

Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry of High Education and Scientific Research
Abbes Laghrou University- Khenchela-
Natural and life sciences Faculty
Molecular and Cellular Biology Department



N° de série : 4 éme

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES DE MASTER ACADEMIQUE

Domaine : **Sciences de la nature et de la vie**

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité : **Biochimie Appliqué**

Présenté par :

M elle Meftah Sonia , M elle Ramdani Sana

Thème

Évaluation comparative de l'activité antioxydante des
extraits éthanoliques d'*Ajuga iva* de l'Est Algérien

Mémoire soutenu publiquement le 19/06/ 2025 Devant le jury composé de :

Dr. Bouhalit Samira

(MCA) , Université Abbes Laghrou Khenchela , Présidente

Dr. Arab Yasmine

(MCA) , Université Abbes Laghrou Khenchela , Encadrante

Dr. Krim Meriem

(MCB) , Université Abbes Laghrou Khenchela , Examinatrice

Année Universitaire

2024 / 2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

REMERCIEMENTS

Nous exprimons tout d'abord notre gratitude envers Dieu, le tout-puissant et miséricordieux, pour la force et la patience qu'Il nous a accordées afin d'accomplir ce modeste travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à *Dr. Arab Yasmine*, notre encadrante de mémoire, pour son écoute attentive, sa disponibilité constante, sa patience, ainsi que pour l'inspiration, l'aide précieuse et le temps qu'elle nous a consacrés tout au long de ce projet.

Nous tenons à remercier sincèrement les membres du jury:

Nous adressons nos vifs remerciements à *Dr. Bouhalit Samira*, Maître de conférences à l'Université Abbes Laghrour de Khenchela, pour l'honneur qu'elle nous fait en présidant le jury de soutenance, et lui témoignons notre reconnaissance pour l'attention particulière qu'elle a accordée à ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à *Dr. Krim Meriem*, Maître de conférences à l'Université Abbes Laghrour de Khenchela, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Nous lui témoignons notre profonde gratitude et notre respect, ainsi que notre reconnaissance pour sa gentillesse.

Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude à l'équipe du laboratoire pédagogique de Biochimie de l'Institut de Biologie de l'Université de Khenchela.

Nous adressons également nos profonds remerciements aux enseignants du département de Biologie pour leur soutien et leurs précieux enseignements.

Pour conclure, nous exprimons notre sincère reconnaissance à nos familles et amis pour leur soutien constant durant la rédaction de ce mémoire.

MERCI À TOUS

DÉDICACE

*Grâce à Dieu, "Allah" j'ai pu accomplir ce modeste travail, que je dédie
tout d'abord à:*

*À mes chers parents, en témoignage de gratitude pour leurs sacrifices
et leurs soutiens et leurs encouragements constant durant mes
études. Que Dieu les protège et prenne soin d'eux.*

*À mes chers frères et mes chères sœurs, pour leur soutien constant,
leurs encouragements sincères et leurs sourires réconfortants dans les
moments difficiles.*

À toute ma famille, pour leur soutien et leurs encouragements.

À ma binôme et ma chère coupine Sana

*À toutes mes chères copines : Hassan, Ouannassa , Israa , Karima,
Fattom .Asma .*

À tous mes professeurs, qui ont façonné mon parcours éducatif.

*À tous ceux qui ont participé à mon succès, je dédie ce travail en signe
de ma profonde gratitude.*

MERCI BEAUCOUP

SONIA

DÉDICACE

À l'aide de dieu, "Allah" tout puissant Qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail. Que Je dédie:

À mes chers parents, en témoignage de gratitude pour leurs sacrifices et leurs soutiens et leurs encouragements constant durant mes études. Que Dieu les protège et prenne soin d'eux.

À mes chers frères et ma chère sœur, pour leur soutien constant, leurs encouragements sincères et leurs sourires réconfortants dans les moments difficiles.

À toute ma famille, pour leur soutien et leurs encouragements.

À ma binôme et ma chère coupine Sonia

À toute mes chères copines : Hassan, Ouannassa , Israa , Karima, Fattom ,Asma.

À tous mes professeurs, qui ont façonné mon parcours éducatif.

À tous ceux qui ont participé à mon succès, je dédie ce travail en signe de ma profonde gratitude.

MERCI BEAUCOUP

SANA



Résumé

Résumé

Ajuga iva, également appelée "chendgoura", est une plante médicinale de la famille des Lamiacées, couramment utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne. Notre étude a pour objectif de caractériser la composition chimique et d'évaluer l'activité antioxydante des extraits bruts de cette plante récoltée dans deux régions distinctes, Khenchela (EEK) et Oum El Bouaghi (EEO). Une variation de rendement a été observée, le meilleur étant enregistré pour l'extrait EEK avec 13,48 %. Le criblage phytochimique a révélé la présence de divers métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les composés réducteurs, les saponines, les terpénoïdes et les stéroïdes. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été réalisée à l'aide des méthodes de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium, respectivement. Les résultats ont indiqué que les extraits des deux plantes contiennent des quantités moyennes de ces composés, la meilleure teneur étant enregistrée pour l'extrait EEO ($25,69 \pm 0,59 \mu\text{g EAG/mg E}$ et $16,63 \pm 0,08 \mu\text{g EQ/mg E}$, respectivement). L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, en utilisant l'acide ascorbique comme standard. Les résultats ont montré que les deux extraits présentaient des activités inhibitrices similaires, avec des valeurs d'IC₅₀ de $3,07 \pm 0,014 \mu\text{g/mg}$ (EEO) et $3,96 \pm 0,036 \mu\text{g/mg}$ (EEK). En effet, *Ajuga iva* présente des propriétés antioxydantes acceptables qui pourraient être recommandées en biotechnologie.

Les mots clés: *Ajuga iva*, criblage phytochimique, polyphénols, flavonoïdes, Activités antioxydante.

Abstract

Ajuga iva, also called "chendgoura," is a medicinal plant from the Lamiaceae family, commonly used in traditional Algerian medicine. Our study aims to characterize the chemical composition and evaluate the antioxidant activity of crud extracts from these plant harvested in two distinct regions, Khenchela (EEK) and Oum El Bouaghi (EEO). A variation in yield was observed, with the best being recorded for the EEK extract at 13.48%. Phytochemical screening revealed the presence of various secondary metabolites such as phenolic compounds, reducing compounds, saponins, terpenoids, and steroids. The quantitative estimation of total polyphenols and flavonoids was carried out using the Folin-Ciocalteu and aluminum chloride methods, respectively. The results indicated that the extracts of both plants contain average amounts of these compounds, with the highest content recorded for the EEO extract ($25.69 \pm 0.59 \mu\text{g GAE/mg E}$ and $16.63 \pm 0.08 \mu\text{g QE/mg E}$, respectively). The antioxidant activity of the extracts was evaluated using the DPPH free radical scavenging method, with ascorbic acid as the standard. The results showed that both extracts exhibited similar inhibitory activities, with IC_{50} values of $3.07 \pm 0.014 \mu\text{g/mg E}$ (EEO) and $3.96 \pm 0.036 \mu\text{g/mg E}$ (EEK). Indeed, *Ajuga iva* exhibits acceptable antioxidant properties that could be recommended in biotechnology.

Keywords: *Ajuga iva*, phytochemical screening, polyphenols, flavonoids, antioxidant activities.

الملخص

أجوجا إيفا، المعروفة أيضًا باسم "تشنديغورا"، هي نبات طبي من عائلة الشفويات، تُستخدم بشكل شائع في الطب التقليدي الجزائري. تهدف دراستنا إلى تحديد التركيب الكيميائي وتقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات هذا النبات و التي تم جمعها من منطقتين مختلفتين خنشلة و ام البواقي.تمت ملاحظة تباين في المردود، حيث تم تسجيل أفضل عائد لمستخلص النبات من خنشلة بنسبة 13.48%. أظهر الفحص الفيتوكيميائي وجود مجموعة متنوعة من المستقلبات الثانوية مثل المركبات الفينولية، المركبات المختزلة، الصابونينات، التربينويدات، والستيرويدات. تمت التقديرات الكمية للبوليفينولات الكلية والفلافونويدات باستخدام طرق فولين-سيوكالتو وثلاثي كلوريد الألومنيوم، على التوالي. أشارت النتائج إلى أن مستخلصات النباتين تحتوي على كميات متوسطة من هذه المركبات، حيث تم تسجيل أفضل محتوى لمستخلص النبات من منطقة ام البواقي ب $0,59 \pm 25,69$ ميكروغرام مكافئ حمض الجاليك/ملجم مستخلص و $0,08 \pm 16,63$ ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/ملجم مستخلص على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات باستخدام طريقة اصطياد الجذور الحرة DPPH، مع استخدام حمض الأسكوربيك كمعيار. أظهرت النتائج أن كل من المستخلصين يمتلكان أنشطة مثبطة مماثلة، بقيمة IC_{50} مساوي ل $0,014 \pm 3,07$ ميكروجرام/ملييلتر (مستخلص منطقة خنشلة) و $0,036 \pm 3,96$ ميكروجرام/ملييلتر (مستخلص منطقة ام البواقي). تتميز *Ajuga iva* بخصائص مضادة للأكسدة مقبولة يمكن التوصية باستخدامها في التكنولوجيا الحيوية.

الكلمات المفتاحية : *Ajuga iva*، الفحص الفيتيمي الكيميائي، البوليفينولات، الفلافونويدات، الأنشطة المضادة للأكسدة.

Table des matière

Remerciements

Dédicace

Résumé.....I

Liste des abréviations.....III

Liste des figures.....IV

Liste des schémasV

Liste des photographiesVI

Liste des tableaux.....VII

Introduction.....1

Partie 01: Revue bibliographique

Chapitre I : *Ajuga iva*

I. Généralités sur les plantes médicinales.3

II. *Ajuga iva*.3

II.1. Description botanique de la plante.3

II.2. Dénomination de la plante.....4

II.3. Systématique de la plante.4

II.4. Répartition géographique... .5

II.5.Etude comparative entre deux régions.....6

II.5.1. Situation géogrophyque.....6

II.5.2.Climat.....6

II.5.3.Contrastes.....6

II.5.4. Sols.....6

II.5.5.Plantes.....7

II.6. Composition chimique de la plante.7

II.7. Utilisation thérapeutique *d'A. iva*.7

II.8. La toxicité de la plante.8

Chapitre II : les métabolites secondaires

I. Généralités.9

II. Classification des métabolites secondaires. 9

II.1. Les composés phénoliques.10

II.1.1 Classification des composés phénoliques.....10

II.1.1.1. Acide phénolique et les phénols simples.10

II.1.1.2. Les coumarines. 11

II.1.1.3. Les flavonoïdes. 11

II.1.1.4. Les tanins.12

II.2. Les terpènes. 13

II.2.1. Classification des terpènes.13

II.2.2. Intérêts des terpènes.....14

II.3. Les alcaloïdes.14

II.3.1. Classification des Alcaloïdes.14

II.3.2. Intérêts des alcaloïdes.15

Chapitre III : stress oxydatif

I. Le stress oxydatif 16

II. Les radicaux libres..... 16

II.1. Rôle des radicaux libres.	17
II.2. Les différents types des radicaux libres	17
II.2.1. Les radicaux libres oxygénés (ERO).	18
II.2.2. Les radicaux libres azoté (RNS).	18
III. Les antioxydants.	19
III.1. Classification des antioxydants.....	19
IV. Evaluation de l'activité antioxydante.	22
IV.1. Test du DPPH.	22

Partie 02:Etude expérimentale

Chapitre 1: Matériel et méthodes

I. Matériel.....	23
I.1. Matériel végétal.	23
I.2. Réactifs chimiques.	23
I.3.Appareillage.	23
II. Méthodes.....	24
II.1.Préparation de l'extrait éthanolique.	24
II.2. Détermination du rendement d'extraction.	25
II.3.Analyse qualitative par le screening phytochimique.	25
II.4. Analyse quantitative.....	27
II.4.1. Dosage des polyphenols totaux.	27
II.4.1.1. Le principe.	28
II.4.1.2. Mode opératoire.	28
II.4.1.3.Expression des résultats.	28

II.4.2. Dosage des flavonoïdes.	28
II.4.2.1. Principe.	28
II.4.2.2. Mode opératoire.	29
II.4.2.3. Expression des résultats.	29
II.5. Activité antioxydant.	29
II.5.1. Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyl)	29
II.5.1.1. principe.	29
II.5.1.2. Mode opératoire.	29
II.5.1.3. Expression des résultats.	30

Chapitre II: Résultats et discussion

I. Détermination du rendement d'extraction.	31
I.2. Screening photochimique des extraits.	31
I.3. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.	35
I.4. Activité antioxydante.	37
Conclusion.	39
Références bibliographique.	41

Liste des abréviations

- *A. iva* : *Ajuga iva* .
- **EEK** : extrait éthanolique de kenchela .
- **EEO** : extrait éthanolique d' Oum Baoughi.
- **R(%)** : rendement d'extraction.
- **Ps** : poids en gramme (g) de l'extrait sec résultant.
- **Pp**: poids en gramme (g) de matériel végétale à traiter .
- **EAG** : équivalent de acide gallique.
- **EQ** : équivalent de quercétine.
- **DPPH** : 2,2-Diphenyle-1-picrylhydrazil .
- **IC₅₀**: Concentration Inhibitrice à 50%.
- **DL₅₀**: La dose létale médiane.
- **OH[•]** : radical hydroxyle.
- **RL** : radicaux libres .
- **ERO** : radicaux libres oxygéné.
- **RNS** : radicaux libres azoté .
- **O₂^{•-}**: l'anion superoxyde.
- **ROO** : radical peroxyde.
- **RO** : radical alkoxyde.
- **ONOO⁻**: peroxydinitrite.
- **NO** :monoxyde d'azote.
- **H₂O₂** : peroxyde d'hydrogène .
- **Fe²⁺** : l'ion ferrique, un cation avec une charge de +2.
- **Fe³⁺** : l'ion ferrique, un cation avec une charge de +3.
- **NO₂** : Dioxyde d'azote .

Liste des figures

N° de figure	Titres	N° de page
N° 01	La plante <i>d'Ajuga. iva</i>	04
N° 02	Structure de base des flavonoïdes	11
N° 03	Les différentes classes des flavonoïdes	12
N° 04	Structure de base de l'unité isoprène	13
N° 05	La balance de d'déséquilibre entre les systèmes pro et antioxydants	16
N° 06	Origine et types des différents radicaux libres oxygénés et espèces de l'oxygène impliqué en biologie	17
N° 07	Réaction de réduction d'un radical DPPH en présence d'un antioxydant	22
N° 08	pourcentage d'inhibition des extraits et de l'acide ascorbique	37

Liste des photographies

N° de photographie	Titres	N° de page
N° 01	<i>Ajuga, iva</i> de la région Oum Baouaghi et Khenchela	23

Liste des schémas

N° de schéma	Titres	N° de page
N°01	Différents étapes de préparation de l'extrait éthanolique	24

Liste des tableaux

N° de tableau	Titres	N° de page
N°01	Classification et taxonomie botanique <i>d' Ajuga, iva</i>	05
N°02	classification des terpènes	13
N°03	La couleur, l'aspect et le rendement des extraits éthanoliques <i>d' Ajuga iva</i> .	31
N°04	screening phytochimiques des extraits de l'espèce <i>Ajuga iva</i>	32
N°05	Tencurs en polyphenols et en flavonoïdes d'extrait <i>d' A. iva</i> .	35
N°06	IC ₅₀ de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques <i>d' A. iva</i> .	38



Introduction

Introduction

Le stress oxydant, caractérisé par un déséquilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants (déficit en antioxydants ou surproduction de radicaux libres), est impliqué dans de nombreuses pathologies humaines, notamment l'inflammation, le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'arthrite rhumatoïde et le diabète. Partout dans le monde, les plantes aromatiques et médicinales ont toujours joué un rôle important dans l'alimentation, la médecine traditionnelle et l'industrie **(Ben Hassine et al., 2011)**.

Les plantes médicinales, source inépuisable de composés bioactifs, présentent une grande diversité d'activités biologiques et pharmacologiques. L'OMS estime que plus de vingt mille espèces végétales sont utilisées à travers le monde. En Afrique, elles sont souvent les seuls remèdes disponibles, utilisés par les guérisseurs traditionnels pour traiter plus de 90% de la population. Il est donc essentiel d'étudier ces plantes et d'établir une base scientifique pour leur utilisation **(Sofowora, 2010)**.

L'activité biologique des plantes est principalement due à la synthèse de métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpenoïdes. Ces composés possèdent des propriétés analgésiques, antifongiques, anticancéreuses, anti-inflammatoires et antivirales, ainsi qu'une activité antioxydante (capture de radicaux ou chélation des métaux) **(Kabera et al., 2014)**.

L'Algérie, riche en biodiversité, abrite plus de 3000 espèces végétales, dont 15% sont endémiques. De nombreuses plantes aromatiques et médicinales, notamment les Lamiacées, riches en composés bioactifs, sont couramment utilisées **(Mouheb et al., 2018)**. Les Lamiaceae, une famille cosmopolite, comptent environ 236 genres et entre 6900 et 7200 espèces **(Tamokou et al., 2017)**. En Algérie, les Lamiaceae, avec 27 genres, sont une famille majeure, certains genres étant difficiles à identifier en raison de leur grande variabilité **(Quezel et Santa, 1963)**. Le genre *Ajuga* est l'un des plus importants dans la famille des Lamiaceae.

Dans ce contexte, l'objectif principal de ce travail est de caractériser la composition chimique et d'évaluer l'activité antioxydante des extraits bruts de la partie aérienne d'*Ajuga. iva* récoltée dans deux régions distinctes, Khenchela et Oum El Bouaghi. Pour cette étude, nous allons procéder en deux parties principales.

- La première partie, consacrée à l'étude bibliographique, comprend trois chapitres. Le premier présente la plante médicinale *A. iva*, sa composition en principes actifs et leurs activités biologiques. Le deuxième chapitre traite des métabolites secondaires et de leur importance, tandis que le dernier chapitre se concentre sur le stress oxydatif.
- La deuxième partie, expérimentale, est divisée en deux chapitres.
 - Le premier décrit les méthodes et techniques utilisées, notamment :
 - ✓ La méthode de l'extraction et la préparation de l'extrait éthanolique;
 - ✓ L'évaluation qualitative par un screening phytochimique ;
 - ✓ La détermination des teneurs en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes) ;
 - ✓ L'évaluation du pouvoir antioxydant en utilisant le test de DPPH.
 - Le deuxième chapitre présente les résultats obtenus et leur discussion.
- Cette étude se conclut par une conclusion générale des résultats, suivie de perspectives futures.



Partie 01: Revue bibliographique



Chapitre I : Ajuga iva

I. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des végétaux utilisés en médecine en raison de leurs propriétés thérapeutiques, contenant des substances chimiques actives à des fins pharmacologiques. Elles sont classées en trois catégories selon leur validation clinique, leur soutien par les pharmacopées et la médecine traditionnelle, ou leur utilisation traditionnelle sans preuves cliniques. Ces plantes sont des sources précieuses de molécules pour la recherche de nouveaux médicaments, contenant des substances comme les alcaloïdes, les hétérosides, les mucilages et les saponosides (Chabrier, 2010 ; Zeggwagh *et al.*, 2013 ; Gurib-Fakim .2006 ; Sofowora, 2010).

II. *Ajuga iva*

Le nom *Ajuga* vient du latin « jugum », signifiant "joug", avec le suffixe "a" indiquant l'absence de joug, en référence à l'absence de lèvre supérieure de la corolle. Le nom féminin latin *iva* a été utilisé pour la première fois pour cette plante.

Le genre *Ajuga* comprend environ quarante à cinquante espèces de plantes herbacées et vivaces (Diafat, 2018). Ce genre, qui fait partie des 266 genres de la famille des Lamiaceae, comprend au moins 301 espèces avec de nombreuses variations (Israili et Lyoussi, 2009). Coll *et al.* (2008), mettent en avant l'importance médicinale du genre *Ajuga*, dont la plupart des espèces sont employées en médecine traditionnelle et moderne (Judd *et al.*, 2002). Elles sont souvent utilisées comme remède antidiabétique (El Hilaly *et al.*, 2004).

Ajuga Iva connu par leur nom commun de Chendgoura ou shendghoura dans plusieurs pays dans l'Europe et le nord d'Afrique et en particulière les régions d'Algérie (El Hilaly *et al.*, 2004).

II.1. Description botanique de la plante

Plante vivace, rampante et velue, dégage une odeur musquée, un gout ameret, mesure de 5 à 20 cm de haut. Ses tiges fleuries dès la base portent de nombreux rameaux garnis de feuilles denses, entières ou dentées. Les fleurs, généralement roses (rarement blanches ou jaunâtres) et plus courtes que les feuilles, mesurent 18 à 24 mm de long avec un lobe terminal large et échancré (Taleb-Senouci *et al.*, 2009). Les graines oblongues, avec un hile proéminent, sont finement réticulées et alvéolées caractérisées par un couleur marron (El Hilaly, 2007; Beloued, 2014). La floraison se produit de mars à juin (Lamnouer, 2005).



Figure 1 : La plante d'*Ajuga. Iva* (Bendif, 2017).

II.2. Dénomination de la plante

Les noms de cette plante varient selon la langue et la région (Hdichambis *et al.*, 2007 ; Tahraoui *et al.*, 2007).

- **Nom en Arabe:** Mesk elqobour.
- **Nom en Bèbère:** Chendgoura, chkentura.
- **Nom en Français:** Bugle musquée, ivette musquée.
- **Nom en Anglais:** Musky Bugle.
- **Nom en Italien:** Iva moscada.
- **Nom en Espagnol:** Iva, iva menor, iva moscada.

II.3. Systématique de la plante

La classification et la taxonomie botanique de la plante ont été établies selon Quezel et Santa (1963); Ghedira *et al.* (1991) ; Halimi (2004), est représenté dans le tableau 1 suivant :

Tableau 1 : Classification et taxonomie botanique d'*Ajuga. iva*

Taxonomie	Description
Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Infra-règne	Streptophyta
Embranchement	Spermatophyta(Angiospermae)
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotyledones
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Lamiales/tubiflorae
Famille	Lamiaceae/Labiatac
Sous-famille	Ajugoideae
Genre	<i>Ajuga</i>
Espèce	<i>Ajuga iva</i> (L) Schreb

II.4. Répartition géographique

Le genre *Ajuga* est présent dans les régions tempérées du monde, notamment en Europe, en Asie, en Australie, en Amérique du Nord et en Afrique (Cai *et al.*, 2009 ; Qing *et al.*, 2017). Elle est répandue dans la région méditerranéenne, ainsi qu'en Afrique du Nord et de l'Est (Lamnouer, 2005 ; El Hilaly, 2007).

En Algérie, cette plante à tiges, caractérisée par une floraison limitée au sommet, est présente dans les pelouses, les forêts de basse montagne et les rocailles (Quezel et Santa, 1963 ; Beloued, 2014).

II.5. Etude comparative entre les deux régions

II.5.1. Situation géographique

* Khenchela : Cette région est entourée par les montagnes de l'Aurès, ce qui lui confère un paysage spectaculaire. Elle est située à environ 200 km au sud-est d'Alger. La ville de Khenchela est perchée à une altitude d'environ 1 000 mètres.

* Oum El Bouaghi : Cette région est plus plate et s'étend sur une vaste superficie, à environ 400 km au sud-est d'Alger. Elle est située à une altitude plus basse, ce qui influence son climat et sa végétation.

II.5.2. Climat

* Khenchela : Le climat est caractérisé par des hivers rigoureux, avec des températures pouvant descendre en dessous de zéro, et des chutes de neige fréquentes. Les étés peuvent atteindre des températures élevées, mais l'air est souvent plus frais grâce à l'altitude. Les précipitations annuelles peuvent atteindre 600 mm, surtout en hiver.

* Oum El Bouaghi : Le climat est plus sec, avec des températures estivales pouvant dépasser les 40 °C. Les hivers sont plus doux, mais les précipitations annuelles sont généralement autour de 300 mm, concentrées principalement en automne et au printemps.

II.5.3. Contrastes

* Khenchela : Le contraste entre les montagnes, les vallées verdoyantes et les plateaux peut créer des microclimats différents. Les paysages sont souvent dramatiques, avec des gorges et des ravins.

* Oum El Bouaghi : Les paysages sont plus uniformes, avec de vastes champs cultivés et des zones semi-arides. Les variations de terrain sont moins prononcées.

II.5.4. Sols

* Khenchela : Les sols y sont souvent riches en matière organique, surtout dans les vallées, ce qui favorise l'agriculture. Les sols montagneux peuvent être plus acides et moins fertiles.

* Oum El Bouaghi : Les sols sont généralement argileux et moins riches, adaptés à la culture de céréales comme le blé et l'orge, mais moins propices à la culture de légumes ou de fruits.

II.5.5. Plantes

- * Khenchela : On y trouve des forêts de conifères, des chênes-lièges, et une variété de plantes médicinales et aromatiques. La diversité florale est plus riche en raison des conditions climatiques variées.
- * Oum El Bouaghi : La végétation est dominée par des herbes et des buissons résistants à la sécheresse. Des espèces comme l'armoise et le thym sont courantes.

II.6. Composition chimique de la plante

Les espèces du genre *Ajuga* sont largement étudiées en raison de leurs utilisations médicinales. Les recherches ont montré que les principaux métabolites secondaires sont les flavonoïdes et les tanins, présents en grande quantité (**El Hilaly et al., 2004 ; Chenni et al., 2007**). Selon **Bennaghmouch et al. (2001)** ont extrait de l'espèce *Ajuga Iva* sept flavonoïdes aglycones, notamment la quercétine, la lutéoline, le chrysoériol, la 5,5'-dihydroxy-7,4'-diméthoxyflavone, la 5,7-dihydroxy-4',5'-diméthoxyflavone, l'apigénine et la naringénine. On y trouve aussi des anthocyanes, des acides phénoliques et d'autres composés, en particulier la caféine (acide caféique, acide chlorogénique) et l'ajugarine (**Belouad, 2001 ; Halimi, 2004**). L'*Ajuga iva* contient également des diterpénoïdes (clérodane), des iridoïdes et des saponosides. De plus, elle est riche en fer, en lipides, en protéines et en eau (**Ben Jannet et al., 2000 ; Chenni et al., 2007**).

II.7. Utilisation thérapeutique d'*A. iva*

Le genre *Ajuga* est d'une grande importance médicinale. Il est utilisée dans la médecine traditionnelle du monde entier pour traiter des maladies telles que la goutte, les rhumatismes, le paludisme, l'asthme et les troubles gastro-intestinaux (**Israïli et Lyoussi, 2009 ; Zerroug, 2011 ; Sivanesan et al., 2016**).

En Algérie, la médecine traditionnelle utilise la partie aérienne d'*Ajuga iva* pour soigner de nombreux problèmes de santé, comme le diabète, les troubles digestifs, l'entérite, la sinusite, les maux de tête, les rhumatismes, la goutte, l'asthme, le paludisme, les ulcères. Elle est également employée pour ses effets antibactériens et coupe-faim (**Halimi, 2004 ; Chenni et al., 2007 ; Taleb-Senouci et al., 2009**).

En Afrique du Nord, les plantes du genre *Ajuga* sont traditionnellement utilisées pour traiter le diabète, l'hypertension, les troubles gastro-intestinaux et comme vermifuge (**Israïli et**

Lyoussi, 2009). En Afrique de l'Est, ces plantes servent à traiter la fièvre, les maux de dents, la dysenterie et l'hypertension. Dans la pharmacopée chinoise, elles sont réputées pour leurs propriétés diurétiques et vermifuges (**El-Hilaly et al., 2004 ; Halimi, 2004**). *A. iva* est fréquemment utilisé en application locale pour traiter les rhumatismes, agir comme antiseptique et favoriser la cicatrisation. En macération ou en infusion, il aide à éliminer les parasites du cuir chevelu. Cependant, il est important de noter que elle peut être toxique, et son utilisation doit donc être prudente (**Kaddem, 1999**).

L'A. iva possède de nombreuses propriétés scientifiquement prouvées. Il agit comme un antioxydant (**Taleb-Senoucia et al., 2009**). Il a été démontré que les iridoïdes présents dans l'*Ajuga iva* peuvent jouer un rôle significatif dans la réduction du stress oxydatif induit par le cholestérol alimentaire, ce qui pourrait être bénéfique pour la prévention et/ou le traitement précoce de l'hypercholestérolémie (**Bouderbala et al., 2010**).

II.8. La toxicité de la plante

L'étude a révélé que *Ajuga. iva* n'avait aucun impact sur la glycémie des personnes en bonne santé, mais qu'elle avait un effet hypoglycémiant chez les personnes atteintes de diabète (**EL Hilaly et al., 2004**).

La dose létale médiane (DL₅₀) par voie orale est supérieure à 14 g/kg de poids corporel, tandis que par voie intrapéritonéale, elle est d'environ 3,6 g/kg de poids corporel. Un traitement chronique allant jusqu'à 600 mg/kg de poids corporel n'a pas d'effets néfastes sur les paramètres biochimiques et hématologiques. L'analyse histologique des organes vitaux révèle des structures anatomiques et morphologiques normales (**El Hilaly et al., 2007**). Les résultats des DL₅₀ suggèrent que les flavonoïdes d'*Ajuga iva* sont relativement non toxiques, même à des doses élevées (**Bennaghmouch et al., 2001**).



Chapitre II : les métabolites secondaires

I. Généralités

La plante est le lieu d'une activité métabolique intense qui aboutit à la création de nombreux principes actifs. Ce processus métabolique est intrinsèque à la vie de la plante, lui permettant de développer un métabolisme spécifique pour synthétiser des substances variées, telles que les métabolites primaires et secondaires (**Kansole, 2009**). Elle synthétise de nombreux composés essentiels à leur survie. Certains, appelés métabolites secondaires, ne sont pas directement issus de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures (**Chalander, 2000**).

Les métabolites secondaires sont des composés phytochimiques non directement impliqués dans les processus vitaux de bases comme (la croissance, la division cellulaire, la respiration, la photosynthèse, reproduction), contrairement aux métabolites primaires (**Labrani, 2021**). Elles sont caractérisées généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux (habituellement quelques pourcents du carbone total, la lignine étant exclue) (**Newman et Cragg, 2012**).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (**Amara et Melouk, 2016**). Il existe plus de 200000 métabolites secondaires classés selon leurs structures chimiques (**Labrani, 2021**). Ces molécules, produites en petites quantités, présentent une diversité structurale remarquable et sont spécifiques d'une espèce, d'une famille ou d'un genre de plante, ce qui permet parfois de définir une taxonomie chimique (**Donatien, 2009**). Ils appartiennent à des groupes chimiques variés : alcaloïdes, terpènes et composés phénoliques (**Macheix *et al.*, 2005**).

II. Classification des métabolites secondaires

La classification des métabolites secondaires repose sur leur structure chimique, leur composition, leur solubilité dans différents solvants ou leur voie de synthèse.

Le système de classification principal comprend trois grandes classes:

- Les composés phénoliques.
- Les terpènes.
- Les alcaloïdes.

Pour chaque classe, on trouve des sous-classes avec une complexité structurale (**Justin et al., 2014**).

II.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques, également appelés polyphénols, constituent une vaste famille de substances végétales, avec plus de 8 000 composés connus. Ces composés sont caractérisés par la présence d'au moins un cycle aromatique porteur d'un ou plusieurs groupes hydroxyle (OH). En raison de leur liaison fréquente avec des sucres sous forme de glycosides, les composés phénoliques sont généralement solubles dans l'eau et se trouvent principalement dans les vacuoles cellulaires (**Harborne, 1973**). Les principales classes de composés phénoliques comprennent les acides phénoliques (comme l'acide caféique, l'acide hydroxycinnamique et l'acide chlorogénique), les flavonoïdes (qui représentent plus de la moitié des polyphénols), les tanins et les coumarines (**Tapiero et al., 2002**).

Les polyphénols sont largement répandus dans le règne végétal, se trouvant dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur, l'arôme et l'astringence des plantes dépendent de la concentration et de la transformation des phénols. Dans la nature, ces composés sont généralement liés sous forme d'esters ou, plus communément, d'hétérosides (**Walton et Broun, 1999**). Ils sont synthétisés en réponse à des facteurs de stress environnementaux et physiologiques tels que les agents pathogènes, les attaques d'insectes, les rayons UV, les basses températures et les blessures (**Khoddami et al., 2013**).

II.1.1 Classification des composés phénoliques

II.1.1.1. Acide phénolique et les phénols simples

A. Acides hydroxycinnamiques

Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type Ca Cavec une double liaison dans la chaîne latérale qui peut avoir une configuration cis ou trans. Parmi les acides hydroxycinnamiques Les plus courants et les plus connus: l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide sinapique (**Hesham et al., 2012**).

B. Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques, de structure C₆-C₁, sont dérivés de l'acide benzoïque et se trouvent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Bellebcir, 2008). Les structures varient en fonction des hydroylations et des méthoxylations sur le cycle phénolique aromatique (Boutakiout, 2015). Les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique (Bruneton, 1999).

II.1.1.2. Les coumarines

Les coumarines, caractérisées par le noyau benzo-pyrone (coumarine), résultent de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy-cis-cinnamique (Ben Rhouma, 2013). Les coumarines, de divers types, sont présentes dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses, notamment la prévention de la peroxydation des lipides membranaires et la capacité à capter les radicaux hydroxyles, superoxyde et peroxydes (Madhavi, 1996).

II.1.1.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, pigments végétaux abondants, participent à la défense contre les UV, les herbivores et les microbes (Bruneton, 2015). Ils présentent plus de 8000 structures décrites (responsables des colorations jaunes, orange, et rouges de différentes organes végétaux (Pessel, 2013; Malbert, 2014).

A. Structure des Flavonoïdes

Les flavonoïdes, des polyphénols essentiels, présentent une structure C₆-C₃-C₆ avec deux cycles benzéniques (A et B) liés à un cycle pyrone (C), se trouvant sous forme glycosidique ou aglycone. La classification des flavonoïdes dépend de l'oxydation du cycle C, et les composés individuels sont déterminés par l'hydroxylation des cycles A et B (Sing *et al.*, 2014).

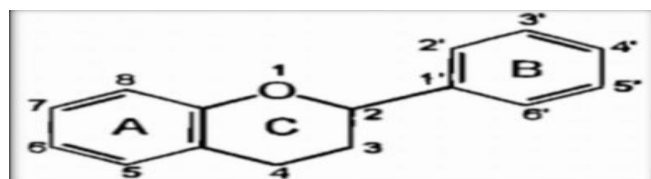


Figure 2: Structure de base des flavonoïdes (Karabin *et al.*, 2015).

B. Classification des flavonoïdes

La classification des flavonoïdes se fait d'une part en fonction du nombre, de la position et de la nature des substituants (groupements hydroxyles-OH et méthoxyles-OCH), et d'autre part en fonction des deux cycles aromatiques A et B et de la chaîne de carbone intermédiaire (Bruneton, 2009).

Les flavonoïdes les plus courants sont généralement divisés en six sous-classes : flavones, flavonols, flavan-3-ols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Karabin *et al.*, 2015).

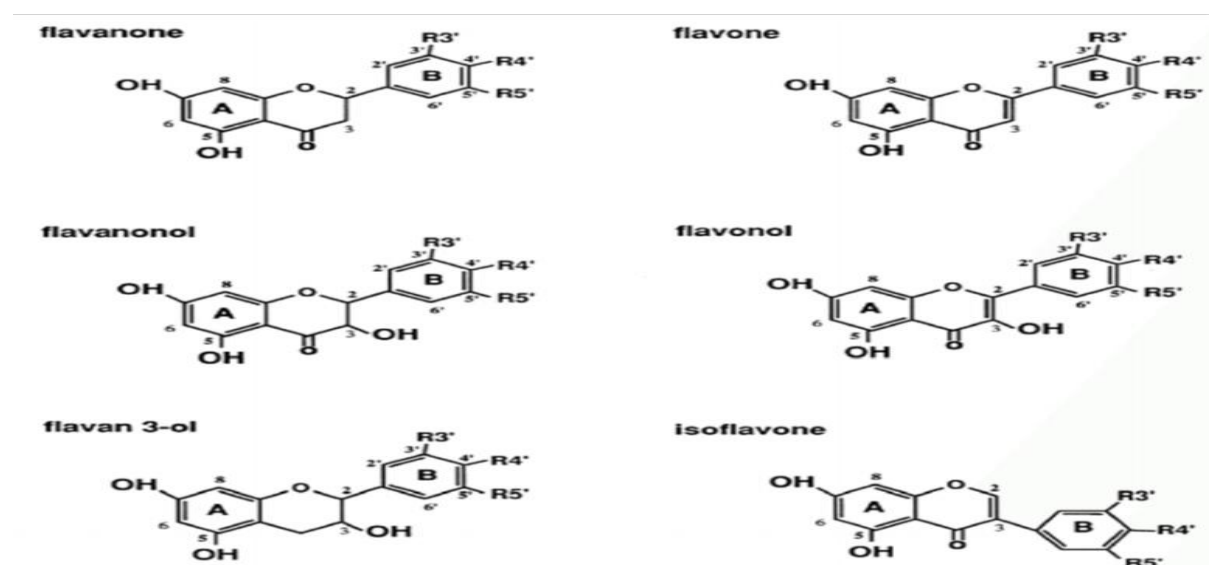


Figure 3 : Les différentes classes des flavonoïdes (Manchando et Cheynier, 2006)

II.1.1.4. Les tanins

Ils sont définis comme des composés polyphénoliques hydrosolubles, dont la masse moléculaire varie de 500 à 3000 KD (polymères). Ils ont la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible, ce qui est lié à leur capacité à se combiner avec des macromolécules (protéines), à précipiter les alcaloïdes et la gélatine (Harrar, 2012).

A. Classification des tanins

A.1. Tanins hydrolysables

Ce sont des esters de sucres simples (principalement glucose ou xylose) et d'acides phénoliques. L'hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique libère des acides phénoliques tels que l'acide gallique ou l'acide ellagique, divisant ainsi ces tanins hydrolysables en deux sous-classes :

- ✓ Les tanins galliques (gallotanins)
- ✓ Les tanins ellagiques (ellagitanins) (Zimmer et Cordesse, 1996).

A.2. Les tanins condensés

Les tanins condensés, oligomères ou polymères de flavonoïdes, sont composés d'unités flavan-3-ol liées par des liaisons carbone-carbone (4-8 ou 4-6). Non hydrolysables, ils se décomposent en pigments colorés (anthocyanidols) lorsqu'ils sont chauffés avec un acide (Benslama, 2016).

II.2. Les terpènes

Les terpènes, hydrocarbures naturels, présentent des structures cycliques ou à chaîne ouverte. Leur formule moléculaire, $(C_5H_8)_n$, varie en fonction du degré de polymérisation, n allant de 1 à 8, sauf pour les polyterpènes (caoutchouc) où n dépasse 100. L'isoprène (C_5H_8) constitue la molécule de base (Bezzaz, 2014).

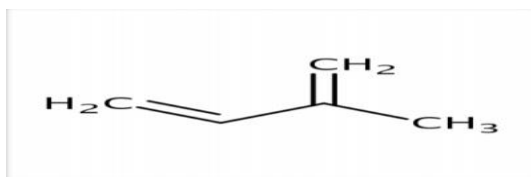


Figure 4: Structure de base de l'unité isoprène (Bramki et Nekia, 2016).

II.2.1. Classification des terpènes

Tableau 2 : classification des terpènes (Bezzaz, 2014).

Squelette carbone	Type de terpènes	La formule
C10	Monoterpène	$C_{10}H_{16}$
C15	Sesquiterpène	$C_{15}H_{24}$
C20	Diterpène	$C_{20}H_{32}$
C30	Triterpène	$C_{30}H_{48}$
C40	Tétraterpène	$C_{40}H_{64}$
>40	Polyterpène	$(C_5H_8)_n$

II.2.2. Intérêts des terpènes

Les terpénoïdes, qui confèrent aux plantes leurs odeurs caractéristiques, participent à la stabilisation des membranes cellulaires, à la régulation de la perméabilité et des réactions enzymatiques. Leur efficacité a été démontrée dans la chimioprévention et la chimiothérapie du cancer, et ils présentent des propriétés antimicrobiennes, antifongiques, antivirales, antihyperglycémiques, anti-inflammatoires et antiparasitaires antioxydantes (**Romanet et al., 2007**).

II.3. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique naturel hétérocyclique qui contient une base azotée, plus ou moins basique, avec une structure moléculaire complexe et des propriétés pharmacologiques prononcées, même à faible dose. La plupart des alcaloïdes sont très toxiques à fortes doses (**Donatien, 2009**).

II.3.1. Classification des Alcaloïdes

- **Les proto-alcaloïdes:** l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acides aminés. Exemple: Colchicine.
- **Les pseudo-alcaloïdes:** Ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés. Exemple: Caféine.
- **Les alcaloïdes vrais:** Ils comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique et sont biosynthétiquement formés à partir d'un acide aminé, ils possèdent une activité pharmacologique marquée (**Beddou, 2015**).

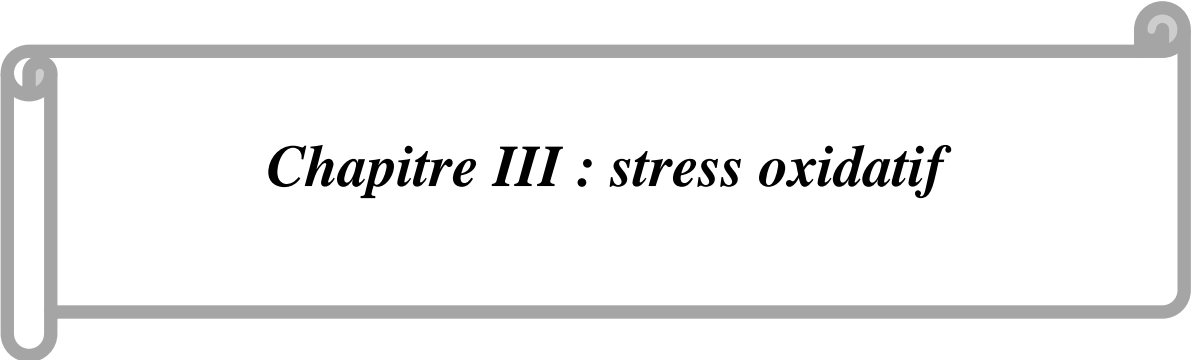
II.3.2. Intérêts des alcaloïdes

Les alcaloïdes servent principalement à protéger les plantes des mammifères et des insectes. Leur action varie selon l'espèce végétale : certains alcaloïdes provoquent des troubles neurologiques, causant intoxications et décès chez les animaux d'élevage. La digitaline, présente dans les digitales, peut entraîner une augmentation de la pression artérielle et même un arrêt cardiaque, en fonction de la dose (**Benslama, 2016**).

De nombreux alcaloïdes sont utilisés en pharmacie :

- * La morphine est un analgésique puissant.
- * La codéine est employée comme analgésique et antitussif.

- * La quinine aide à traiter le paludisme.
- * L'atropine dilate les pupilles, ce qui est utile pour les examens ophtalmologiques.
- * La vinblastine est utilisée en chimiothérapie anticancéreuse, et d'autres alcaloïdes ont des usages courants, comme la nicotine, présente dans les pesticides et les cigarettes.
- * La cocaïne est un stimulant (**Benslama, 2016**).



Chapitre III : stress oxydatif

I. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif (ou stress oxydant) défini comme une perturbation de l'état oxydant intracellulaire (**Sorg, 2004**). La production physiologique d'espèces radicalaires de l'oxygène est normale. Lorsque cette production excède les capacités de défense antioxydante, un déséquilibre se manifeste, correspondant à l'état de stress oxydatif (**Roussel, 2009**). Ce stress résulte d'un déséquilibre pro-oxydants/antioxydants, causant des dommages oxydatifs sur les lipides, les protéines et les acides nucléiques, menant potentiellement à des mutations et une cancérisation. Le stress oxydatif peut ainsi se développer suite à une surproduction de radicaux libres ou à une diminution des défenses antioxydantes (**Sergent, 2001**).

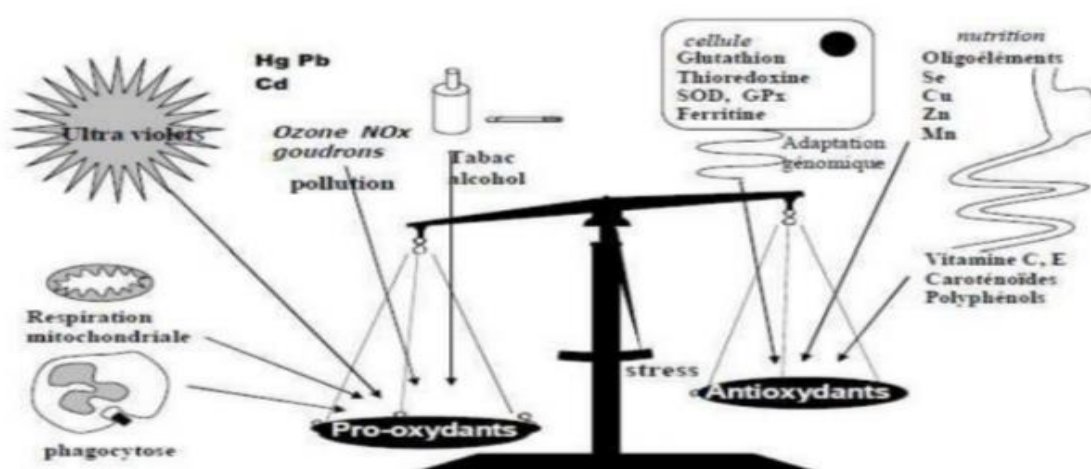


Figure 5 : La balance de déséquilibre entre les systèmes pro et antioxydants (**Favier, 2006**).

II. Les radicaux libres

Un radical libre (RL), défini comme une entité moléculaire autonome avec un électron célibataire, possède des caractéristiques spécifiques. La présence de cet électron non apparié confère des propriétés communes à la plupart des radicaux. Ces derniers sont souvent instables et très réactifs (**Lobo et al., 2010**).

Les RL, qu'il s'agisse d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou d'espèces réactives de l'azote (RNS), proviennent de deux sources : endogènes (mitochondries, péroxysomes, réticulum endoplasmique, cellules phagocytaires, etc.) et exogènes (pollution, alcool, fumée de tabac, métaux lourds, métaux de transition, solvants industriels, pesticides, certains médicaments comme l'halothane, le paracétamol et les radiations) (**Phaniendra et al., 2014**).

Les radicaux libres ne durent qu'une fraction de seconde, mais durant ce laps de temps, ils peuvent endommager l'ADN, provoquant des mutations susceptibles de conduire à diverses maladies (Eldrige, 2022).

II.1. Rôle des radicaux libres

Les radicaux libres jouent de nombreuses fonctions essentielles dans notre corps en régulant le flux sanguin dans nos artères, en luttant contre les infections et en maintenant notre cerveau alerte et concentré. Semblables aux antioxydants, certains radicaux libres à faibles niveaux agissent comme des molécules de signalisation, responsables de l'activation et de la désactivation des gènes (Khan *et al.*, 2018). Certains radicaux libres, comme l'oxyde nitrique et le superoxyde, sont produits en grande quantité par les cellules immunitaires pour neutraliser les virus et les bactéries. De plus, certains radicaux libres détruisent les cellules cancéreuses, et certains médicaments anticancéreux visent à augmenter la quantité de radicaux libres dans le corps (Khan *et al.*, 2018).

II.2. Les différents types des radicaux libres

Dans les cellules, certains radicaux libres jouent des rôles importants en physiologie et sont appelés radicaux primaires. Il s'agit notamment de l'anion superoxyde (O_2^-), du radical hydroxyle (OH), du monoxyde d'azote (NO), du radical peroxyde (ROO) et du radical alkoxyde (RO). D'autres radicaux libres, considérés comme des radicaux secondaires, tels que l'oxygène singulet (O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxynitrite ($ONOO^-$), se forment lorsque les radicaux primaires réagissent avec les composants biochimiques de la cellule, comme l'ADN, les protéines et les lipides (Favier, 2003).

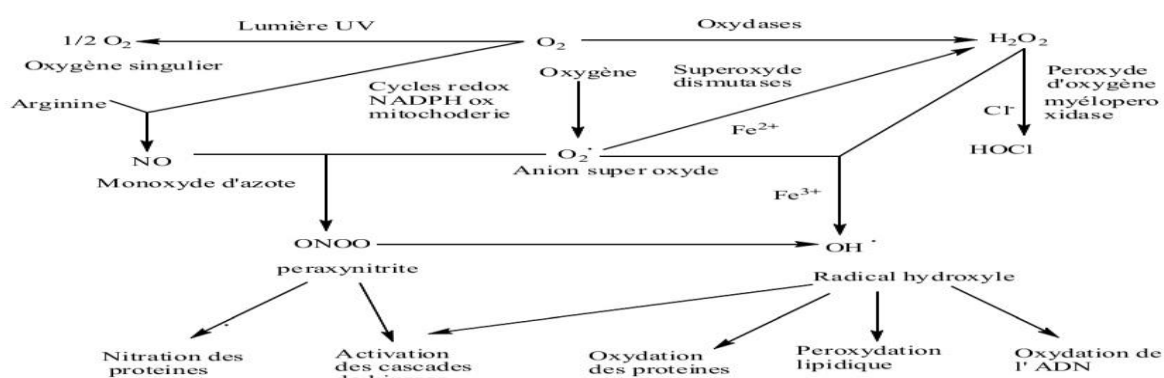
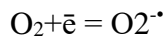


Figure 6 : Origine et types des différents radicaux libres oxygénés et espèces de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

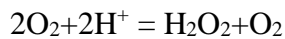
II.2.1. Les radicaux libres oxygénés (ERO)

La formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) implique plusieurs réactions clés qui se produisent dans les cellules (Favier, 2003 ; Lobo *et al.*, 2010).

✓ **Le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)** : Le radical superoxyde est l'une des premières ERO produites. Il est principalement généré dans la chaîne de transport d'électrons mitochondriale, où les électrons peuvent "fuir" et réduire l'oxygène.



✓ **Le peroxyde d'hydrogène** : Le peroxyde d'hydrogène est formé à partir du superoxyde par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD).



✓ **Le radical hydroxyle (OH^{\cdot})** : Le radical hydroxyle est une ERO très réactive. Il peut être généré par la réaction de Fenton, où le peroxyde d'hydrogène réagit avec des ions de métaux de transition, comme le fer (Fe^{2+}).



III.2.2. Les radicaux libres azoté (RNS)

✓ **Oxyde nitrique (NO)** : Le NO est une petite molécule gazeuse qui agit comme un important messager cellulaire. Il est produit par l'enzyme oxyde nitrique synthase (NOS) dans diverses cellules. Il joue un rôle dans la vasodilatation (relaxation des vaisseaux sanguins), la neurotransmission, et la défense immunitaire. Il peut réagir avec l'oxygène et les radicaux superoxydes pour former d'autres RNS.

✓ **Dioxyde d'azote (NO_2)** : Le NO_2 est un radical libre formé par l'oxydation du NO (Wiernsperger, 2003). Il est impliqué dans le stress oxydatif et peut endommager les macromolécules cellulaires. Il est également un composant majeur de la pollution atmosphérique.

✓ **Peroxynitrite ($ONOO^{\cdot-}$)** : Le peroxynitrite est formé par la réaction rapide du NO avec le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$). C'est un agent oxydant et nitrant puissant qui peut endommager l'ADN, les protéines et les lipides (Knight, 2001).

III. Les antioxydants

Un antioxydant est une molécule qui empêche l'oxydation d'autres molécules. En alimentation, un antioxydant est défini comme une substance qui retarde, prévient ou supprime les dommages oxydatifs d'une molécule cible. (Göçer *et al.*, 2013; Çakmakçi *et al.*, 2015).

Les antioxydants comprennent des enzymes, des facteurs de transcription et des composés de bas poids moléculaire qui piègent les radicaux libres. Parmi ces derniers, on trouve le glutathion, les vitamines (A, C, E), les polyphénols, les oligo-éléments comme le sélénium (Se), le zinc (Zn) ou le cuivre (Cu), ainsi que des protéines transportant ou stockant le fer (transferrine, ferritine). Les antioxydants, produits naturellement par le corps ou via l'alimentation, luttent contre le stress oxydatif et les dommages des radicaux libres, liés à des maladies comme le diabète, les maladies cardiaques et le cancer (Halliwell et Gutteridge, 2008).

III.1. Classification des antioxydants

A. Système endogène

Les antioxydants se répartissent en deux catégories : enzymatiques et non enzymatiques. Certains, comme les enzymes, les petites molécules et les cofacteurs enzymatiques, sont produits par l'organisme. D'autres, de nombreux antioxydants non enzymatiques, proviennent de l'alimentation (Bunaciu *et al.*, 2012).

A.1. Les antioxydants enzymatiques

Trois enzymes antioxydantes, le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, sont utilisées pour éliminer les espèces réactives de l'oxygène. Elles se trouvent dans le cytoplasme, le milieu extracellulaire et les mitochondries et jouent un rôle important dans le maintien de la santé (Baba et McGrath, 2008).

- **Superoxydes dismutase (SOD)**

Le superoxyde dismutase est une enzyme qui catalyse la dismutation du superoxyde. Cette réaction produit du peroxyde d'hydrogène, qui contribue à la transmission des lésions causées par les radicaux libres. L'enzyme SOD existe en trois variantes : les enzymes contenant principalement du cuivre-zinc se trouvent dans le cytoplasme, tandis que la SOD au

manganèse se trouve dans les mitochondries. Un troisième type est présent à l'extérieur des cellules (Sathiya *et al.*, 2015).

- **La catalase (CAT)**

La catalase est une enzyme intracellulaire, l'une des principales enzymes antioxydantes de défense, principalement située dans les peroxysomes, mais également présente en petites quantités dans le cytoplasme et les mitochondries. Le foie, les reins et les globules rouges contiennent des niveaux importants de catalase. La CAT catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, une fonction partagée avec la glutathion peroxydase, et la CAT nécessite du fer comme cofacteur pour une efficacité maximale (Newsholme *et al.*, 2007 ; Sharma *et al.*, 2018).

- **La glutathion peroxydase (GPx)**

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme intracellulaire importante qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en alcools peroxydiques lipidiques correspondants, principalement présente dans les mitochondries et parfois dans le cytoplasme. Son activité dépend principalement d'un cofacteur micronutritif appelé sélénium. Pour cette raison, la GPX est souvent appelée sélénocystéine peroxydase. L'enzyme joue un rôle plus important dans l'inhibition du processus de peroxydation lipidique, protégeant ainsi les cellules du stress oxydatif (Ighodaro *et Akinloye*, 2018).

A.2. Les antioxydants non enzymatiques

Ce sont des antioxydants qui préviennent les dommages oxydatifs en piégeant les radicaux libres directement ou indirectement en chélatant les métaux de transition. Ils sont plus efficaces que les antioxydants enzymatiques car leur petite taille leur permet de pénétrer facilement dans les cellules. Les plus actifs sont le glutathion, le NADPH, les dipeptides, l'acide urique, l'acide lipoïque et la bilirubine (Boubekri, 2014).

B. Système exogène : Les antioxydants exogènes sont divisés en deux catégories : les antioxydants synthétiques et les antioxydants naturels.

B.1. les antioxydants synthétiques : Les composés antioxydants synthétiques s'inspirent néanmoins d'agents antioxydants naturels. De puissants agents pharmacologiques de synthèse représentant des analogues de ces composés naturels sont actuellement en cours d'évaluation expérimentale (par exemple: chalcone synthétique et neuroprotection). Même un composé

comme la Nacétylcysteïne, qui est dotée d'une activité antioxydante intrinsèque, participe après hydrolyse à la synthèse d'un agent antioxydant naturel cellulaire aussi important que le glutathion. Certains agents antioxydants synthétiques, bien qu'imitant les molécules ou les défenses naturelles, sont dotés d'un potentiel antioxydant bien plus élevé que les référents naturels, comme le démontre la comparaison de la glutathion peroxydase (Gelé *et al.*, 2006).

B.2. Les antioxydants naturels : Les antioxydants exogènes proviennent de l'alimentation, notamment des vitamines C,E et des polyphénols.

- **La Vitamine C**

La vitamine C, soluble dans l'eau, offre une capacité antioxydante dans les milieux intra et extracellulaires en récupérant les radicaux libres d'oxygène et en régénérant la vitamine E (Birben *et al.*, 2012).

- **La vitamine E**

Nommée (a-tocopherol), Son effet anti-radicalaire est particulièrement efficace sur les acides gras polyinsaturés. Elle empêche l'absorption des peroxydes présents dans les aliments. Il a deux types d'actions:Protéger les membranes en augmentant leur rigidité, agir comme donneur d'hydrogène (Herberg *et al.*, 2006).

- **Glutathione**

Le GSH est très abondant dans tous les compartiments cellulaires et est le principal antioxydant soluble. Le rapport GSH/GSSG est un déterminant majeur du stress oxydatif. Le GSH est un cofacteur de plusieurs enzymes détoxifiantes, comme le GSH-Px et la transférase. Il a un rôle dans la conversion des vitamines C et E à leur forme active (Birben *et al.*, 2012).

- **Caroténoïdes**

Les caroténoïdes, pigments liposolubles allant du jaune à l'orange, abondent dans le règne végétal, certains produisant de la vitamine A et agissant comme antioxydants, notamment l'alpha-carotène qui inhibe la peroxydation lipidique (Herberg *et al.*, 2006).

IV. Evaluation de l'activité antioxydante

Cette étude se concentre sur les méthodes qui évaluent comment une molécule ou un extrait naturel peut neutraliser les radicaux libres en transférant des électrons ou des protons, un processus appelé évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante (Prior *et al.*, 2005). Parmi les méthodes les plus courantes pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro*, on trouve le test DPPH.

IV.1. Test du DPPH

Le test DPPH est une méthode courante pour évaluer l'activité antioxydante d'une substance. Il repose sur la réaction du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) avec les antioxydants. Le DPPH est une molécule stable qui présente une couleur violette en solution. Lorsqu'un antioxydant donne un électron au DPPH, il le réduit, ce qui entraîne un changement de couleur de la solution, du violet au jaune. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de DPPH non réduit (Molyneux, 2004). La diminution de l'absorbance à 517 nm, mesurée par spectrophotométrie, est utilisée pour quantifier l'activité antioxydante de la substance testée. Plus la diminution d'absorbance est importante, plus l'activité antioxydante est élevée (Molyneux, 2004).

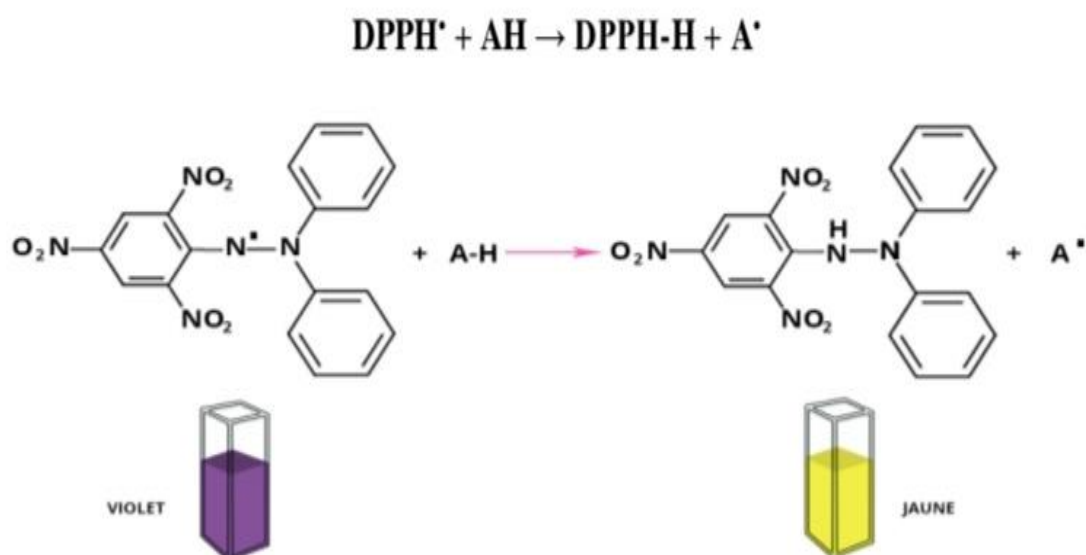


Figure 7: Réaction de réduction d'un radical DPPH en présence d'un antioxydant (Ullah *et al.*, 2017)



Partie 02: Etude expérimentale



Chapitre 1: Matériel et méthodes

Ce travail expérimental a pour objectif une étude comparative de l'analyse qualitative et quantitative, ainsi que l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique à 70 % de la plante *Ajuga iva*, récoltée dans deux régions distinctes : Oum El Bouaghi et Khenchela.

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

La plante *Auja iva*, utilisée dans cette étude, a été récoltée au mois de novembre dans deux régions distinctes : Bir Amar (wilaya d'Oum El Bouaghi) et les montagnes de la wilaya de Khenchela. La partie aérienne de la plante (feuilles, tiges et fleurs) a été soigneusement débarrassée des résidus de sol, puis séchée à l'air libre. Une fois sèche, cette partie a été broyée, conservée dans des bocaux hermétiquement fermés, et stockée dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et de la chaleur, jusqu'à son utilisation.



Photographie 1: *Ajuga. iva* de la région Oum Baouaghi et Khenchela.

I.2. Réactifs chimiques

Dans cette étude nous avons utilisé: Éthanol, méthanol, eau distillée, chloroforme, carbonate de sodume, Folin ciocalteau, DPPH, trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), trichlorure de fer ($FeCl_3$), Acide gallique, NH_4OH , HCl , acétone, acide acétique, liqueur de Fehling(A+B), réactif de Mayer, acide sulfurique (H_2SO_4), anhydride acétique, tournures de mg.

I.3.Appareillage

Parmi l'appareilles utilisé: Etuve, évaporateur rotatif, spectrophotomètre UV, chambre d'observation UV, balance de précision, vortex et bain marie.

II.2. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement de l'extrait éthanolique est calculé en divisant le poids de l'extrait sec par le poids de la plante en poudre utilisée, puis en multipliant le résultat par 100 pour obtenir un pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction(\%)} = \text{Ps} / \text{Pp} \times 100$$

Où : ✓ R(%): rendement d'extraction.

✓ Ps: poids en gramme (g) de l'extrait sec résultant.

✓ Pp: poids en gramme (g) de matériel végétale à traiter.

II.3. Analyse qualitative par le screening phytochimique

Le screening phytochimique est une série de tests chimiques utilisés pour détecter la présence ou l'absence des principales classes de substances chimiques naturelles dans une plante en fonction de leurs précipitations ou de leurs couleurs caractéristiques. Ces substances sont souvent liées aux propriétés pharmacologiques de la plante (Abtil *et al.*, 2021).

➤ Test des composés phénoliques

L'extrait (0,1 g) a été dissout dans 3 ml d'eau distillée et 5 gouttes de FeCl₃ y ont été ajoutées. Le développement de la coloration verdâtre a indiqué la présence des phénols. La présence des composés phénoliques a été marquée par l'apparition de la coloration bleue verdâtre ou vert noirâtre (Rosine *et al.*, 2009).

➤ Recherche des coumarines

L'extrait sec est dissous dans l'eau distillée par chauffage, après refroidissement, la solution obtenue a été répartie dans 2 tubes à essai. Le premier sert de témoin et on ajoute 0.5ml de NH₄OH 10% dans le 2eme tube. L'apparition d'une fluorescence bleue ou verte à la lampe UV 365 nm indique la présence des coumarines (Zellagui, 2012).

➤ Recherche des composés réducteurs

Leur détection consiste à introduire 2ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, puis 2ml de la liqueur de Fehling sont ajoutés. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8 min. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**Bentab et al., 2015**).

➤ Recherche des alcaloïdes

Test de Mayer 1 ml de chaque extrait est testé avec 5 gouttes de réactif de Mayer (Potassium Mercuric Iodide), la formation d'un précipité jaune indique la présence des alcaloïdes (**Tiwari et al., 1990**).

➤ Recherche des tanins

L'ajout de trichlorure de fer ($FeCl_3$)1% permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noir en présence des tanins galliques, et au bleu verdâtre en présence des tanins catéchiques (tanins condensés) (**Dohou et al., 2003**).

➤ Caractérisations des saponines

Deux milligrammes de l'extrait ont été introduit dans un tube à essai contenant 4 ml d'eau distillée puis l'ensemble a été chauffé pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 5 ml de filtrat ont été introduits dans un second tube à essai et agités pendant 1 min. Après 15min de repos, l'épaisseur de la mousse a été mesurée à l'aide d'une règle graduée. Une hauteur de mousse d'au moins un centimètre a indiqué la présence des saponines selon (**Rosine et al., 2009**).

Pas de mousse = test négatif

Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif

Mousse de 1-2 cm = test positif

Mousse plus de 2 cm = test très positif.

➤ Détection des terpénoïdes

Pour 0,5 g de chaque extrait, nous avons rajouté 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré. La présence de la couleur brune rougeâtre à l'interface indique la présence des terpénoïdes (Ayoola *et al.*, 2008).

➤ Détection des stéroïdes

Les stéroïdes sont révélés après addition de 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml d'extrait 0,5 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés au mélange. Après agitation l'apparition à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive (Bruneton, 1999).

➤ Identification des polyuronides (pectines, mucilage et gencive)

2 ml de l'extrait ont été ajouté goutte à goutte dans un tube à essai ou 10 ml d'acétone avaient déjà été placés, un précipité épais s'est formé indiquant la présence de polyuronides (Zellagui *et al.*, 2012).

➤ Test des mucilages

La détection des mucilages est effectuée en introduisant 1ml d'extrait dans un tube à essai, et l'ajout de 5 ml d'éthanol pendant quelques minutes. Il apparaît un précipité qui témoigne leur présence (Awor *et al.*, 2003).

II.4. Analyse quantitative**II.4.1. Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode de Wong (2006). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

II.4.1.1. Le principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif Folin dans une solution alcaline (Vuorela *et al.*, 2005).

La composition du réactif Folin Ciocalteu est un acide jaune composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) réduits lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Lakache *et al.*, 2021). La concentration des composés phénoliques est inversement liée à la coloration bleue produite, avec une absorption maximale à environ 760-765nm (Ojeil *et al.*, 2010).

II.4.1.2. Mode opératoire

100 μ l de chaque extrait sont ajoutés à 500 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué) après 4 min d'incubation 400 μ l de carbonate de sodium 7.5% sont additionnés. Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été lue à 765 nm contre un blanc par un spectrophotomètre (Wong *et al.*, 2006).

II.4.1.3. Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique à différentes concentrations et exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μ g EAG/mg E).

II.4.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ cité par Djeridane (2006), est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

II.4.2.1. Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (Ali-Rachedi, 2018). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres en présence de chlorure d'aluminium, grâce aux groupements hydroxyles libres. Ainsi la couleur

jaune obtenue est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes dans l'extrait (**Boussaa et al., 2016**).

II.4.2.2. Mode opératoire

500 µl d'extrait a été ajouté à un volume égal d'une solution d' AlCl_3 2%, le mélange est soumis à une agitation au vortex. L'absorbance à 430 a été lue nm, après dix minutes d'incubation (**Djeridane et al., 2006**).

II.4.2.3. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été évaluée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg E}$).

II.5. Activité antioxydant

II.5.1. Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

II.5.1.1. principe

Le test de piégeage du radical libre DPPH est une méthode colorimétrique utilisée pour évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon. Le principe est basé sur la capacité des antioxydants à réagir avec le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (**Prior et al., 2005**). Le test DPPH repose sur la capacité des antioxydants à donner un atome d'hydrogène au radical DPPH, le neutralisant et stabilisant ainsi la molécule. Cette réaction provoque un changement de couleur de la solution, qui passe du violet foncé au jaune, et peut être mesurée par spectrophotométrie. La diminution de l'absorbance à 517 nm est directement proportionnelle à la capacité de piégeage des radicaux de l'antioxydant (**Blois, 1958**).

II.5.1.2. Mode opératoire

Brièvement, 4mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 40µl de différentes dilutions l'extrait de la plante ou d'acide ascorbique comme standard sont ajouté à 160 µl de solution méthanolique de DPPH. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm (**Arab et al., 2022**).

II.5.1.3. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en tant que l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante (Wang *et al.*, 2006):

$$I\% = [(Abs\ Control\ négatif - Abs\ Echantillon) / Abs\ Control\ négatif] \times 100$$

Où :

- Abs contrôle négatif: absorbance du blanc contenant tous les réactifs sauf le composé à tester.
- Abs échantillon: absorbance de l'échantillon, qui contient les réactifs et le composé à tester.
- (I%): pourcentage inhibition.



Chapitre II : Résultats et discussion

I. Détermination du rendement d'extraction

Les deux plantes étudiées dans ce travail ont été macérées dans l'éthanol 70% pendant 24h. Le rendement a été calculé en fonction du poids de la matière végétale sèche en poudre, et les résultats sont exprimés en pourcentage (%). Les rendements de leurs extraits bruts sont mentionnés dans le tableau 3 ci-après.

Tableau 3 : La couleur, l'aspect et le rendement des extraits éthanoliques d'*Ajuga iva*.

Matériel Végétal	Extrait	Aspect	Couleur	Rendement (%)
<i>Ajuga iva</i> (Oum Baoughi)	EEO	visqueux et pâteux	Marron foncé	11,88 %
<i>Ajugai va</i> (khenchela)	EEK	visqueux et pâteux	Marron foncé	13,48 %



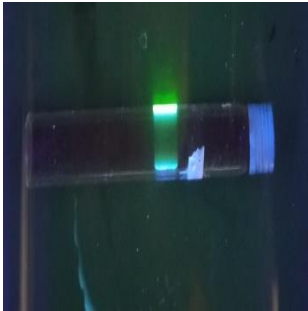
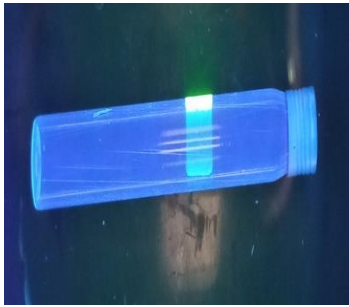
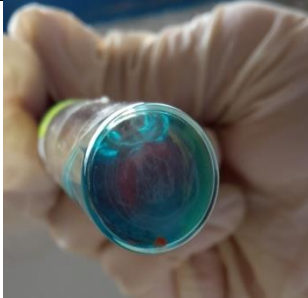
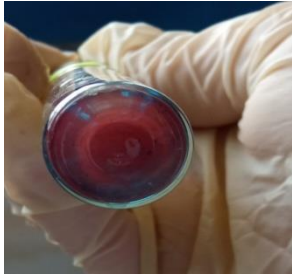


Les résultats obtenus pour l'extrait éthanolique d'*A. iva* indiquent que la plante provenant de la région de Khenchela présente un rendement d'environ 13,48 %. Ce rendement est supérieur à celui de la plante de la région d'Oum Baoughi, qui est de 11,88 %. De plus, Ces valeurs sont également supérieures à celles rapportées par **Khemkham (2022)** pour l'extrait méthanolique, qui a montré un rendement de 7%. En comparaison, les rendements d'extraction pour l'extrait éthanolique d'*A. iva*, mentionnés dans l'étude de **Bendif et al. (2017)**, étaient de 2,6 %, ce qui est inférieur à nos résultats.




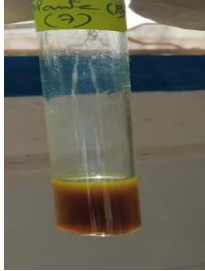




De manière générale, le rendement est relatif, il varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité (**Mohammedi, 2006**).


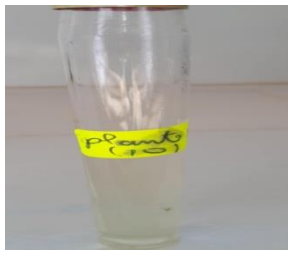


I.2. Screening photochimique des extraits

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits éthanoliques de la partie aérienne de la plante, ce qui nous a permis de mettre en évidence la présence de certains métabolites secondaires. La détection de ces composés chimiques repose sur des réactions de précipitation, des changements de couleur ou un examen sous lumière ultraviolette. Les résultats sont représentés dans le tableau 4 suivant :

Tableau 4 : screening phytochimiques des extraits de l'espèce *Ajuga Iva*

Tests phytochimique	Résultats	EEO	EEK
Test des composés phénolique	coloration bleue verdâtre ou vert noirâtre.	 +	 +++
Recherche des coumarines	fluorescence bleue ou vert à la lampe UV365	 -	 +++
Recherche des composés réducteurs	précipité rouge brique	 +	 +++
Recherche des alcaloïdes	précipité jaune	 -	 -

<p>Recherche des tanins</p>	<p>La couleur verte au bleu noir (tanins galliques), et en bleu verdâtre (tanins catéchique)</p>	 <p>-</p>	 <p>-</p>
<p>Caractérisations des saponines</p>	<p>Hauteur de la mousse</p>	 <p>+++</p>	 <p>-</p>
<p>Détection des Terpenoides</p>	<p>La présence de la couleur brune rougeâtre</p>	 <p>++</p>	 <p>+++</p>
<p>Détection des stéroïdes</p>	<p>anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert</p>	 <p>+++</p>	 <p>+++</p>

Identification des polyuronides	Précipité épais	 ++	 +
Test des mucilages	Précipité	 -	 -

(+++): Présence très forte, (++): présence forte, (+): présence faible, (-): absence

Les tests phytochimiques réalisés sur les deux extraits de la partie aérienne d'*A. iva.*, nous ont permis de mettre en évidence la présence et l'absence de différentes métabolites secondaires. Les résultats obtenus pour la plante d'Oum Baoughi ont révélé la présence de composés réducteurs, de saponines, de terpénoïdes, de stéroïdes ainsi que de polyuronides, tandis que les polyphénols, les coumarines, les alcaloïdes, les tanins et les mucilages sont absents. En revanche, pour la plante de Khenchela, les analyses ont indiqué la présence de polyphénols, de coumarines, de composés réducteurs, de terpénoïdes, de stéroïdes ainsi que de polyuronides, alors que les alcaloïdes, les tanins, les saponines et les mucilages sont absents.

Saidi et al. (2023) ont rapporté la présence de composés réducteurs, d'oses et d'holosides en grandes quantités. De plus, des tanins galliques et catéchiques, des flavones, des leucoanthocyanines, les anthocyanines, les stérols et les triterpènes sont présents dans les feuilles de cette plante. Les alcaloïdes sont présents sous forme de traces, tandis que les mucilages et les saponosides sont totalement absents dans les feuilles de cette plante. Dans une autre étude menée par Senhaji et de ses collaborateurs, ont été également montré que *A. iva* (L.) est riche en tannins catéchiques, saponines, stérols et flavonoïdes (**Senhaji et al., 2020**). La présence de mucilage, polyphénols, coumarines, tanins, flavonoïdes, réduisant composés, saponosides, flavonoïdes, caroténoïdes, iridoïdes dans les différentes parties feuilles, tiges et

racine d'*Ajuga iva*, en outre l'absence d'anthocyanines, d'alcaloïdes, de triterpènes et d'amidon dans toutes les parties de la plante (Ounaissia et Djahoudi, 2020). khemkham (2022), ont constaté l'absence des stérols, des saponosides et des triterpenes les composés réducteurs et les alcaloïdes dans l'extrait méthanolique de la plante *A. iva*, alors que les flavonoïdes et les tannins sont très abondants, sont absents dans l'extrait méthanolique d'*A. iva*.

I.3. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

L'étude quantitative de l'extrait éthanolique a été réalisée par des dosages spectrophotométriques afin de déterminer les teneurs totaux en polyphénols et en flavonoïdes. Pour cela, deux courbes d'étalonnage ont été établies, l'une avec l'acide gallique et l'autre avec la quercétine. Les quantités de polyphénols et de flavonoïdes ont été exprimées en équivalents de ces étalons. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$) et en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$).

Les résultats des teneurs totaux en polyphenols et en flavonoïdes sont mentionnées dans le tableau 5 suivant:

Tableau 5: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes d'extrait d'*A. iva*.

Extrait	Teneur en polyphenols ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$)	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$)
EEO	25,69 \pm 0,59	16,63 \pm 0,08
EEK	20,21 \pm 0,30	13,96 \pm 0,028

* Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures \pm écart type

Les résultats de dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'extrait éthanolique ont indiqué des concentrations relativement faibles, avec des valeurs les plus élevées observées pour l'extrait brut de la région d'Oum El Bouaghi, atteignant respectivement 25,69 \pm 0,329 $\mu\text{g EAG/mg E}$ et 16,36 \pm 0,08 $\mu\text{g EQ/mg E}$. En comparaison, les valeurs pour l'extrait de la région de Khenchela étaient de 20,21 \pm 0,30 $\mu\text{g EAG/mg E}$ et 13,96 \pm 0,028 $\mu\text{g EQ/mg E}$.

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par **Mouheb (2019)**, avec des teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes de $24,14 \pm 0,22 \mu\text{g EAG/mg}$ et de $17,15 \pm 0,22 \mu\text{g EQ/mg}$, respectivement. De même, l'étude de **Medjeldi et al. (2018)** a démontré que la teneur en phénols totaux dans l'extrait méthanolique d'*A. iva* d'origine algérienne est de $28,3 \mu\text{g EAG/mg ES}$ et de $10,5 \mu\text{g EQ/mg E}$. En outre, selon **Makni et al. (2013)**, les valeurs obtenues pour les polyphénols ($25,69 \pm 2,60 \mu\text{g EAG/mg E}$) sont similaires à nos résultats, bien que les teneurs en flavonoïdes soient très faibles ($0,3 \mu\text{g EQ/mg E}$).

Nos résultats concernant les flavonoïdes demeurent supérieurs à ceux obtenus dans l'étude menée par **Bougandoura (2011)** ($0,629 \text{ mg EQ/g E}$). De même, ils surpassent les résultats des recherches de **Beddazekri et Ghemam (2017)** ($7,37 \text{ mg EQ/g E}$) et de **Bouyahya et al. (2016)** ($12 \mu\text{g EQ/mg E}$).

Cependant, nos résultats ne concordent pas avec ceux rapportés précédemment et ils sont très faibles par rapport aux études de **Khemkham (2022)**, qui indiquent des concentrations de polyphénols de $50,6 \pm 0,1 \mu\text{g EAG/mg E}$ et de flavonoïdes de $71,4 \pm 0,2 \mu\text{g EQ/mg E}$. Selon **Saidi et al. (2023)** rapportent des valeurs de $69,850 \pm 2,783 \text{ mg EAG/g E}$ et de $17,127 \pm 0,474 \text{ mg EQ/g E}$. **Saad et al. (2019)** ont trouvé des concentrations de $65,3 \pm 2,11 \mu\text{g EAG/mg E}$ et de $132,6 \pm 0,24 \mu\text{g EQ/mg E}$. Enfin, **Bendif et al. (2017)** ont rapporté des valeurs de $46 \mu\text{g EAG/mg E}$ et de $50 \mu\text{g EAG/mg E}$.

Cette différence peut être attribuée au :

- La teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Falleh et al., 2008**).
- Les teneurs en composés phénoliques varient qualitativement et quantitativement dans la même plante ainsi que d'une plante à une autre, et cela peut être expliqué par l'origine de la plante, et par la méthode d'extraction (**Benarons et al., 2013**).
- La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la même plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation d'extrait. Le type de standard utilisé (quercétine, rutine) peut aussi changer les résultats (**Ghedadba et al., 2015**).

I.4. Activité antioxydante

L'activité antioxydante a été évaluée au moyen du test DPPH. Dans ce test, la capacité d'élimination des radicaux des extraits testés a augmenté de manière dépendante de la concentration. Les résultats obtenus peuvent être présentés de deux manières :

- en pourcentage d'inhibition ;
- grâce à le paramètre IC_{50} , qui représente la concentration de la substance nécessaire pour réduire l'activité de DPPH de 50 %.

Les résultats de l'activité antioxydante et le standard de l'acide ascorbique sont représentés dans la figure 8 suivante :

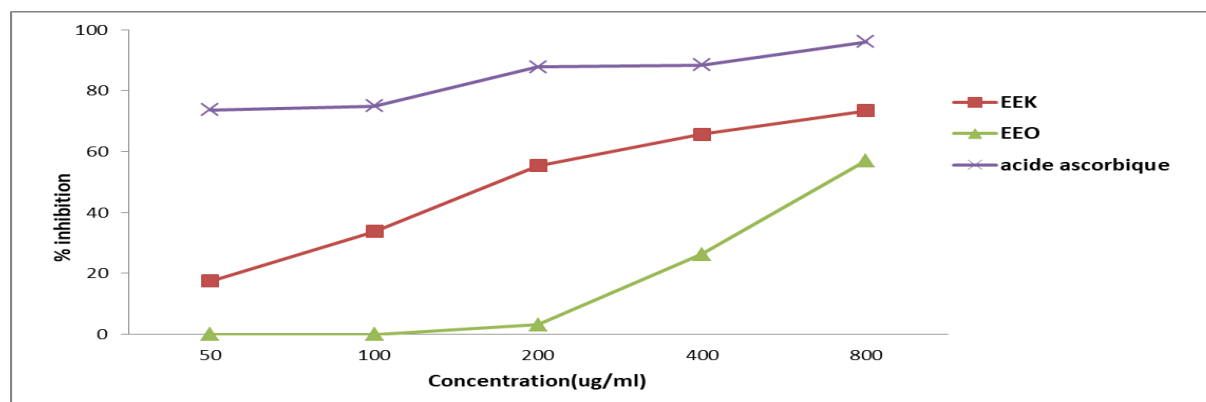


Figure 8 : pourcentage d'inhibition des extraits et de l'acide ascorbique.

Il a été observé que le pourcentage d'inhibition des radicaux libres par les extraits était inférieur à celui du standard pour toutes les concentrations utilisées. À une concentration de 800 $\mu\text{g/ml}$, l'acide ascorbique a montré un pourcentage d'inhibition du DPPH de 96,01 %. En ce qui concerne les deux extraits des wilayas de Khenchela et Oum el Bouaghi, les pourcentages d'inhibition étaient respectivement de 73,36 % et 56,97 %. Ces pourcentages correspondent à une inhibition totale du DPPH, reflétée par la décoloration complète du DPPH du violet au jaune pâle.

La capacité antioxydant des extraits a été déterminée à partir de l' IC_{50} , c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radicale DPPH. Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**Hobi et Eddouks, 2016**). Nous avons déterminés pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical libre DPPH, à partir des équations des régressions linéaires des graphes. Les valeurs sont représentées dans le tableau 5 suivant :

Tableau 6: IC₅₀ de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques d'*A. iva*.

Extrait	EEK	EEO	Acide ascorbique
IC ₅₀ (µg/mL)	3,07±0,014	3,96±0,036	2,64±0,0169

* Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± écart type.

Les résultats présentés dans le tableau indiquent que l'IC₅₀ de l'acide ascorbique, utilisé comme référence, est de 2,64±0,0169µg/ml, ce qui est inférieur à celui des extraits testés. Cela suggère que l'acide ascorbique possède une activité antioxydante relativement plus élevée comparée à l'extrait EEK, dont l'IC₅₀ est de 3,07±0,014µg/ml, et à l'extrait EEO, avec un IC₅₀ de 3,96±0,036µg/ml.

Nos observations indiquent que nos résultats sont considérablement inférieurs à ceux rapportés par **Medjeldi et al. (2018)** pour l'extrait méthanolique d'*A. iva* provenant d'Algérie, avec un IC₅₀ de 0,43 µg/mL. De plus, **Saad et al. (2019)** ont documenté un IC₅₀ de 0,187 ± 0,016 µg/mL pour l'extrait méthanolique. **Movahhedine et al. (2016)** ont noté un IC₅₀ de 0,33 µg/mL pour le même type d'extrait.

Nos résultats indiquent une efficacité supérieure par rapport à ceux de **Hariri et Ouis (2016)**, qui ont rapporté un IC₅₀ de 512 µg/ml pour l'extrait méthanolique d'*A. iva* de Mascara. En revanche, **Khemkham (2022)** a déterminé un IC₅₀ de 173,69 µg/mL pour le même type d'extrait. **Ammar et al. (2022)** ont observé un IC₅₀ de 2535,07 ± 9,26 µg/mL pour l'extrait éthanolique, tandis que l'extrait méthanolique a révélé un pouvoir antioxydant de 411,83 ± 8,60 µg/mL. **Saidi et al. (2023)** ont mesuré un IC₅₀ de 59,92 ± 0,70 µg/mL. De plus, **Khodja et al. (2014)** ont rapporté un IC₅₀ de 1,168 µg/mL pour les extraits méthanoliques d'*A. iva* récoltés à Béjaïa. Selon **El Hilaly et al. (2004)** et **Halimi (2004)**, les composés phénoliques et les flavonoïdes présents dans l'extrait éthanolique d'*Ajuga iva* sont responsables de l'activité antioxydante observée.

L'activité antioxydante d'un extrait est souvent liée à sa teneur en flavonoïdes, des composés qui, grâce à leur structure chimique, agissent comme des donneurs d'hydrogène efficaces pour neutraliser les radicaux DPPH. Des études ont montré une corrélation positive entre la présence de composés antioxydants et l'activité antioxydante dans diverses parties de plantes et leurs extraits. Les flavonoïdes, en particulier, sont connus pour leur capacité à piéger les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène. Le mécanisme d'action dépend de la structure de l'antioxydant et du nombre de groupes hydroxyle (OH) présents (**Guignard, 1994**).



Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales continuent d'être une source précieuse de molécules bioactives, démontrant leur efficacité dans le traitement de nombreuses maladies. Elles restent la source de médicaments la plus utilisée par la majorité de la population mondiale. L'Algérie, pays à la biodiversité riche, pratique encore activement l'usage des pharmacopées traditionnelles.

L'objectif principal de cette étude est de quantifier les polyphénols et les flavonoïdes ainsi que d'évaluer l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de la partie aérienne d'*Ajuga iva*.

Les résultats de l'étude comparative indiquent que le rendement d'extraction est fortement influencé par l'origine géographique. Le rendement d'extraction le plus élevé est estimé à 13,48 %, pour la plante de la région de Khenchela, suivi par celle de la région d'Oum El Bouaghi avec 11,88 %.

L'étude phytochimique a révélé la présence de métabolites secondaires tels que les polyphénols, terpénoïdes, saponosides, flavonoïdes, mucilages, stéroïdes et composés réducteurs dans la partie aérienne d' *A. iva*, ainsi que l'absence d'alcaloïdes et de tanins. Ces métabolites secondaires jouent un rôle important dans la réponse de la plante face au stress environnemental et oxydatif.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été réalisée en utilisant respectivement les réactifs de Folin-Ciocalcu et le trichlorure d'aluminium. Les résultats ont révélé que l'extrait de la plante d'Oum El Bouaghi présentait des concentrations de $25,69 \pm 0,599$ μg EAG/mg en polyphénols et $16,63 \pm 0,08$ μg EQ/mg en flavonoïdes. Pour la plante de Khenchela, les valeurs étaient de $20,21 \pm 0,302$ μg EAG/mg et $13,96 \pm 0,028$ μg EQ/mg, respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de réduction du radical libre DPPH a démontré une inhibition significative par l'extrait éthanolique de la région de Khenchela, avec à IC_{50} de $3,07 \pm 0,014$ $\mu\text{g}/\text{ml}$. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus pour la région d'Oum El Bouaghi, où l' IC_{50} est de $3,96 \pm 0,036$ $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Pour conclure, on peut affirmer que l'espèce *Ajuga iva* présente des propriétés antioxydantes modérées qui pourraient nous permettre de les recommander dans la biotechnologie.

Par ailleurs, les résultats de cette étude demeurent préliminaires et ne représentent qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles à activité biologique. En perspective, Il serait intéressant de compléter cette étude par une autre plus approfondies, à savoir :

- Tester la présence d'autres molécules bioactives avec d'autres méthodes d'extraction ou même dans d'autres parties de la plante utilisée.
- Mener des études *in vivo* et explorer d'autres activités biologiques *in vitro*, telles que l'activité antidiabétique, anti inflammatoire, anticoagulante et anticancéreuse.....



Références bibliographique

Références bibliographiques

A

Amara, N., & Melouk, F.Z. (2016). Activité Antimicrobienne des Extraits des Feuilles de la Vigne Sauvage (*Vitis vinifera sylvestris*). **Algerian journal of Natural Products**, *4*(3), 358-366.

Ammar, H., Touihri, I., Kholif, A.E., M'Rabet, Y., Jaouadi, R., Chahine, M., Marti, M.E.d.H., Vargas-Bello-Pérez, E., & Hosni, K. (2022). *Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Leaves of Ajuga Iva.* **Molecules**, *27*, 7102.

Ayoola G.A., Coker H.A., Adesegun S.A., Adepoju A.A., Obaweya K., Ezennia E.C., (2008). Atangbayilal Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7: 3, 1019-1024

Awor et Samseny R-R.(2003). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au Gabon le *Strychnos Icaja* Baillon (Mbundu), Loganiacée. Thèse, Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie Et d'Odonto - Stomatologie, Mali.

B

Baba Aissa F. (2000). Encyclopedie des plantes utiles, Flore D'Algérie Et Du Maghreb, *substances végétales D'Afrique, D'Orient et D'Occident.* EDAS. Alger, 368.

Baba L., McGrath I.M. (2008). Oxygen free radicals: effects in the newborn period. *Advances in Neonatal Care*, 8: 5,256-264.

Beddou F. (2015). Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius L.* et *Anvillearadiata* Coss, & Dur. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen, Algérie.

Beloued A.,(2014). Plantes médicinales d'Algérie. Editions O.P.U. P. 284.

Bellebcire, L. (2008). **Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales**. *Thème de magister, Biodiversité et production végétale, université mentouri de constantine, 119*

- Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, **181*(4617)*, 1199-1200.
- Bendif, H. (2017).** **Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Limiaceae: Ajuga iva (L)Scherb, Teuricrium polium L.Thymus munbyanus subsp** (Doctoral dissertation, Université de M'sila, Algérie).
- Ben Jannet, H., Harzallah-skhiri, F., Mighri, Z., Simmonds, M. S., & Blaney, W.M. (2000).** Responses of Spodoptera littoralis larvae to Tunisian plant extracts and to neoclerodane diterpenoides isolated from Ajuga pseudo iva leaves. **Fitoterapia**, *71**, 105-112.
- Bennaghmouche, L., Hajjaji, N., Zellou, A., & Cherrah, Y. (2001).** Etude pharmacologique d'Ajuga iva. **Annales pharmaceutiques françaises**, *59*(4)*, 284
- Ben Rhouma-Martin, G. (2013).** Oligomérisation enzymatique de flavonoïdes et évaluation des activités biologiques des oligomères synthétisés (Thèse de doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires).
- BentabetLasgaa N.** Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes Fredoliaaretioides et echiumvulgare de l'ouest algérien. Thèse de doctorat 2015, P 20-21.
- Benslama, A. (2016).** **Substances d'origine végétale**. Département des sciences de la nature et de la vie, Université Mohamed Khider-Biskra.
- Bezzaz, N. (2014).** **Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction des huiles essentielles de Mentha rotundifolia** (Mémoire de magistère chimie organique). Université de M'sila
- Boubekri, C. (2014).** **Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques** (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra, Algérie).
- Bouderbala, S., Prost, J., Lacaille-Dubois, M. A., & Bouchenak, M. (2010).** Iridoid extracts from Ajuga iva increase the antioxidant enzyme activities in red blood cells of rats fed a cholesterol-rich diet. **Nutrition Research**, *30*(5)*, 358-365.

Boudjelal A., Siracusa L., Henchiri C., Sarri M., Abderrahim B., Baali F., Ruberto G. (2015). Antidiabetic effects of aqueous infusions of *Artemisia herba-alba* and *Ajuga iva* in alloxan-induced diabetic rats. *Planta medica*, 81:9, 696-704.

Bougandoura N. (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha* ssp *nepta* (nabta) et *Ajuga iva* L.(chendgoura) de l'ouest d'Algérie, mémoire de master, Substances naturelles, activités biologiques et synthèse, Université Abou bakr belkid-Tlemcen, Algérie, 53.

Bouyahya A., Abrini J., El-Baabou A., Bakri Y. et Dakka N., (2016). Determination of phenol content and antibacterial activity of five medicinal plants ethanolic extracts from North-West of Morocco, *J. Plant Pathol. Microbiol.* 7: 342-45.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosic. Phytochimic, plantes médicinales. Lavoisier édition Tec Doc Paris, 1120.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier édition Tec Doc Paris 124

Bruneton, J. (2015). *Pharmacognosie (5° Ed.) Phytochimie. Plantes médicinales*. Tec and Doc, Lavoisier, Paris. P:1504.

C

Cai Z.Y., Yi G.Q., Li Y.Y., Liang X.L., Gan L. et He G.X.,(2009). Nuclear magnetic resonance characteristics of neo-clerodane diterpene in Genus *Ajuga*. *Cent South Pharm* 2014, 12: 1108-

Çakmakçı, S., Topdaş, E. F., Kahn, P., Han, H., Şekerci, P., Köse, L., & Gülçin, İ. (2015). Antioxidant capacity and functionality of olcaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) flour and crust in a new kind of fruity ice cream. **International Journal of Food Science & Technology*, 50*(2), 472-481.

Chabrier, J. Y. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie* (Tesis de doctorado, Pharmacie, Université Henri Poincaré Lorraine, France).

Chenni, A., Yahia, D. A., Boukortt, F., Prost, J., Lacaille Dubois, M., & Bouchenak, M. (2007). Effect of aqueous extract of *Ajuga iva* supplementation on plasma lipid profile and

tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet. **Journal of Ethnopharmacology*, 109*(2), 207-213.

Coll, Y. A., & Tandro, N. (2008). neo-Clerodane diterpenoids from *Ajuga*: structural elucidation and biological activity. **Phytochem Rev*, 7*, 25-49.

Corsi, G., & Bottega, S. (1999). Glandular hairs of *Salvia officinalis*: new data on morphology. localization and histochemistry in relation to function. **Annals of Botany*, 84*, 657-664.

D

Damania A. B., Valkoun J., Willocox G and Qualset C. O. (eds). *The origine of Agriculture and Crop Domestication, ICARDA, Aleppo, Syria, pp.54-64.*

Dohou, N., Yani, K., Thahrouch, S., Idrissi Hassani, L.-M., Badoc, A., & Gmira, N. (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine ; **Thynelaea lythroides**. **Bull. Soc, Pharm. Bordeaux*, 142*, 61-78.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. **Food Chemistry*, 97*(4), 654-660.

Donatien, K. (2009). **Enquete ethnobotanique de six plantes médicinales Malliennes Extraction Identification d'alcaloïdes-Caractérisation, Quantification de polyphenols: Etude de leur Activité Antioxydant** (Thèse de doctorat, Chimie organique). Université Paul Verlaine de METZ-UPV-M.

Diafat, A. (2018). **Evaluation des effets anti-arthritique et toxique de l'extrait méthanolique de l'Ajuga iva** (Thèse de doctorat). Biochimie Appliquée, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi Bordj Bou Arreridj, Algérie.

E

El Hilaly, J., Lyoussi, B., Wibo, M., & Morel, N. (2004). Vasorlaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta. **Journal of Ethnopharmacology*, 93*, 69-74.

El-Hilaly, J., Tahraoui, A., Israili, Z. H., & Lyoussi, B. (2007). Acute hypoglycemic, hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effects of continuous intravenous infusion of a

lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* L. Schreber whole plant in streptozotocin-induced diabetic rats. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 20*(4), 261-268.*

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. **L'actualité chimique, 108*(10), 863-832.*

Favier, A. (2006). Stress Oxydant et pathologies humaines. **Annals of Pharmacotherapy SAGE Journal, 64*, 390-396.*

Fellah, S., Romdhane, M., & Abderraba. (2008). Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia Officinalis*. L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. **Journal de la Société Algérienne de Chimie, 16*(2), 194-196.*

G

Ghedira, K., Chemli, R., Richard, B., Zeches, M., & Le Men-Olivier, L. (1991). Contribution a l'étude de la pharmacopée traditionnelle de Tunisie étude des parties aériennes d'*Ajuga iva* (L.) schreb. **Plantes médicinales et phytothérapie, 25*(2-3), 100-111.*

Göçer, H., Akıncioğlu, A., Öztaşkın, N., Göksu, S., & Gülçin, İ. (2013). Synthesis, Antioxidant, and Antiacetylcholinesterase Activities of Sulfonamide Derivatives of Dopamine-R elated Compounds. **Archiv der pharmazie*, *346*(11), 783-792.*

Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine*, *27*, 1-93.*

Guignard, J. L., Cosson, L., & Henry, M. (1994). **Abrégé de phyto-chimie**. Masson.

H

Hadichambis, A. CH., Paraskeva-Hadichambi, D., Della, A., Giusti, M.E., De Pascale, C., Lenzarini, C., Censori, E., Skoula, M., Johnson, C., Sarpaki, A., Hmamouchi M., Gonzalez-Tejero, M.R., Sanchez-Rojas, C.P., Ramiro-Gutierrez, J.M., Sarpaki A., Johri, S., El-Demerdash, M., El-zahat, M., & Pieroni, A. (2007). Wid and semi-domesticated food plant consumption in seven circum-Mediterranean areas. **International Journal of Food Science and Nutrition, 1-32**.

Halimi, A.K. (2004). **Les plantes médicinales en Algérie**. *BERTI Alger, 156-157.*

Halimi, A.K. (2014). *Les plantes médicinales en Algérie*. *BERTI Alger*, 6-148-149.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. (2008). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.

Harbone, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Chapman and Hill.

Hariri, A., Ouis, N. (2016). Phytochemical studies and antioxidant activities of *Adiantum Capilus-Veneris*, *Lavandula stoechas* and *Ajuga iva*. **World Journal of Pharmaceutical Research*, 5*(3), 79–103.

Harrar, A. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus*. *Le Diplôme de Magister Biochimie et physiologie expérimentale*, Université Ferhat Abbes-Sétif, 8-31.

Harris, D.R.(1998). The spread of Neolithic agriculture from the Levant to western central Asia .

I

Israili, Z. H., & Lyoussi, B. (2009). Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22*, 425-462.

J

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellog, E. A., & Stevens, P. F. (2002). *Botanique systématique "une perspective phylogénétique". De Boeck Université.

K

Kaddem, S. E. (1999). *Les plantes médicinales en Algérie*. Le monde des pharmaciens.

Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., & He, X. (2014). Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2*, 377-392.

Karabin, M., Hudcova, T., Jelinek, L., & Dostalek, P. (2015). Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. Department of Biotechnology, Faculty of Food and Biochemical Technology

Kansole, M.M.R. (2009). *Etude ethnobotanique, photochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de leucas martinicensis (Jacquin) R. Brown, Hoslundia opposita vahl et Orthosiphon pallidus royle ex benth*. Mémoire pour obtenir un diplôme (D.E.A) en Sciences Biologique Appliquées, Burkina Faso.

Khan,R et al (2020). Bioactive secondary metabolites from Trichoderma spp against phytopathogenic fungi. *Plant Microbe Interactions*.8(6) 817.

Khemkham, A. (2022). *Caractérisation morphologique, phytochimique et biologique des huiles essentielles et des extraits de plantes (Salvia verbenaca, Ajuga iva et Thymus algeriensis) de la région de Djelfa* (Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri).

Khodja, N. K., Khodir, L. B., & Madani, K. (2014). Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial Crops and Products*, 61*, 41–48.

L

Lamnouer, D. (2005). *A guide to medicinal plants in North Africa*. IUCN center for mediterranean cooperation.

Lock O., Cabello I., Doroteo V.H., (2006). Analysis of flavonoids in plants. *Current Medicinal Chemistry*, 20: 6-11

M

Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., & Salunkhe, D.K. (1996). *Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives*. Marcel Dekker, Inc. New York. P.

Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaire d'importance économique*. Edition Presses Polytechniques & Universitaires Romandes.

Makni, M., Haddar, A., Kriaa, W., & Zeghal, N. (2013). Antioxidant, free radical scavenging, and antimicrobial activities of *Ajuga iva* leaf extracts. **International Journal of Food Properties, 16*(4).*

Medjeldi S., Bouslama L., Benabdalla A., Essid R., Haou S. et Elkahoui S., 2018. Biological activities, and phytochemicals of northwest Algeria *Ajuga iva* (L) extracts: Partial identification of the antibacterial fraction, *Microbiol Pathogenesis. 121:173-178.*

Mohamed, H., Karima, L., Zaineb, ., Hanène, B., Khémis, B., Mohsen, S., & Olfa, T. (2020). **Laboratory of Integrated Physiology LR17ES02, Faculty of Science of Bizerte, University of Carthage, 7021, Jarzouna, Tunisia*.*

Mohammedi, Z. (2013). Étude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie (Doctoral dissertation, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen).

Mouheb S., Khali M., Rouibi A. et Saidi F., 2018. Antimicrobial and analgesic activity of aqueous extract of Algerian *Ajugaiwa* (L.) Schreb (LAMIACEAE). *Revue Agrobiologia. 8(1).*

Mouheb, S. Contribution à l'étude d'*Ajuga iva* (L) Schreb: activités biologiques, propriétés pharmacologiques et intérêt thérapeutiques (Doctoral dissertation, Université Blidal-Saad Dahlab).

N

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products*, *75*, 311-335*

Newsholme P., Haber E., Hirabara S., Rebelato E., Procopio J., Morgan D., Oliveira-Emilio H., Carpinelli A., Curi R. (2007) .Diabetes associated cell stress and dysfunction: role of mitochondrial and non-mitochondrial ROS production and activity. *The Journal of physiology. 583: 1,9-24*

P

Prior R.L., Cao G., Martin A., Sofic E., McEwen J., O'Brien C., Lischner N., Perron N.R., Brumaghim J.L. (2009) .A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 53: 2, 75-100.

Q

Qing X., Yan H.M., Ni Z., Vavrickaa C.J., Zhang M., Shi Q., Gu Y. et Kiyota H., (2017). Chemical and pharmacological research on the plants from genus *Ajuga*. *Heterocycl. Commun.* 23(4): 245-268.

Quezel P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. **Centre National de la Recherche Scientifique Paris, 1091-1165.**

R

Rosine, C., & Momo, D. (2009). *Evaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'*acalyphamma hirtum* (melastomatacees)*. Université de Dschang - Master en biochimie clinique et pharmacologie

Roussel, A.M. (2009). Qui manque d'antioxydants, et comment le savoir **Journal of Cahiers de nutrition et de diététique*, 44*, 230-236.

S

Saad, F., Mrabti, H. N., Sayah, K., Bouyahya, A., Salhi, N., Cherrah, Y., & El Abbes, F. (2019). Phenolic content, acute toxicity of *Ajuga iva* extracts and assessment of their antioxidant and carbohydrate digestive enzyme inhibitory effects. **South African Journal of Botany*, 125*, 381–385.

Saidi, S., Remok, F., Handaq, N., Drioiche, A., Gourich, A. A., Meniyi, N. E., Amalich, S., Elouardi, M., Touijer, H., Bouhrim, M., et al. (2023). Phytochemical profile, antioxidant, antimicrobial, and antidiabetic activities of *Ajuga iva* (L.). **Life**, *13*, 1165.

Sharma, G. N., Gupta, G., & Sharma, P. (2018). A comprehensive review of free radicals, antioxidants, and their relationship with human ailments. **Critical Reviews TM in Eukaryotic Gene Expression*, 28*(2).

Sofowora, A. (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. Karthala, Economie et Développement.

Song, Y. C., Li, H., Ye, Y. H., Shan, C. Y., Yang, Y. M., & Tan, R. X. (2004). Endophytic naphthopyronemetabolites are co-inhibitors of xanthine oxidase, SW1116 cell and some microbial growths. **FEMS Microbiology Letters*, 241*, 67-72.

Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. **Comptes Rendus A Biologies*, 327*, 649-662.

Sivanesan, I., Saini, R. K., Noorzai, R., Zamany, A. J., & Kim, D. H. (2016). In vitro propagation, carotenoid, fatty acid and tocopherol content of *Ajuga multiflora Bunge*. **Biotechnology**, *6*, 91.

T

Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z. H., & Lyoussi, B. (2007). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). **Journal of Ethnopharmacology*, 110*, 105-117.

Taleb-Senouci D., Ghomari H., Krouf D., Bouderbala S., Prost J., Lacaille-Dubois M. A., Bouchenak M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 16: 6-7, 623-631.

Tamokou J.D., Tmbaven A. et Kuete V.,(2017). Antimicrobial activities of african medicinal spices and vegetables, chapter in book: medicinal spices and vegetables from Africa.

Tepe B.,(2008). Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts.

Tiwari and Kakkar H.P.A. (1990). Phytochemical examination of *Spilanthus acemella* (Murr.). *Journal of the Indian Chemical Society*, 67 (9):784-785.

U

Ullah, F., Naveed, I., Muhammad, A., Abdul, S., Ihsan, U., Sajjad, A., & Muhammad, I. (2017). DPPH, ABTS free radical scavenging, antibacterial and phytochemical evaluation of

crude methanolic extract and subsequent fractions of *Chenopodium botrys* aerial parts. **Pak J Pharm Sci**, *30*(3), 761-766.

W

Wong, C.C., Li, H.B., Cheng, K., & Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. **Food Chem*, 97*, 705-711.

Walton N., Brown D. (1999). Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed: world scientific. 43:1-14.

Z

Zeggwagh A.A., Lahlou Y., Bousliman Y. (2013) .Enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fès, Maroc. *The Pan African Medical Journal*, 14.

Zerroug, M. M., Zouaghi, M., Boumerfeg, S., Baghiani, A., Nichlin, J., & Arrar, L. (2011). Antibacterial activity of extract of *Ajuga iva* and *Teucrium polium*. **Advances in Environmental Biology*, 52*(2), 491-95.

Zellagui, A., Said, N. L., Gherraf, N., & Rhouati, S. (2012). Phytochemical screening of five Algerian plants and the assessment of the antibacterial activity of two *Euphorbia guyoniana* extracts. **Der Pharmacia Lettre*, 4*(5), 1438-1444.