continuous heavy coffee drinking in young volunteers. A double-blind crossover study." *British journal of clinical pharmacology* 15(6): 701-706.

14. Anjana, R., Pradeepa, R., Deepa, M., Datta, M., Sudha, V., Unnikrishnan, R., Bhansali, A., Joshi, S., Joshi, P., and Yajnik, C. (2011). Prevalence of diabetes and prediabetes (impaired fasting glucose and/or impaired glucose tolerance) in urban and rural India: Phase I results of the Indian Council of Medical Research–INDia DIABetes (ICMR–INDIAB) study. *Diabetologia* 54, 3022-3027.
15. Aouadhi S., 2010: mémoire Atlas des risques de la phytothérapie
16. Araújo, V. A., U. Zama, et al. (2005). "Ultrastructural, histological and histochemical characteristics of the epithelial wall of the seminal vesicle of mature *Scaptotrigona xanthotricha* Moure males (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)." *Braz. J. Morphol. Sci* 22(4): 193-201.
17. Ardestani, A. and R. Yazdanparast (2007). "Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts." *Food chemistry* 104(1): 21-29.
18. Asquith, T. N., & Butler, L. G. (1986). Interactions of condensed tannins with selected proteins. *Phytochemistry*, 25(7), 1591-1593.
19. Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., ... & Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2), 303-309.
20. Awada, zerrouki. Ret al. (2015). "Chemical modification of kraft cellulose fibres: influence of pretreatment on paper properties." *BioResources* 10(2): 2044-2056.
21. Awoyinka, O. A., Balogun, I. O., & Ogunnowo, A. A. (2007). Phytochemical screening and in vitro bioactivity of *Cnidioscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 1(3), 63-65.
22. Baba Aissa, F. (2000). "Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident." Ed Librairie moderne Rouiba: 46
23. Beggat, K., & Korti, N., (2016) . Etude de l'effet toxique des nanoparticules de l'oxyde de fer et l'effet antidote du quercétine chez les lapins. Mémoire fin d'étude de Master Académique en biochimie appliquée . Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED. P104.
24. Belfiore, A. and R. Malaguarnera (2011). "Insulin receptor and cancer." *Endocrine-related cancer* 18(4): R125-R147.
25. Belguidoum, M. (2012). "Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*." Mémoire de masters, Université Kasdi Merbah Ouargla p37.
26. Belhattab, R., M. Boudjouref, et al. (2011). "Essential oil composition from *Artemisia campestris* grown in Algeria." *Advances in Environmental Biology*: 429-433

27. Belkhir, S., A. Koubaa, et al. (2013). "Seasonal effect on the chemical composition of the leaves of *Stipa tenacissima* L. and implications for pulp properties." *Industrial crops and products* 44: 56-61.
28. BEN AZZA, M. and L. GUEMOULA (2018). "Caractérisation biochimique et biologique de deux plantes spontanées les plus utilisées dans la région d'El-Oued".
29. Benbelaid, F., M. Bendahou, et al. (2012). "Antimicrobial activity of essential Oil of *lavandula multifida* l." *J Microbiol Biotech Res* 2: 244-247.
30. Berehe, S. G., & Boru, A. D. (2014). Phytochemical screening and antimicrobial activities of crude extract of *Lepidium sativum* seeds grown in Ethiopia. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(10), 4182.
31. Bidié, A., B. N'guessan, et al. (2011). "Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne." *Sciences & Nature* 8(1-2): 1-12.
32. Birben, E., U. M. Sahiner, et al. (2012). "Oxidative stress and antioxidant defense." *World Allergy Organization Journal* 5(1): 9
33. Biyiti, L., Meko'o, D., Tamzc, V., and Amvam Zollo, P. (2004). Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharm Med Trad Afr* 13, 11-20.
34. Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., and Ziyyat, A. (2002). Ethnopharmacology Forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int J Diabetes & Metabolism* 10, 33-50
35. Boubakri, C., (2014). "Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques". Thèse en vue de 'obtention Du diplôme de Doctorat en Chimie . Université Mohamed Khider – Biskra. P176.
36. Bouhadjera, K., Z. Bendahou, et al. (2005). "Anti-microbial Activity of extracts from Algerian *Aristida pungens* L." *Pak. J. Biol. Sci* 8(2): 206-210.
37. Boukef, M. (1986). plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne, Agence de coopération culturelle et technique.
38. Boukri, M., M. N. Farsi, et al. (2014). "Seismic risk and damage prediction: case of the buildings in Constantine city (Algeria)." *Bulletin of earthquake engineering* 12(6): 2683-2704.
39. Boutaghane, N., L. Voutquenne-Nazabadioko, et al. (2013). "Triterpene saponins of *Genista ulicina* Spach." *Phytochemistry* 93: 176-181.
40. Bouter, K(2017). "Etude extractive des alcaloïdes et évaluation de leur l'activité antimicrobienne du champignon *Pleurotus eryngii*".
41. Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, et al. (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." *LWT-Food science and Technology* 28(1): 25-30.

42. Brkić V.D., Vitorović S.L., Gašić S.M., Nešković N.K. (2008). Carbofuran in water: Subchronic toxicity to rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 25: 334-341.
43. Buyschaert, M. (2006). *Diabétologie clinique*, De Boeck Supérieur.
44. Cadenas, E. and K. J. Davies (2000). "Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging." *Free Radical Biology and Medicine* 29(3-4): 222-230.
45. Cakmak, Ozturk , et al. (2009). "Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean." *European Journal of Agronomy* 31(3): 114-119.
46. Carbonnelle, B., F. Denis, et al. (1987). "Techniques usuelles." *Bactériologie médicale*. SIMED, South Africa 232.
47. Charpiat, B., P. Bedouch, et al. (2012). Opportunités d'erreurs médicamenteuses et interventions pharmaceutiques dans le cadre de la prescription informatisée: revue des données publiées par les pharmaciens hospitaliers français. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, Elsevier
48. Chen, C. J., Yang, H. I., Su, J. U. N., Jen, C. L., You, S. L., Lu, S. N., ... & Reveal-HBV Study Group. (2006). Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *Jama*, 295(1), 65-73
49. Cheynier, V., M. Dueñas-Paton, et al. (2006). "Structure and properties of wine pigments and tannins." *American Journal of Enology and Viticulture* 57(3): 298-305.
50. Chiali, F.Z. (2014). Effets métaboliques d'un régime à base de purée de pomme de terre contaminée par les pesticides chez le rat Wistar, université aboubekr belkaid tlemcen.
51. Choi, K.-H. and H. P. Schweizer (2006). "mini-Tn7 insertion in bacteria with single attTn7 sites: example *Pseudomonas aeruginosa*." *Nature protocols* 1(1): 153.
52. Clairborne, A. (1985). "Assay of catalase." *Hand book of methods of oxygen free radical research*: 283-284.
53. Coppé, J.-P., C. K. Patil, et al. (2008). "Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor." *PLoS biology* 6(12): e301
54. Crum, W. R., O. Camara, et al. (2006). "Generalized overlap measures for evaluation and validation in medical image analysis." *IEEE transactions on medical imaging* 25(11): 1451-1461.
55. Dallongeville, A.-L., A. T. Rafnsson, et al. (2006). "The effects of adrenocorticotrophic hormone and an equivalent dose of cortisol on the serum concentrations of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins." *Metabolism* 55(8): 1083-1087.

56. David, E., et Leon, L.(1957).Alloxan diabetes and demonstrated direct action of insulin on metabolism of isolated perfused rat liver. *American Journal of Physiology* ,192 , 33-42. En ligne :
57. David, E., et Leon, L.(1958). Enhanced sugar uptake fails to simulate the insulin effect on lipogenesis in the isolated perfused rat liver. *American Journal of Physiology* ,193, 469-475 .En ligne: Piez, K. A. and L. Morris (1960). "A modified procedure for the automatic analysis of amino acids." *Analytical biochemistry* 1(3): 187-201.
58. Deguelte, S., M.-P. Metge, et al. (2004). "Listériose au cours de la grossesse." *EMC-Gynecologie-Obstetrique* 1(4): 180-186.
59. Deleve, L. D. and N. Kaplowitz (1990). Importance and regulation of hepatic glutathione. *Seminars in liver disease*, © 1990 by Thieme Medical Publishers, Inc.
60. Dennis, B.A., Ergul, A., Gower, B.A., Allison, J.D., & Davis, C.L. (2013). Oxidative Stress and Cardiovascular Risk in Overweight Children in an Exercise Intervention Program. *Childhood Obesity*, 9(1), 15-21. doi:10.1089/chi.2011.0092.
61. Diallo, A. (2005). "Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd.(Myrtaceae)." PhD. of the University Bamako, Mali: 38-47.
62. Diaz, S., J. Hodgson, et al. (2004). "The plant traits that drive ecosystems: evidence from three continents." *Journal of vegetation science* 15(3): 295-304.
63. Dilworth, C., G. Hamilton, et al. (2000). "The use of liver spheroids as an in vitro model for studying induction of the stress response as a marker of chemical toxicity." *Toxicology in Vitro* 14(2): 169-176.
64. Dunbar, R. L. and D. J. Rader (2005). "Demystifying triglycerides: a practical approach for the clinician." *Cleveland Clinic journal of medicine* 72(8): 661
65. Duncan, M.M., Morris, K., Faraj, O. A. (2012). Peculiar glycemic patterns in alloxan induced diabetes animal model. *Matheka et al. Afr. J. Pharmacol. Ther.* ; 1(1): 30-34.En ligne : [_patterns_in_alloxan-induced_diabetes_animal_model](#)
66. Dupont, J. (2004). "On the solid, liquid and solution structural organization of imidazolium ionic liquids." *Journal of the Brazilian Chemical Society* 15(3): 341-350
67. El-Fakharany, I. I., A. H. Massoud, et al. (2011). "Toxicological effects of methomyl and remediation technologies of its residues in an aquatic system." *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology* 3(13): 332-339.
68. El-Missiry, M. and A. El Gindy (2000). "Amelioration of alloxan induced diabetes mellitus and oxidative stress in rats by oil of *Eruca sativa* seeds." *Annals of Nutrition and Metabolism* 44(3): 97-100.

69. El-Missiry, M. and A. Othman (1993). "Influence of Iannate on biochemical and hematological parameter in old rats." *J Egypt Ger Soc Zoo* 11: 219-229.
70. El-Salhy, A., E. A. Abou-Zaid, et al. "Effect of Antioxidants, Growth Regulators and Yeast Spraying on Fruiting of Seewy Date Palms".
71. Emdin, Pompelle et al. (2006). *Gamma-glutamyltransferase as a cardiovascular risk factor*, Oxford University Press.
72. Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., and Curini, M. (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry* 68, 939-953.
73. Everaere, L., Ait-Yahia, S., Molendi-Coste, O., Vorng, H., Quemener, S., LeVu, P., ... & de Nadai, P. (2016). Innate lymphoid cells contribute to allergic airway disease exacerbation by obesity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(5), 1309-1318.
74. Fabre, E., J.-P. Spano, et al. (2000). "Le cancer du colon: mise au point." *Bulletin du cancer* 87(9): 5-20.
75. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.
76. Farnier, C., S. Krief, et al. (2003). "Adipocyte functions are modulated by cell size change: potential involvement of an integrin/ERK signalling pathway." *International journal of obesity* 27(10): 1178.
77. Favier, A. E., Nève, J. & Faure, P. (1994). Trace Elements and Free Radicals in Tabuti, J.R.S., Dhillion, S.S., Lye, K.A., 2003b. The status of wild food plants in Bulamogi county, Uganda, submitted for publication.
78. Favier, A., (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. p108-11.
79. Favier, A., (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.*
80. Fetrow, CW; Avila, JR (1999) *Professional's Handbook of Complementary and Alternative Medicines* Springhouse, P.A. Springhouse corporation.
81. flavonoids. *Pharmacology and Therapeutiquis*, 96: 67-72.
82. Friedel, G. (1904). *Étude sur les groupements cristallins*, Société de l'Imprimerie Théolier.
83. Gajewski, M., P. Szymczak, et al. (2009). "The accumulation of chemical compounds in storage roots by carrots of different cultivars during vegetation period." *Acta Sci. Pol. Hort. Cult* 8(4): 69-78.

84. Garg, K. C., et al. (2009). Bibliometrics of global malaria vaccine research. *Health Information and Libraries Journal*, 26, 22–31.
85. Gasmi, S., R. Rouabhi, et al. (2017). "Effects of Deltamethrin on striatum and hippocampus mitochondrial integrity and the protective role of Quercetin in rats." *Environmental Science and Pollution Research* 24(19): 16440-16457.
86. Gathwan, K. H. (2006). "SEM Study on Cytotoxic effect of Monocrotophos (MCP) on Blood of Mice." *Iraqi Academic Scientific Journal* 5(1): 36-41.
87. George RAT (1999). *Vegetable Seed Production*, 2 nd ed. CABI, Wallingford pp. 322.
88. Geula, S., S. Moshitch-Moshkovitz, et al. (2015). "m6A mRNA methylation facilitates resolution of naïve pluripotency toward differentiation." *Science* 347(6225): 1002-1006.
89. Gomez, J., L. Lopez-Lazaro, et al. (2000). Identification of biochemical parameters that predict the onset of severe toxicities in patients treated with ET-743. *Proc Am Soc Clin Oncol*.
90. González-Tejero, M., Casares-Porcel, M., Sánchez-Rojas, C., Ramiro-Gutiérrez, J., Molero-Mesa, J., Pieroni, A., Giusti, M., Censorii, E., De Pasquale, C., and Della, A. (2008). Medicinal plants in the Mediterranean area: synthesis of the results of the project Rubia. *Journal of Ethnopharmacology* 116, 341-357.
91. Gorus, F. K., W. J. Malaisse, et al. (1982). "Selective uptake of alloxan by pancreatic B-cells." *Biochemical Journal* 208(2): 513-515.
92. Gregory, J., R. J. Stouffer, et al. (2007). "Climate change 2007: the physical science basis".
93. Gueciouer, A., Benmounah, A., Sekkiou, H., Kheribet, R., & Safi, B. (2017).* Valorization of KCl/PHPA system of water-based drilling fluid in presence of reactive clay*: Application on Algerian field. *Applied Clay Science*, 146, 291-296.
94. Guignard, F., J. Mauel, et al. (1996). "Phosphorylation of myeloid-related proteins MRP-14 and MRP-8 during human neutrophil activation." *European journal of biochemistry* 241(1): 265-271.
95. Guignard, J.-H. (2004). The Generality-Specificity of Creativity: A Multivariate Approach. In R. J. Sternberg, E. L. Grigorenko, & J. L. Singer (Eds.), *Creativity: From potential to realization* (pp. 43-56). Washington, DC, US: American Psychological Association.
96. Gutierrez, M. C., S. Detre, et al. (2005). "Molecular changes in tamoxifen-resistant breast cancer: relationship between estrogen receptor, HER-2, and p38 mitogen-activated protein kinase." *Journal of clinical oncology* 23(11): 2469-2476.

97. Guy Gorochoy, Thomas papo,2000, immunologie,p.191-192, paris.
98. Guyton, A. C. and J. E. Hall (2006). "Textbook of medical physiology. 11th." WB Saunders Company, Philadelphia
99. Hadjeba-Medjdoub, K., M. Tozlovanu, et al. (2011). "Structure–activity relationships imply different mechanisms of action for Ochratoxin A-mediated cytotoxicity and genotoxicity." *Chemical research in toxicology* 25(1): 181-190.
- 100.Halmi S, 2015 : Etude botanique et phytochimique.Approche biologique et pharmacologique d’Opuntia ficus indica. Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri de Constantine.
- 101.Hamdy, N. and E. El-Demerdash (2012). "New therapeutic aspect for carvedilol: antifibrotic effects of carvedilol in chronic carbon tetrachloride-induced liver damage." *Toxicology and applied pharmacology* 261(3): 292-299.
- 102.Hammoudi, R., (2015) .Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional Algérien. Thèse de doctorat. "Sciences biologiques ". Université Kasdi Merbah-Ouargla. 147 p.
- 103.Hammoudi, R., (2015) .Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional Algérien. Thèse de doctorat. "Sciences biologiques ". Université Kasdi Merbah-Ouargla. 147 p.
- 104.Haoulia, A.,(2005). Tests phytochimiques, dosage et recherche d’effet hémolytique des polyphénols totaux extraits de la partie aérienne d’Ammoïdes verticillata.
- 105.Harborne, J. B. (1973). Phenolic compounds. *Phytochemical methods*, Springer: 33-88.
- 106.Hartmann, R. and H. Meisel (2007). "Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications." *Current opinion in biotechnology* 18(2): 163-169.
- 107.Hartmann, R., and Meisel, H. (2007). Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current opinion in biotechnology* 18, 163-169.
- 108.Havasteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of
- 109.Hirt, B. V., J. A. Wattis, et al. (2012). "The effects of a telomere destabilizing agent on cancer cell-cycle dynamics—Integrated modelling and experiments." *Journal of theoretical biology* 295: 9-22.
- 110.Ho, J. S., tanabe. Yeh, et al. (2014). "Wireless power transfer to deep-tissue microimplants." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111(22): 7974-7979
- 111.Hopkins, D. (2003). *School improvement for real*, routledge.
- 112.Hopkins, P. N. (2003). "Familial hypercholesterolemia—improving treatment and meeting guidelines." *International journal of cardiology* 89(1): 13-23

113. Huemer, M. (2006). "Phenomenal conservatism and the internalist intuition." *American Philosophical Quarterly* 43(2): 147-158
114. Huk, I., V. Brovkovich, et al. (1998). "Bioflavonoid quercetin scavenges superoxide and increases nitric oxide concentration in ischaemia-reperfusion injury: an experimental study." *British Journal of Surgery* 85(8): 1080-1085.
115. Indumathy, R., & Aruna, A. (2013). Free radical scavenging activities, total phenolic and flavonoid content of *Lepidium sativum* (Linn.). *Int J Pharm Pharm Sci*, 5, 634-637.
116. Iqbal Hussain ; Moneeb Ur Rehman Khattak ; Riaz ullah ; Zia Muhammad ; Naeem Khan ; Farhat Ali Khan ; Zahoor Ullah and Sajjad Haider, 2011 : Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants of Khyberpakhtunkhwa Pakistan *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 5(6), pp. 746-750.
117. Iqbal Hussain ; Moneeb Ur Rehman Khattak ; Riaz ullah ; Zia Muhammad ; Naeem Khan ; Farhat Ali Khan ; Zahoor Ullah and Sajjad Haider, 2011 : Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants of Khyberpakhtunkhwa Pakistan *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 5(6), pp. 746-750.
118. Ismail, T., P. Sestili, et al. (2012). "Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects." *Journal of Ethnopharmacology* 143(2): 397-405.
119. Jacotot, B. & Campillo B., (2003) . *Nutrition humaine*. Ed. Elsevier Masson, Paris. 311p.
120. Jawetz, E., J. L. Melnick, et al. (1973). *Microbiologie médicale*, Presses Université Laval.
121. Jodynis-Liebert, J., M. Nowicki, et al. (2010). "Cytotoxicity, acute and subchronic toxicity of ionic liquid, didecyldimethylammonium saccharinate, in rats." *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 57(2-3): 266-273.
122. Jorns, A., R. Munday, et al. (1997). "Comparative toxicity of alloxan, N-alkylalloxans and ninhydrin to isolated pancreatic islets in vitro." *Journal of endocrinology* 155(2): 283-294.
123. Kamaran, S., Imran, M., Khan, T.M., Munir, M.Z., Rashid, M.A., Muneer, M.A., 2016, Genetic studies of genotypic responses to water stress in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Int. J. Agron. Agril. Res.*, 8(6): 1-9.
124. Károlyi, G., J. Pach, et al. (1998). "Ramsey-type results for geometric graphs, II." *Discrete & Computational Geometry* 20(3): 375-388.
125. Karou, D., Dicko, M.H., Simpore, J., and Traore, A.S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology* 4, 823-828

126. Karumi, Y., P. Onyeyili, et al. (2004). "Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract." *J Med Sci* 4(3): 179-182.
127. Kebièche, M., Z. Lakroun, et al. (2011). "Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique." *Phytothérapie* 9(5): 274-282.
128. Kebièche, M., Z. Lakroun, et al. (2011). "Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique." *Phytothérapie* 9(5): 274-282.
129. Kebili, Z., (2016) Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits de *Ephedra alata* de la région de Ouargla.
130. Khebbaz, w ; et Gobbi, r, (2014), traçabilité de l'identification des metabolites secondaires végétaux, 5p.
131. Kilani-Jaziri, S., Bhourri, W., Skandrani, I., Limem, I., Chekir-Ghedira, L., and Ghedira, K. (2011). Phytochemical, antimicrobial, antioxidant and antigenotoxic potentials of *Cyperus rotundus* extracts. *South African Journal of Botany* 77, 767-776.
132. Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). "Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires." *Nutrition clinique et métabolisme* 20(4): 165-177.
133. Konan, Y., K. M. Witabouna, et al. (2014). "Antioxidant activity and total phenolic content of nine plants from Côte d'Ivoire (West Africa)." *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 4(8): 36.
134. Koshy, Jency Maria, and Jacob Koshy. "Clinical profile of cerebral malaria at a secondary care hospital." *Journal of family medicine and primary care* 3.1 (2014): 54.
135. Labayle, B. Lambare, et al. (2008). "Pancréatite aiguë après la prise d'une association paracétamol-codéine".
136. Larrère, R., B. Lizet, et al. (2009). "Histoire des parcs nationaux." *Comment prendre soin de la nature*.
137. Lauwerys, R.R., Lauwerys, R. (2007). *Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles*. Ed: 5. Elsevier Masson, Stuttgart. 1252p.
138. Lenzen, S. (2008). "The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes." *Diabetologia* 51(2): 216-226.
139. Liu, J. Z., Kubo, et al. (2015). "Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations." *Nature genetics* 47(9): 979.

- 140.Liu, Y., and Wang, M.-W. (2008). Botanical drugs: challenges and opportunities: contribution to Linnaeus Memorial Symposium 2007. *Life Sciences* 82, 445-449.
- 141.Locatelli M ; Travaglia F ; Coisson J.D ; Martelli A ; Stevigny C ; Arlorio M, 2010 :Total antioxidant activity of hazelnut skin (NocciolaPiemonte PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*. Pp1647-1655.
- 142.Lütcke, H. Meyer, et al. (2010). "Optical recording of neuronal activity with a genetically-encoded calcium indicator in anesthetized and freely moving mice." *Frontiers in neural circuits* 4: 9
- 143.Magali, M. (2010). "Les Caractères, Jean de La Bruyère (1688)-le portrait de Ménippe." Publications Pimido.
- 144.Mahmoud, S. S. and R. B. Croteau (2001). "Metabolic engineering of essential oil yield and composition in mint by altering expression of deoxyxylulose phosphate reductoisomerase and menthofuran
- 145.Maire, R. (1967). *Flore de l'Afrique du Nord:(Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara)*. 13: Dicotyledonae. Rhodales: Cruciferae pp, Lechevalier.
- 146.Malfertheiner, P., Megraud, F., O'morain, C., Hungin, A., Jones, R., Axon, A., Graham, D., Tytgat, G., and Group, E.H.P.S. (2002). Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection—The Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 16, 167-180.
- 147.Malíková, J., J. Swaczynová, et al. (2008). "Anticancer and antiproliferative activity of natural brassinosteroids." *Phytochemistry* 69(2): 418-426.
- 148.Marinkovic, S. J., E. M. Popovici, et al. (2009). "Energy-efficient low duty cycle MAC protocol for wireless body area networks." *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine* 13(6): 915-925.
- 149.Mariod A.A ; Ibrahim R.M ; Ismail M ; Ismail N, 2009 : Antioxidant activity and phenolic content of phenolicrich fractions obtainedfrom black cumin (*Nigellasativa*) seedcake. *Food Chemistry*. Pp306-312.
- 150.Maritim, A., Sanders, R.,et Watkins, J. (2002). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Molecular Toxicology*,17 (1),24-38. doi: 10.1002/jbt.10058.
- 151.Matkowski, A. and M. Piotrowska (2006). "Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae." *Fitoterapia* 77(5): 346-353.
- 152.Mbojd N., 2003. Etude de l'activité antidiabétique des extraits acetonique,

153. MEHDILOUI, R., & KAHOUADJI, A. (2007). Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène: cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat*, (29), 11-20.
154. Mémoire de Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus*
155. Meng, F., Jacob, et al. (2007). "MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer." *Gastroenterology* 133(2): 647-658.
156. Merghem, K., A. Akrouf, et al. (2009). "Pulse generation at 346 GHz using a passively mode locked quantum-dash-based laser at 1.55 μ m." *Applied Physics Letters* 94(2): 021107.
157. Merks, E. J., A. Bouakaz, et al. (2006). "Design of a multilayer transducer for acoustic bladder volume assessment." *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 53(10): 1730-1738.
158. Merzouk, H., Chiali, F.Z., Merzouk, S.A., Medjdoub, A., Narce, M. (2013). Chronic low level Metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. Vol. (106): 38-44.
159. méthanolique et hescniques de *vernonia colorata* (willd/darke composées chez des rats
160. Mohamed, A.B., Frangi, J., Fontan, J., and Druilhet, A. (1992). Spatial and temporal variations of atmospheric turbidity and related parameters in Niger. *Journal of applied meteorology* 31, 1286-1294
161. Mohammedi, Z. (2006). "Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen." Mémoire de Magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen. 105p.
162. MOHAMMEDI, Z. (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie.
163. Molyneux, P. (2004). "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." *Songklanakarin J. Sci. Technol* 26(2): 211-219.
164. Moutachakkir, M., M. Chinbo, et al. (2015). "La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique au CHU de Marrakech." *Journal de pédiatrie et de puériculture* 28(1): 16-22.
165. Nahum, J., A. Bensaid, et al. (2010). "Impact of longitudinal myocardial deformation on the prognosis of chronic heart failure patients." *Circulation: Cardiovascular Imaging* 3(3): 249-256.
166. Nauciel, C. and J.-L. Vildé (2005). *Bactériologie médicale*, Elsevier Masson.

167. Nguyen, X.-L., D. Rakotonanahary, et al. (2012). "Comorbidité insomnie et syndrome d'apnées obstructives du sommeil: effet du traitement par PPC au long cours sur les symptômes d'insomnie." *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology* 3(42): 147.
168. Njoku, V. O., & Obi, C. (2009). Phytochemical constituents of some selected medicinal plants. *African journal of pure and applied chemistry*, 3(11), 228-233.
169. Numrich, M., W. Kutschera, et al. (2015). "On the effect of organic carbon on rehydroxylation (RHx) dating." *Journal of Archaeological Science* 57: 92-97.
170. Ogeturka M; Kusa I; Colakoglu N; Zararsiza I; Ilhanc N and Sarsilmaz M (2005): Caffeic acid phenethyl ester protects kidneys against carbon tetrachloride toxicity in rats. *J. Ethnopharmacol.* 97, 273–280.
171. Oyedemi, S., and Afolayan, A. (2011). In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous leaves extract of *Leonotis leonurus* (L.) R. Br. *International Journal of Pharmacology* 7, 248-256.
172. Oyedemi, S.O., and Afolayan, A.J. (2011). Antibacterial and antioxidant activities of hydroalcoholic stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 4, 952-958.
173. Ozenda, P. (1977). *Flora of the Sahara*. Flora of the Sahara
174. Patel et al. (2014). "The global prevalence of common mental disorders: a systematic review and meta-analysis 1980–2013." *International journal of epidemiology* 43(2): 476-493.
175. Patel, H., Chen, J., Kumuda, C., et Mahendra, K. (2013). Hyperglycemia induces differential change in oxidative stress at gene expression and functional levels in HUVEC and HMVEC. *Cardiovascular Diabetology*, 12 (142), 1-14. En ligne :
176. Pelletier, E., Campbell, P.G.C., Denizeau, F. (2004). *Écotoxicologie Moléculaire: Principes Fondamentaux et Perspectives de Développement*. Ed. PUQ, Canada. 502p.
177. Phelps, J. E., R. Lewis, et al. (2004). "Viral marketing or electronic word-of-mouth advertising: Examining consumer responses and motivations to pass along email." *Journal of advertising research* 44(4): 333-348.
178. Pincemail, J., K. Bonjean, et al. (2002). "Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante." *Nutrition clinique et métabolisme* 16(4): 233-239.
179. Pincus, M., N. Abraham, et al. (2011). "Clinical enzymology." *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22nd ed. Saunders, Philadelphia: 273-295.

180. Pohanish, R. P. (2012). *Sittig's Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens -Paraffin Wax*, Elsevier. Online version available at: <http://app.knovel.com/hotlink/pdf...>
181. Pooja, H.S.S & Kaur S., (2016) .Studies on the liver histology and biochemistry due to pesticide exposure in rats inhabiting vegetable crop fields . *International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture (IJAPSA)* . e-ISSN: 2394-5532, p-ISSN: 2394-823X.
182. Popoff, M. Y., J. Bockemühl, et al. (2004). "Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann–White scheme." *Research in microbiology* 155(7): 568-570.pp53.
183. Pourramza , E. M., Mohammadi., L .M., Sahli, M., Farokhrouz, M ., Zamani, A. & Abbasianbbasi F., (2013). Determination of the Acute Toxicity of Pretilachlor on Liver and Gill Issues as well as Glucose and Cortisol Levels in Fingerling Grass Carps (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. Vol. (8): 721- 726.
184. Pucadyil, T. J. and A. Chattopadhyay (2006). "Role of cholesterol in the function and organization of G-protein coupled receptors." *Progress in lipid research* 45(4): 295-333.
185. Qin, J., Y. Li, et al. (2012). "A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes." *Nature* 490(7418): 55.
186. Quinlan, G. J., B. Halliwell, et al. (1988). "Action of lead (II) and aluminium (III) ions on iron-stimulated lipid peroxidation in liposomes, erythrocytes and rat liver microsomal fractions." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism* 962(2): 196-200.
187. Ramawat, K. G. and J.-M. Mérillon (2008). *Bioactive molecules and medicinal plants*, Springer.
188. Rates, S. M. K. (2001). "Plants as source of drugs." *Toxicon* 39(5): 603-613.
189. Rathore, H. S. and L. M. Nollet (2012). *Pesticides: evaluation of environmental pollution*, CRC Press.
190. Raven, J. (2003). *Raven progressive matrices. Handbook of nonverbal assessment*, Springer: 223-237.
191. Rhayour, K. (2002). "Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*".
192. Rizk, A. (1982). "Constituents of plants growing in Qatar. I. a chemical survey of sixty plants." *Fitoterapia*.

193. Rizwan Ahamad ; Mohd Mujeeb ; Firoz Anwar ; Aftab Ahmad, 2015 : Phytochemical analysis and evaluation of anti-oxidant activity of methanolic extract of *Lepidium sativum* L. seeds. *Der Pharmacia Lettre*, 2015, 7 (7) Pp427-434.
194. Rjeibi, M., M. Darghouth, et al. (2016). "First molecular identification and genetic characterization of *Theileria lestoquardi* in sheep of the Maghreb region." *Transboundary and Emerging Diseases* 63(3): 278-284.
195. Rodier, G., A. Montagnoli, et al. (2001). "p27 cytoplasmic localization is regulated by phosphorylation on Ser10 and is not a prerequisite for its proteolysis." *The EMBO journal* 20(23): 6672-6682.
196. Saatchi, S.S., Harris, N.L., Brown, S., Lefsky, M., Mitchard, E.T., Salas, W., Zutta, B.R., Buermann, W., Lewis, S.L., and Hagen, S. (2011). Benchmark map of forest carbon stocks in tropical regions across three continents. *Proceedings of the national academy of sciences* 108, 9899-9904.
197. Saci, S., D. Touguit, et al. (2015). "Etude de la toxicité aigue et de l'activité antidiabétique des alcaloïdes nortropaniques de *Hyoscyamus albus*".
198. Salou, M., A. Siliadin, et al. (2018). "In vitro Evaluation of the Antibacterial Activities of *Zea mays*' Stigma and *Carica papaya* Seeds Hydro-Ethanollic Extracts." *Microbiology Research Journal International*: 1-7.
199. Samir, D. and S. Asma (2018). "Triazinone herbicide metribuzin induced acute liver injury: A study of animal model." *Journal of Acute Disease* 7(4): 152.
200. Sanago R. (2006). *Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle*. Université Bamako(Mali): 53.
201. Sandler, S. and I. Swenne (1983). "Streptozotocin, but not alloxan, induces DNA repair synthesis in mouse pancreatic islets in vitro." *Diabetologia* 25(5): 444-447.
202. Sathishsekar, D., et Subramanian, S. (2005). Antioxidant properties of *Momordica Charantia* (bitter melon) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr*, 14 (2):153-158. En ligne :
203. Scherr, J., S. Braun, et al. (2011). "72-h kinetics of high-sensitive troponin T and inflammatory markers after marathon." *Medicine and science in sports and exercise* 43(10): 1819-1827.
204. Seznec, H., O. Agbulut, et al. (2001). "Mice transgenic for the human myotonic dystrophy region with expanded CTG repeats display muscular and brain abnormalities." *Human molecular genetics* 10(23): 2717-2726.

- 205.Silici, S., O.Erslan, et al. (2009). "Antioxidative effect of royal jelly in cisplatin-induced testes damage." *Urology* 74(3): 545-551.
- 206.Singh, R. P. (1998). "Reverse-transcription polymerase chain reaction for the detection of viruses from plants and aphids." *Journal of Virological methods* 74(2): 125-138
- 207.Sivajothi, V; Dey, A; Jayakar, B; Raj Kapoor, B. (2008). Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effect of *phyllanthus rheedii* on streptozotocin induced diabetic rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (1) : 53 - 59. En ligne :
- 208.Somers, F., Ouedraogo, R., Antoine, M. H., De Tullio, P., Becker, B., Fontaine, J., ... & Lebrun, P. (2001). Original 2-Alkylamino-6-halogenoquinazolin-4 (3 H)-ones and KATP Channel Activity. *Journal of medicinal chemistry*, 44(16), 2575-2585.
- 209.synthase." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(15): 8915-8920.
- 210.Szakács, G., J. K. Paterson, et al. (2006). "Targeting multidrug resistance in cancer." *Nature reviews Drug discovery* 5(3): 219.
- 211.Szkudelski, T. (2001). "The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas." *Physiological research* 50(6): 537-546.
- 212.Taleb-Senouci, D., Ghomari, H., Krouf, D., Bouderbala, S., Prost, J., Lacaille-Dubois, M., et Bouchenak, M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* ,16 , 623–631. doi:10.1016/j.phymed.2008.12.004
- 213.Thakker, D. R., H. Yagi, et al. (1976). "Metabolism of benzo [a] pyrene: conversion of (+/-)-trans-7, 8-dihydroxy-7, 8-dihydrobenzo [a] pyrene to highly mutagenic 7, 8-diol-9, 10-epoxides." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 73(10): 3381-3385.
- 214.Tindall, B., P. Grimont, et al. (2005). "Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*." *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 55(1): 521-524.
- 215.Torralba, J. d., C. Da Costa, et al. (2003). "P/M aluminum matrix composites: an overview." *Journal of Materials Processing Technology* 133(1-2): 203-206.
- 216.traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes.
- 217.Uçkay, I., K. Gariani, et al. (2014). "Diabetic foot infections: state-of-the-art." *Diabetes, Obesity and Metabolism* 16(4): 305-316.
- 218.Ulmer, J. E., E. M. Vilén, et al. (2014). "Characterization of glycosaminoglycan (GAG) sulfatases from the human gut symbiont *Bacteroides thetaiotaomicron* reveals the first GAG-specific bacterial endosulfatase." *Journal of Biological Chemistry* 289(35): 24289-24303

219. Verges, B. (2009). "Lipid modification in type 2 diabetes: the role of LDL and HDL." *Fundamental & clinical pharmacology* 23(6): 681-685.
220. Verpoorte, R., Contin, A., and Memelink, J. (2002). Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry reviews* 1, 13-25.
221. Vessal, M., M. Hemmati, et al. (2003). "Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats." *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 135(3): 357-364.
222. Wang, Z. L. and J. Song (2006). "Piezoelectric nanogenerators based on zinc oxide nanowire arrays." *Science* 312(5771): 242-246.
223. Waterhouse A .L. (1999): Synergetic activity of catechin and other antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4491–4494.
224. Weckbecker, G. and J. G. Cory (1988). "Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro." *Cancer letters* 40(3): 257-264.
225. Wilbur, D. C., K. Madi, et al. (2009). "Whole-slide imaging digital pathology as a platform for teleconsultation: a pilot study using paired subspecialist correlations." *Archives of pathology & laboratory medicine* 133(12): 1949-1953.
226. wistar, Thèse de docteur en pharmacie, Université de Cheikh Anta Diop de Dakar:
227. Xie, Y.-W., W. Shen, et al. (1996). "Role of endothelium-derived nitric oxide in the modulation of canine myocardial mitochondrial respiration in vitro: implications for the development of heart failure." *Circulation Research* 79(3): 381-387.
228. YAKHLEF, G. (2010). ETUDE DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DES EXTRAITS DE FEUILLES DE *Thymus vulgaris* L. ET *Laurus nobilis* L, Université de Batna 2.
229. Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, N., and Phromkunthong, W. (2009). Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southern coast of Thailand. *Plant foods for human nutrition* 64, 218-223
230. YC Yadav ; DN Srivastava ; V Saini ; AK Seth ; TK Ghelani ; A Malik ; S Kumar, 2011 : *An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(3), p244-253.
231. Yousef, M. I., T. I. Awad, et al. (2006). "Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E." *Toxicology* 227(3): 240-247.
232. Yusuf, S., S. R. Mehta, et al. (2006). "Effects of fondaparinux on mortality and reinfarction in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction: the OASIS-6 randomized trial." *Jama* 295(13): 1519-1530.
233. Zaika, L. L. (1988). "SPICES AND HERBS: THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND ITS DETERMINATION 1." *Journal of Food Safety* 9(2): 97-118.