

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 :

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES **DE MASTER ACADEMIQUE**

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

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité : **Biochimie Appliquée**

Présenté par :

M^{elle}. ZERARI Cheyma

M^{elle}. BOUHDIDA Ikram

Thème

**Caractérisation phytochimique et évaluation de
l'activité antioxydante des extraits aqueux obtenus
par trois méthodes d'extractions de la plante
médicinale *Ajuga iva***

Mémoire soutenu publiquement le 17/06/2025 Devant le jury composé de :

Présidente : Dr. Aiche Mohamed Amine (MCB) Université Abbes Laghrou Khenchela
Promotrice : Dr. Arab Yasmine (MCA) Université Abbes Laghrou Khenchela
Examinatrice : Dr. Messai Alima (MCA) Université Abbes Laghrou Khenchela

Année Universitaire : 2024/2025

Remerciements

Louange à Dieu qui nous a permis d'achever ce travail et nous a guidés tout au long de ce parcours.

*Nous exprimons notre profonde gratitude à Madame **Arab Yassmine**, pour avoir dirigé ce travail de recherche et nous avoir fait bénéficier de son expérience et de ses précieux conseils. Tout au long de ce mémoire, ses conseils pertinents avec écoute, amabilité et patience ont permis à notre travail d'aboutir et de voir le jour.*

*Nous tenons également à remercier les membres du jury, en particulier Madame **Messai Alima**, présidente du jury, ainsi que Monsieur **Aiche Mohamed Amine**, pour l'examen attentif de ce travail et pour leurs remarques pertinentes.*

Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble des enseignantes et enseignants du département de biologie, pour la qualité de leur enseignement et leur encadrement tout au long de notre formation.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui nous ont soutenues, de près ou de loin, dans cette aventure.

Merci à toutes et à tous.

Dédicace

Avec l'aide de **BON DIEU**, j'ai pu réaliser ce modeste travail, fruit de plusieurs années d'efforts, de persévérance et de passion, que je dédie :

À mes très chers parents qui m'ont bien appris l'alphabet de la vie et qui ont été à mes côtés tout au long de mon parcours académique. Votre amour, votre soutien et votre encouragement ont été les éléments essentiels de ma réussite.

Ma mère et Mon père, je vous remercie pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour moi. Ils resteront à jamais gravés dans ma mémoire.

À mes frères, *Imad* et *Yaàkoub*, pour leur présence discrète mais précieuse.

À ma sœur, *Manel*, pour son affection, ses encouragements et sa douceur.

À ma tante *Laila*, ma seconde mère, pour sa tendresse, sa bienveillance et son appui constant.

À ma chère collègue *Ikram*, pour sa collaboration, sa patience et son engagement.

À mes amies chères *Rayane*, *Manar*, *Aya*, *Wassila*, *Yassmine*, *Cheyma*, *Selma*, *Hadil* et *Zineb*, pour les rires partagés, les moments de réconfort et leur amitié sincère.

À toutes les personnes qui ont été, de près ou de loin, une source de force, d'inspiration et d'amour.

Je leur dis « **Merci** » ♥.

Cheyma

Dédicace

Je dédie ce travail :

À mes chers parents, qui ont toujours été à mes côtés et m'ont toujours aidé à devenir ce que je suis, tout au long de ces années d'études.

Je vous remercie sincèrement pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour moi.

À mes frères et à ma sœur, merci pour votre soutien et votre présence réconfortante.

À mes amis qui ont partagé avec moi les moments de fatigue et de joie, et tout particulièrement à ma compagne de route dans ce travail, *Cheyima*.

À mes enseignants, qui n'ont jamais hésité à partager leur savoir, leurs conseils et leurs orientations.

À toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ma réussite, je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde gratitude.

Ikram

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des abréviations	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	III
Introduction.....	1

Partie 01 : Revue bibliographique

Chapitre I: *Ajuga iva*

I. Le genre <i>Ajuga</i>	3
II. L'espèce <i>Ajuga iva</i>	3
II.1. Nomenclature	3
II.2. Classification	3
II.3. Description botanique	4
II.4. Répartition géographique	4
II.5. Composition chimique	5
II.6. Usage thérapeutique.....	6

Chapitre II : Les métabolites secondaires

I. Les métabolites secondaires	7
II. Classification des métabolites secondaires	7
II.1. Les composés phénoliques	7

II.1.1. Les acides phénoliques	8
II.1.2. Les flavonoïdes	8
II.1.3. Les Tanins	8
II.1.4. Les Coumarines	8
II.1.5. Les lignines	9
II.1.6. Les stilbènes	9
II.2. Les alcaloïdes	9
II.3. Les Terpènes	10

Chapitre III : Le stress oxydatif

I. Le stress oxydant	11
II. Les radicaux libres	11
II.1. Définition.....	11
II.2. Source des radicaux libres	12
II.3. Les conséquences du stress oxydant.....	12
II.3.1. L'oxydation de l'ADN.....	13
II.3.2. L'oxydation des protéines	14
II.3.3. La peroxydation lipidique	14
II.4. Le pouvoir antioxydant.....	15
II.4.1. Antioxydants	15
II.4.2. Classification des antioxydants	15
II.4.2.1. Antioxydant enzymatique	15
II.4.2.2. Antioxydants non enzymatiques.....	16
A. Le système antioxydant non enzymatique d'origine endogène	17

B. Le système antioxydant non enzymatique d'origine exogène	17
---	----

Partie 02 : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel et Méthodes	19
I.1. Réactifs chimiques utiliser	19
I.2. Appareillage	19
II. Etude phytochimique.....	19
II.1. Le matériel végétal.....	19
II.2. L'extraction	20
II.2.1. La décoction	20
II.2.2. L'infusion	20
II.2.1. La macération	20
II.3. Analyse qualitative.....	21
II.3.1. Screening phytochimique	21
II.3.1.1. Test des composés phénoliques.....	21
II.3.1.2. Recherche des coumarines	21
II.3.1.3. Recherche des composés réducteurs.....	21
II.3.1.4. Recherche des alcaloïdes	22
II.3.1.5. Recherche des tanins	22
II.3.1.6. Caractérisations des saponines.....	22
II.3.1.7. Détection des Terpénoïdes	22
II.3.1.8. Détection des stéroïdes	22
II.3.1.9. Identification des polyuronides (pectines, mucilage et gencive).....	22

II.3.1.10. Test des mucilages.....	23
II.4. Analyse quantitative.....	23
II.4.1. Dosage des polyphénols totaux	23
II.4.1.1. Le principe	23
II.4.1.2. Mode opératoire.....	23
II.4.1.3. Expression des résultats	23
II.4.2. Dosage des flavonoïdes	24
II.4.2.1. Principe	24
II.4.2.2. Mode opératoire.....	24
II.4.2.3. Expression des résultats	24
II.5. Activité antioxydante par le test de piégeage du radical libre DPPH.....	24
II.5.1. Principe	24
II.5.2. Mode opératoire.....	24
II.5.3. Expression des résultats	25
II.6. Analyse statistique.....	25

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Détermination de rendement de l'extraction.....	26
II. Screening phytochimique des extraits.....	27
III. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoides.....	32
IV. Activité antioxydant.....	33
IV.1. Détermination d'IC50.....	34
Conclusion.....	36
Références bibliographiques.....	38

Résumé

Ajuga iva, une plante de la famille des Lamiacées, est reconnue depuis l'Antiquité pour ses puissantes propriétés thérapeutiques et est largement employée en médecine traditionnelle. Cette étude se concentre sur la comparaison du contenu phénolique et l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits obtenus à partir de trois méthodes d'extraction distinctes : la macération, l'infusion et la décoction. Parmi ces procédés, la macération a démontré le rendement d'extraction le plus élevé, atteignant 7,6 %. Le criblage phytochimique a révélé la présence de divers métabolites secondaires tels que les terpénoïdes, les composés réducteurs, les mucilages et les stéroïdes. L'analyse quantitative des polyphénols totaux des extraits par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 a montré que les meilleures teneurs ont été enregistrées pour l'extrait décocté, avec des valeurs de $35,54 \pm 0,42 \mu\text{g EAG/mg E}$ et $12,54 \pm 0,72 \mu\text{g EQ/mg E}$, respectivement. Les extraits aqueux présentent de faibles propriétés de piégeage du radical libre DPPH, avec un IC_{50} supérieur à $800 \mu\text{g/ml}$. L'activité limitée des extraits aqueux de la plante étudiée souligne l'intérêt d'explorer d'autres méthodes d'extraction et activités biologiques par des approches complémentaires.

Mots clés : *Ajuga iva*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH.

Abstract

Ajuga iva, a member of the Lamiaceae family, has been recognized since ancient times for its powerful therapeutic properties and is widely used in traditional medicine. This study focuses on comparing the phenolic content and assessing the antioxidant power of extracts obtained from three distinct extraction methods: maceration, infusion and decoction. Of these, maceration demonstrated the highest extraction yield, reaching 7%. Phytochemical screening revealed the presence of various secondary metabolites such as terpenoids, reducing compounds, mucilages and steroids. Quantitative analysis of the extracts' total polyphenols by the Folin-Ciocalteu method and flavonoids by the AlCl₃ method showed that the best contents were recorded for the decocted extract, with values of 35.54±0.42 µg EAG/mg E and 12.54±0.72 µg EQ/mg E, respectively. Aqueous extracts show low DPPH free radical scavenging properties, with an IC₅₀ above 800 µg/ml. The limited activity of aqueous extracts of the plant studied underlines the interest in exploring other extraction methods and biological activities through complementary approaches.

Keywords : *Ajuga iva*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, DPPH.

المخلص

نبات العجوة، وهو نبات من الفصيلة اللامية، يُعرف منذ القدم بخصائصه العلاجية القوية ويستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي. وتتركز هذه الدراسة على مقارنة المحتوى الفينولي وتقييم القوة المضادة للأكسدة للمستخلصات التي تم الحصول عليها باستخدام ثلاث طرق استخلاص مختلفة: النقع، والنقع الساخن والنقع بالغلجان. من بين هذه العمليات، أظهر النقع أعلى عائد

استخلاص، حيث بلغ 7,6%. كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود العديد من المستقبلات الثانوية مثل التربينويدات والمركبات المخزلة والصغيات والمنشطات. وأظهر التحليل الكمي للبوليفينول الكلي في المستخلصات بطريقة فولين-سيوكالتوالفلافونويدات بطريقة كلوريد الكربون 3 أن أعلى المستويات سجلت في المستخلص المغلي بقيمة 0.42 ± 35.54 ميكروغرام مكافئ حمض الجاليك/ملجم مستخلص و 0.72 ± 12.54 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/ملجم مستخلص على التوالي.

أظهرت المستخلصات المائية خصائص ضعيفة في مسح الجذور الحرة DPPH، مع وجود تركيز IC_{50} أكبر من 800 ميكروغرام/مل النشاط المحدود للمستخلصات المائية للنبات المدروس يسلط الضوء على الاهتمام باستكشاف طرق استخلاص أخرى وأنشطة بيولوجية باستخدام طرق تكميلية.

الكلمات المفتاحية: العجوة، بوليفينولات، فلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH.

I-Liste des abréviations

- **A.iva :** *Ajuga iva*
- **EOR :** Espèce oxygénée réactive
- **ROS :** Réactive Oxygen species
- **NADPH:** Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydrogen
- **OH :** radicaux hydroxyles
- **O₂⁻ :** Anion superoxyde
- **NO :** Oxyde nitrique
- **SOD :** Les superoxydes dismutases
- **H₂O₂ :** Peroxyde d'hydrogène
- **CAT :** Les catalases
- **CoQ10 :** Coenzyme
- **GPx :** Les glutathion peroxydases
- **GSH :** Glutathione
- **ROO :** Peroxyles
- **A⁻ :** Le radical ascorbyle
- **Na₂CO₃ :** carbonate de sodium
- **DPPH :** 2,2- Diphenyle-1-picrylhydrazil
- **AlCl₃ :** chlorure d'aluminium
- **FeCl₃ :** Trichlorure de fer
- **NH₄OH :** Hydroxyde d'ammonium
- **H₂SO₄ :** Acide sulfurique
- **H₃PW₁₂O₄₀ :** Acide phosphotungstique
- **H₃PMo₁₂O₄₀ :** Acide phosphomolybdique
- **PPT :** Teneur en polyphénols totaux
- **EAG :** Équivalent d'acide gallique
- **EQ :** Équivalent de quercétine
- **IC₅₀ :** Concentration Inhibitrice à 50%.

II-Liste des figures

Figure 1. <i>Ajuga iva</i>	4
Figure 2. Balance entre les espèces réactives oxygénées (ROS) et les antioxydants	11
Figure 3. Diverses cibles des espèces réactives de l'oxygène	13
Figure 4. Photographie de la plante <i>Ajuga iva</i>	19
Figure 5. Pourcentage d'inhibition des extraits et de l'acide ascorbique	33

III- Liste des tableaux

Tableau 1. Classification d' <i>Ajuga iva</i>	3
Tableau 2. Les compositions chimiques d' <i>A. iva</i>	5
Tableau 3. Les différentes classes terpénoïdes.....	10
Tableau 4. Sources de stress oxydant endogène et exogène	12
Tableau 5. Représente la couleur et l'aspect et le rendement des extraits aqueux d' <i>A. iva</i>	26
Tableau 6. Screening phytochimiques des extraits aqueux de l'espèce <i>Ajuga iva</i>	27
Tableau 7. Teneurs en polyphénols et flavonoïdes des extraits aqueux d' <i>Ajuga iva</i>	32
Tableau 8. Les calculs des IC ₅₀ des extraits et d'acide ascorbique	34



Introduction

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales et aromatiques jouent un rôle essentiel dans l'alimentation humaine et sont très prisées par les populations du monde entier. Avant l'avènement des médicaments industriels, les plantes constituaient une source primordiale de remèdes naturels pour traiter diverses maladies humaines, et elles continuent de l'être encore aujourd'hui (**Rayate et al., 2023**).

Les plantes synthétisent une variété de métabolites secondaires, notamment des composés phénoliques, des terpénoïdes et des alcaloïdes, qui jouent un rôle crucial dans leurs défenses contre les stress environnementaux. Ces composés présentent une activité antioxydante puissante, leur permettant de neutraliser les radicaux libres et de protéger les cellules contre les dommages oxydatifs. De nombreuses études ont démontré que les flavonoïdes et les phénols, en particulier, sont efficaces pour prévenir les maladies liées au stress oxydatif (**Elshafie et al., 2023**).

L'Algérie, grâce à sa position biogéographique unique et à ses diverses zones bioclimatiques, abrite une grande diversité végétale, comprenant plus de 3000 espèces et 1000 genres, dont de nombreuses plantes aromatiques et médicinales spontanées et cultivées (**Bouabdelli et al., 2012**). Parmi ces ressources naturelles, les Lamiacées, riches en composés bioactifs, sont largement utilisées dans la vie quotidienne (**Mouheb et al., 2018**). Cette famille est l'une des principales sources mondiales de légumes et de plantes médicinales, avec environ 6970 espèces réparties en 240 genres (**Meyer et al., 2004**). Cette famille se distingue par ses caractères particuliers, ce qui l'a rendue l'une des premières à être identifiée par les botanistes (**Pistrick, 2002**). Parmi les genres importants de cette famille, on trouve *Ajuga*, qui comprend 50 espèces réparties dans les zones tempérées et chaudes de l'Ancien Monde. Plusieurs espèces d'*Ajuga* sont utilisées dans la médecine traditionnelle africaine et asiatique. En Algérie, l'*Ajugaiva* L. est utilisé pour traiter le diabète (**Bondi et al., 2000**) et les troubles gastro-intestinaux, grâce à ses propriétés hypoglycémiques (**El Hilaly et Lyoussi, 2002**), anti-inflammatoires, antifongiques, antimicrobiennes, antifièvre et anthelminthiques, antioxydantes (**Makni et al., 2013**).

Dans ce contexte, cette recherche constitue une étude comparative de trois méthodes d'extraction, à savoir la macération, l'infusion et la décoction de l'espèce *Ajuga iva* L. L'analyse se concentre spécifiquement sur la quantification des polyphénols et des flavonoïdes, ainsi que sur l'évaluation de l'effet antioxydant des extraits obtenus.

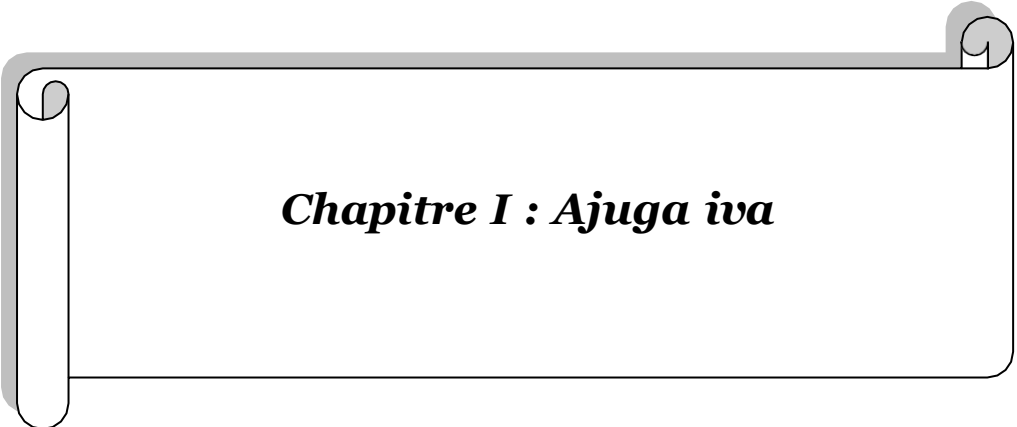
Pour ce faire, nous avons structuré notre travail de la manière suivante :

Introduction

- La première partie, de nature bibliographique, est composée de trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude de la plante *Ajuga iva*, le deuxième chapitre aborde les métabolites secondaires, et le troisième chapitre traite du stress oxydatif.
- La deuxième partie est pratique. Dans le premier chapitre, nous nous concentrons sur le matériel et les méthodes employées dans notre recherche, notamment les méthodes d'extraction, le criblage photochimique, le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, ainsi que l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits à l'aide du test 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 I: Synthèse bibliographique



Chapitre I : Ajuga iva

I. Le genre *Ajuga*

Le genre *Ajuga*, appartenant à la famille des Lamiaceae, comprend au moins 301 espèces, ainsi qu'un grand nombre de variétés (Israili et Lyoussi, 2009). Ce genre est très recherché pour ses propriétés médicinales, ornementales et pharmacologiques (Park et al., 2017), ce qui lui confère une grande importance sur les plans médicinal et économique (Coll et al., 2008). Le genre *Ajuga*, qui fait partie des 266 genres de la famille des Lamiaceae, comprend au moins 301 espèces avec de nombreuses variantes (Israili et Lyoussi, 2009).

II. L'espèce *Ajuga iva*

Elle est petite plante aromatique appartenant à la famille des Lamiaceae (Quézelet Santa, 1963). Cette espèce est reconnue comme l'une des plantes médicinales les plus utilisées au sein de cette famille (Lahrizi et al., 2024).

II.1. Nomenclature

Synonymes : *Teucrium iva* L.

Nom vernaculaire: Chendgoura

II.2. Classification

La classification d'*Ajuga iva* est montrée dans le tableau 1 suivant (Quezel et Santa, 1962).

Tableau 1. Classification d'*Ajuga iva*

Taxonomie	Description
Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Ajuga</i>
Espèce	<i>A. iva</i> L Schreb

I.3. Description botanique

Ajuga iva est une plante vivace de petite taille, mesurant entre 5 et 10 cm de hauteur. Elle est généralement blanchâtre et poilue, avec un goût amer et une odeur musquée caractéristique. Ses tiges vertes sont étalées, souvent ligneuses à leur base, avec des branches couchées redressées. Les feuilles, de couleur verte, sont linéaires, mesurant entre 14 et 25 mm de long, très denses et recouvertes de poils. Elles sont de forme allongée, entières ou dentées vers le sommet, et dépourvues de pétioles. Les fleurs, de couleur pourpre, apparaissent entre mai et octobre. La plante se reproduit par des bourgeons basaux issus des tiges ligneuses. Dans certains cas, même lorsque la corolle et les étamines n'est pas pleinement développée, la fleur peut produire des fruits viables grâce à une pollinisation croisée. La période principale de floraison se situe entre mai et juin (**Boufridi, 2011**).



Figure 1. *Ajuga iva* (**Lahrizi et al., 2024**)

I.4. Répartition géographique

Ajuga iva est largement répartie dans les régions arides d'Europe, d'Asie, d'Afrique et d'Australie (**Israili et Lyoussi, 2009**). En Algérie, cette espèce est courante dans la région du Tell, mais devient rare dans les autres zones du pays (**Quézel et Santa, 1962**). Elle est aussi bien représentée dans toute la région méditerranéenne, notamment en Afrique du Nord et en Afrique de l'Est (**El Hilaly, 2007**). Elle est fréquemment observée sur les vieux murs, les coteaux pierreux et en bordure des champs (**Aït Youssef, 2006**), ainsi que dans les clairières, pâturages, terrains incultes et zones rocheuses siliceuses des plaines et montagnes (**Bennaghmouch et al., 2002**).

I.5. Composition chimique

La phytochimie de la plante *A. iva* a révélé la présence de divers composés bioactifs, y compris des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des quinones, terpènes, saponines et composés réducteurs (Bouyahya *et al.*, 2020). De plus, certains auteurs ont noté la présence d'anthocyanines, d'acides phénoliques et autres molécules (Tableau 2).

Tableau 2. Les compositions chimiques d'*A. iva*.

Principe actif	Composition chimique	Références
Les acides phénoliques	acide férulique (19,06 %), acide coumarique (9,63 %), acide quinique (2,01 %), acide trans- <i>p</i> -coumarique (1,87 %), acide ascorbique (1,37 %), acide mucique (1,3 %), acide cinnamique (1,06 %), glucoside d'acide vanillique (0,31 %), acide gallique (0,73 %), myricétine (0,79 %), et acide galacturonique (0,43 %)	(Saidi <i>et al.</i> , 2023).
Les flavonoïdes	quercétine (10,19 %), pégénine-7-(2- <i>O</i> -apiosylglucoside) (6,8 %), lutéoline (4,53 %), kaempféride (4,25 %), épigallocatechine gallate (3,94 %), vanilline (3,17 %), catéchine (2,43 %), catéchine-7- <i>O</i> -glucoside (2,04 %), harpagide (1,39 %), rhamnétine (1,3 %)	(Saidi <i>et al.</i> , 2023).
	apigénine et apigénine-7- <i>O</i> -néohespéridoside, quercétine, lutéoline, naringénine, chrysoériol, 5,5'-dihydroxy 4',7-diméthoxy flavone, et 5,7-dihydroxy 4',5'-diméthoxy flavone	(Bennaghmouch <i>et al.</i> , 2002)
Les stéroïdes	ecdysone et cyasterone	Bousetlaet <i>al.</i> (2011), 42
Les terpènes	ivan I, ivain II, ivain III, etivain IV	(Camps <i>et al.</i> , 1982)
	methyl chavicol, carvacrol, spathulenol, <i>n</i> -octadecane, et phytol	(El-Hawary <i>et al.</i> , 2013)

I.6. Usage thérapeutique

Les espèces du genre *Ajuga* sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle à travers le monde pour traiter diverses affections telles que les rhumatismes, la goutte, l'asthme, la malaria, les ulcères et la diarrhée (**Ben Jannet et al., 2000**). De plus, elle est utilisée pour traiter la fièvre, la diarrhée, les flatulences, les céphalées et les douleurs dentaires. En application locale, elle est employée comme remède contre les rhumatismes, en tant qu'antiseptique et pour favoriser la cicatrisation des plaies. Par ailleurs, elle est reconnue pour ses propriétés dépuratives, antiarthritiques, leishmanicides, anthelminthiques, diurétiques (**El Hilaly et Lyoussi, 2002**), antiseptiques (**Madani et al., 2014**), antimitotiques, vasorelaxantes, cicatrisantes (**Chabane et al., 2013**), antipyrétiques, et vulnéraires (**Venskutonis et al., 2017**).

Ajuga iva a fait l'objet de nombreuses études pharmacologiques, mettant en évidence plusieurs propriétés biologiques majeures, notamment son effet hypoglycémiant et son action vasorelaxante. D'autres recherches ont également démontré son effet cardiotonique, ainsi que ses propriétés apéritives et toniques. Des études scientifiques ont confirmé ses effets antiulcéreux, hypoglycémians et anti-inflammatoires (**El-Hilaly et al., 2007**) ; (**Taleb-Senouci et al., 2009**).

Sur le plan biologique, cette plante présente une large gamme d'activités : hypoglycémique, hypolipidémique, antifongique, antimicrobienne, antihelminthique et anti-inflammatoire. Elle a également démontré une capacité à réduire les taux plasmatiques de cholestérol et de triglycérides (**El-Hilaly et al., 2006**).



***Chapitre II : Les métabolites
secondaires***

I. Les métabolites secondaires

Les plantes produisent une grande diversité de composés organiques, classés en deux grandes catégories : les métabolites primaires et les métabolites secondaires. Les métabolites primaires sont indispensables aux fonctions vitales telles que la photosynthèse, la respiration, la croissance et le développement. Ils incluent notamment les lipides, les acides aminés et les acides organiques (**Jaganathet Clifford, 2006**).

Contrairement aux métabolites primaires, les métabolites secondaires ne sont pas essentiels à la survie immédiate de la cellule ou de l'organisme. Cependant, ils jouent un rôle clé dans la capacité d'adaptation des plantes à leur écosystème, en facilitant les interactions avec leur environnement. Leur production est souvent spécifique à certains organes, tissus ou types cellulaires, et ces composés se caractérisent généralement par une faible masse moléculaire (**Pagare et al., 2015**).

Le terme métabolite secondaire trouve son origine dans une conception ancienne liée à leur caractère non essentiel. Toutefois, dans le contexte scientifique actuel, un métabolite secondaire est défini comme un composé dont la biosynthèse est restreinte à certains groupes de plantes, ce qui met en évidence sa distribution limitée et son rôle spécialisé dans ces organismes (**Pichersky et Gang, 2000**).

II. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés chimiques complexes et variés, dont plusieurs milliers de structures ont été identifiées. Leur classification repose généralement sur leur structure chimique. Ces métabolites peuvent être regroupés en trois grandes classes chimiques : les terpènes, les composés phénoliques, et les composés azotés (alcaloïdes) (**Pagare et al., 2015**).

II.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols sont des composés naturels synthétisés par les plantes, caractérisés par une structure phénolique et une forte capacité antioxydante. On les retrouve principalement dans les fruits, les légumes, le thé vert et les céréales complètes (**Singla et al., 2019**). Ils englobent une large gamme de molécules classées en différentes familles chimiques, partageant toutes une même caractéristique : la présence d'au moins un cycle

Chapitre III Les métabolites secondaires

aromatique à six carbones, substitué par un ou plusieurs groupes hydroxyles (-OH) (**Tapiero et al., 2002**).

II.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés phytochimiques caractérisés par la présence d'au moins un groupe carboxyle et un groupe hydroxyle lié à un noyau aromatique (**Chanforan, 2010**). Ils jouent un rôle essentiel dans le bon fonctionnement des plantes, notamment en contribuant à leur défense contre les agents pathogènes et les herbivores, en favorisant leur croissance, en influençant leur couleur ainsi que leurs propriétés organoleptiques, et en les protégeant contre le stress oxydatif (**Challacombe et al., 2012**).

II.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques constitués de 15 atomes de carbone, formés de deux noyaux aromatiques reliés par un pont de trois carbones. Répandus dans tout le règne végétal. Ils représentent la classe la plus abondante des phénols. Ils sont particulièrement concentrés dans l'épiderme des feuilles et la peau des fruits, où ils jouent divers rôles essentiels en tant que métabolites secondaires (**Crozier et Clifford, 2006**).

II.1.3. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles dont le poids moléculaire varie entre 500 et 3000 Da. Ils présentent les réactions typiques des phénols. Ces substances sont largement répandues dans le règne végétal, présentes dans toutes les parties des plantes. Bien que leur structure chimique soit très variée, elle repose toujours sur une base polyphénolique. On distingue deux grandes classes de tanins selon leur biosynthèse : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Paolini et al., 2003**). Les tanins hydrolysables sont des esters de sucres, généralement de glucose, liés à un nombre variable d'acides phénoliques. Les tanins condensés, également appelés tanins catéchiques ou proanthocyanidols, sont des polymères de flavanols (**Bruneton, 1997**).

II.1.4. Les coumarines

Les coumarines sont des composés phénoliques simples, largement distribués dans les plantes vasculaires. Elles jouent un rôle important dans divers mécanismes de défense végétale contre les insectes herbivores et les champignons. Leur biosynthèse dérive de la voie

Chapitre III Les métabolites secondaires

de l'acide shikimique, une voie métabolique présente chez les plantes, les champignons et les bactéries, mais absente chez les animaux (**Brooker et al., 2008**).

II.1.5. Les lignines

La lignine est un polymère tridimensionnel hautement ramifié, constitué d'unités phénylpropanoïdes issues de trois alcools : le coniféryle, le coumaryle et le synapyle. Ces derniers, sous l'action de la peroxydase végétale, sont oxydés en radicaux libres qui réagissent de manière simultanée et aléatoire pour former le réseau lignifié (**Pagare et al., 2015**).

II.1.6. Les stilbènes

Les stilbènes sont des phytoalexines, des composés produits par les plantes en réponse à des infections fongiques, bactériennes ou virales. Le resvératrol en est le représentant le plus connu. Il existe sous deux formes isomères, cis et trans, cette dernière étant la plus abondante. Il est principalement retrouvé sous forme de trans-resvératrol-3-*O*-glucoside, appelé aussi piceid ou polydatine. Les sources alimentaires majeures de stilbènes sont le raisin, le vin, le soja et les produits dérivés de l'arachide (**Burns et al., 2002**).

II.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent une classe essentielle de composés azotés que l'on retrouve dans de nombreuses familles végétales. Ils se distinguent généralement par leur caractère basique et leur activité optique. Définis traditionnellement comme des substances d'origine végétale, ces composés possèdent une activité pharmacologique marquée et sont dérivés d'acides aminés, contenant un ou plusieurs atomes d'azote dans un cycle hétérocyclique (**Benras, 2024**). De nombreux alcaloïdes sont biosynthétisés à partir d'acides aminés aromatiques comme la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane (**Erol, 2023**). Actuellement, la classification des alcaloïdes s'organise en trois groupes principaux (**Guignard, 2000**).

- **Les alcaloïdes vrais** : l'azote inclus dans un hétérocycle, ce groupe représente la majorité des alcaloïdes.

- **Les proto-alcaloïdes** : ils ne possèdent pas un azote intra-cyclique, ils ont une structure proche des amines

- **Les pseudo-alcaloïdes** : ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

Chapitre III Les métabolites secondaires

II.3. Les Terpènes

Les terpènes constituent une famille majeure de composés naturels formés à partir d'unités d'isoprène (**Breitmaier, 2006**). Ils représentent l'un des groupes de substances les plus vastes et renouvelables produits par la nature. Ils sont généralement extraits ou distillés à partir de plantes, donnant naissance à des huiles essentielles largement utilisées en parfumerie pour leurs arômes et saveurs caractéristiques (**Mahamat, 2025**). La classification des terpènes dépend du nombre d'unités d'isoprène présentes dans leur structure, ce qui permet de distinguer plusieurs types (**Gonzalez-Burgos et Gomez-Serranillos, 2012**).

Tableau 3 : les différentes classes terpénoïdes (**Jahanger, 2021**).

Classe	Formule chimique	Exemple de molécule
Hemiterpènes	C_5H_8	Isoprène
Monoterpènes	$C_{10}H_{16}$	Géranol
Sesquiterpènes	$C_{15}H_{24}$	Carotol
Diterpènes	$C_{20}H_{32}$	Sclaréol, Squalène
Triterpènes	$C_{30}H_{48}$	Lanostérol
Tétraterpènes	$C_{40}H_{66}$	Caroténoïdes
Polyterpènes	$(C_5H_8)_n$	Caoutchouc



Chapitre III : Le stress oxydant

I. Le stress oxydant

Le stress oxydant est un état pathologique caractérisé par un déséquilibre entre la production d'espèces oxygénées réactives (EOR) et la capacité de défense des antioxydants. Ce déséquilibre peut provoquer des lésions cellulaires importantes, notamment la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et des mutations génétiques. Les conséquences peuvent être graves, notamment un dysfonctionnement des organes. De nombreux facteurs, tels que la malnutrition, les maladies inflammatoires, le tabagisme, le stress chronique, l'hypoxie ou l'hyperoxie, peuvent contribuer à la perturbation de l'équilibre redox, favorisant ainsi l'apparition de ce phénomène (Halliwell et Gutteridge, 1989).

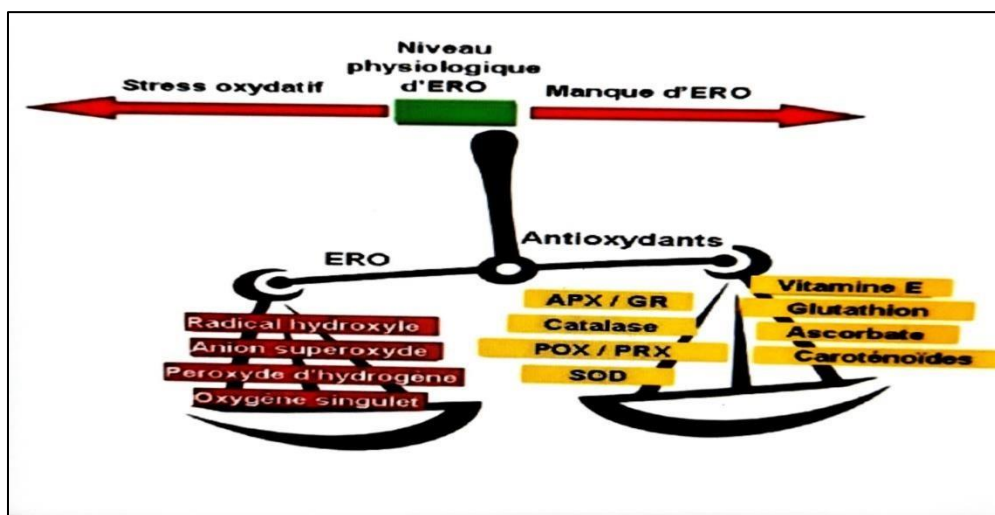


Figure 2 : balance entre les espèces réactives oxygénées (ROS) et les antioxydants (Pourrut, 2008).

II. Les radicaux libres

II.1. Définition

Un radical libre est un atome ou une molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés, généralement à la suite de la perte d'un ou plusieurs électrons de la couche externe. Cette perte entraîne la formation d'une liaison incomplète, incitant le radical à capter des électrons dans son environnement proche pour rétablir sa stabilité (Halliwell et Gutteridge, 1999). Les radicaux libres réagissent avec les cellules et tissus voisins, provoquant des dommages oxydatifs qui s'étendent progressivement, affectant les acides nucléiques, les lipides, les protéines et les glucides. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) comprennent à la fois des radicaux libres comme l'anion superoxyde (O_2^-) et le radical hydroxyle (OH) et des

molécules non radicalaires mais très réactives, telles que l’oxygène singulet (O₂singulet). La majorité des radicaux libres est issue de la chaîne respiratoire, de l’activité du NADPH et de la xanthine oxydase, tandis que les espèces réactives de l’oxyde nitrique (NO) sont principalement produites par la NO-synthase (**Berger, 2006**).

II.2. Sources des radicaux libres

La production naturelle d’énergie dans les cellules génère des radicaux libres, mais l’être humain est également exposé à de nombreuses sources externes qui en augmentent la quantité. Leurs sources peuvent être exogènes ou endogène (Tableau 3). Les radicaux libres sont majoritairement produits au niveau des chaînes respiratoires mitochondriales dans les cellules des organismes aérobies (**Tessier et Marconnet, 1995**).

Tableau 4 : Sources de stress oxydant endogène et exogène (**Hanleng et al., 2007**).

Mode de vie	Environnement	Mécanismes biochimiques
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tabagisme ➤ Faible consommation en fruits et légumes alcool ➤ Médicaments ➤ Pilule contraceptive ➤ Exposition au soleil ➤ Exercice intense ou mal géré 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pollution ➤ Ozone ➤ Amiante ➤ Radiations ➤ Contacts avec des substances cancérogènes 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Xanthine-oxydase (ischémie-reperfusion) ➤ Inflammation ➤ Altération de la fonction endothéliale ➤ Surcharge en fer ➤ Oxydation de l’hémoglobine ➤ Altérations des prostaglandines ➤ Biosynthèse des prostaglandines ➤ Intervention chirurgicales

II.3. Les conséquences du stress oxydant

Une production excessive de radicaux libres entraîne des dommages directs aux molécules biologiques, notamment par l’oxydation de l’ADN, des protéines, des lipides et des glucides. À cela s’ajoutent des lésions secondaires, dues à la toxicité et au potentiel mutagène des métabolites générés, en particulier lors de l’oxydation des lipides. L’organisme peut également réagir à ces composés anormaux en produisant des anticorps. Toutefois, ces

derniers peuvent parfois être des auto-anticorps, provoquant ainsi une troisième vague d'agression chimique (Favier, 2003).

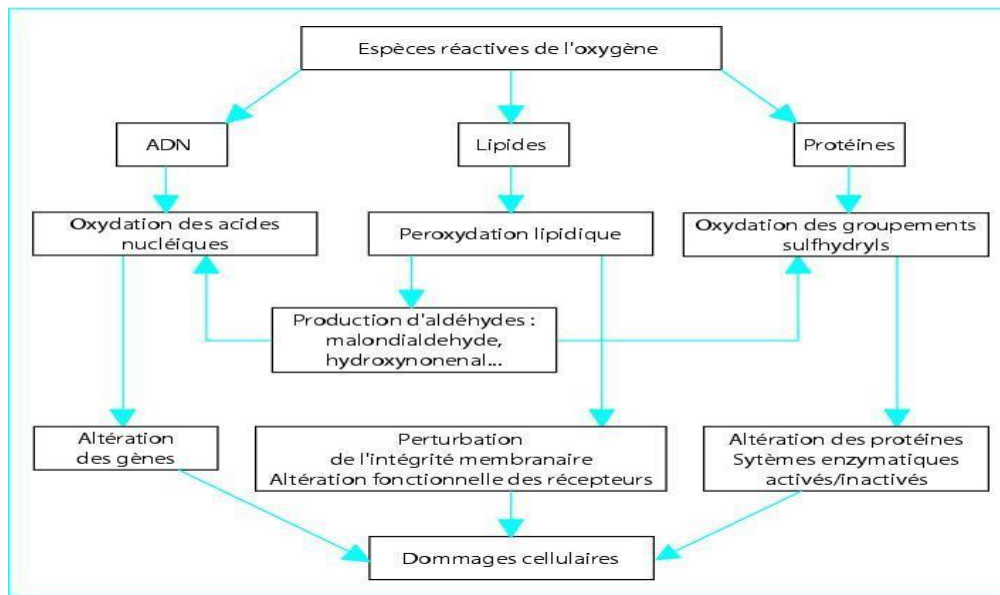


Figure 3. Diverses cibles des espèces réactives de l'oxygène (Monteil., 2004).

II.3.1. L'oxydation de l'ADN

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, constitue une cible privilégiée des espèces oxygénées réactives (EOR). Les radicaux tels que O_2 et OH peuvent provoquer des altérations de l'ADN en interagissant avec les désoxyriboses ainsi qu'avec les bases puriques et pyrimidiques. Si ces altérations ne sont pas réparées, elles peuvent entraîner à long terme des anomalies génétiques telles que des cassures chromosomiques, des mutations, des délétions ou des amplifications, perturbant ainsi le métabolisme des protéines (Hartmann et Niess, 2000).

II.3.2. L'oxydation des protéines

Les EOR exercent également leur toxicité sur les protéines. Elles réagissent avec différents acides aminés des chaînes protéiques, altérant leur structure et leur fonction. Les acides aminés aromatiques, comme le tryptophane, la tyrosine ou l'histidine, sont particulièrement sensibles, notamment au radical OH, qui modifie la conformation des protéines. Les acides aminés contenant du soufre, comme la cystéine et la méthionine, peuvent former des ponts disulfures sous l'effet de l'oxydation, entraînant l'agrégation de plusieurs protéines. Les EOR peuvent aussi rompre des liaisons peptidiques, générant des fragments protéiques. Elles s'attaquent également aux protéines du tissu conjonctif, comme le collagène. Ces modifications conduisent à une altération de la structure spatiale des protéines et donc à une perte de leur fonction, affectant notamment leur capacité à se lier à un récepteur ou à un ligand, perturbant ainsi la signalisation cellulaire (**Dean et al., 1997**).

II.3.3. La peroxydation lipidique

Constitue un processus clé dans les dommages oxydatifs touchant les membranes cellulaires. Les lipides, et plus particulièrement leurs acides gras polyinsaturés, sont les cibles privilégiées des attaques des radicaux libres, notamment le radical hydroxyle. Ce radical est capable d'arracher un atome d'hydrogène sur un carbone situé entre deux doubles liaisons, entraînant ainsi la formation d'un radical de type diène conjugué. Cette réaction en chaîne est à l'origine de la peroxydation lipidique (**Favier, 2003**). Ce processus induit une série de réactions oxydatives qui perturbent la fluidité des membranes cellulaires, élément essentiel au maintien de l'homéostasie et au bon fonctionnement métabolique de la cellule. Une diminution de cette fluidité a été observée dans certaines pathologies métaboliques, telles que le diabète (**Hong et al., 2004**). Par ailleurs, la peroxydation lipidique engendre des perturbations dans les communications intercellulaires, affectant la fonction de certains récepteurs ainsi que les voies de transduction du signal. Les réactions radicalaires conduisent également à la formation de dépôts de lipides oxydés dans les tissus vieillissants ou les vaisseaux sanguins, et peuvent produire des dérivés cancérigènes. Enfin, ces dégradations oxydatives des lipides peuvent aboutir à l'émission de composés volatils tels que le pentane dans l'air expiré (**Favier, 2003**).

II.4. Le pouvoir antioxydant

Pour contrer les effets nocifs des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène (ERO), les cellules ont développé des mécanismes de défense antioxydants. Les substances responsables de ces mécanismes sont appelées antioxydants (**Byung, 1994**).

II.4.1. Antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui neutralisent les radicaux libres et préviennent les dommages cellulaires. Ils agissent en bloquant les réactions oxydatives en chaîne et en désactivant les oxydants (**Azzi et al., 2004**). Les vitamines essentielles sont parmi les antioxydants les plus importants et ont un apport nutritionnel recommandé établi. On trouve des antioxydants naturellement dans de nombreux organismes, notamment les plantes, les micro-organismes, les champignons et les tissus animaux. Les flavonoïdes et autres composés végétaux constituent un groupe important d'antioxydants naturels qui contribuent à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs (**Amina et Hadjer, 2015**).

II.4.2. Classification des antioxydants

Les antioxydants se divisent en deux catégories principales:

- Les antioxydants enzymatiques : produits par l'organisme.
- Les antioxydants non enzymatiques : qui peuvent être :
 - Produits de manière endogène (molécules de faible poids moléculaire, cofacteurs enzymatiques).
 - Obtenus à partir de sources alimentaires, classés en plusieurs catégories, notamment les polyphénols, vitamines, caroténoïdes, composés organosulfurés et minéraux (**Liu, 2004**).

II.4.2.1. Antioxydant enzymatique

Les recherches récentes soulignent les rôles multiples et essentiels des antioxydants enzymatiques, tant dans la protection contre les dommages oxydatifs que dans la régulation de divers processus cellulaires (**Berg et al., 2015**).

A. Les superoxydes dismutases (SOD)

Les SOD sont des enzymes qui régulent les niveaux intracellulaires d'anion superoxyde (O_2^-) en le convertissant en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Il existe plusieurs

Formes de SOD, classées selon le métal présent dans leur site actif ou leur localisation cellulaire. Chez l'homme, il existe trois types de SOD :

- Deux SOD dimériques Cu/Zn-SOD, utilisant le cuivre pour la réaction de dismutation et le zinc pour maintenir la structure de l'enzyme.
- Une SOD tétramérique Mn-SOD mitochondriale, contrôlant les niveaux d'O₂· générés dans les mitochondries.
- Un déficit en MnIII-SOD peut entraîner une augmentation de la production d'O₂·, inhibant les complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale (**Hermes, 2004**).

B. Les catalases

Les catalases (CAT) sont des enzymes qui régulent les niveaux de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) dans les peroxysomes, où H₂O₂ est produit par diverses enzymes. Les CAT possèdent un groupe hème qui catalyse la conversion de H₂O₂ en eau et oxygène. Elles sont activées préférentiellement par des niveaux élevés de H₂O₂ intracellulaire, tandis que les niveaux plus faibles sont traités par les glutathion peroxydases (GPX) (**Pamplona et Costantini, 2011**).

C. Les glutathion peroxydases (GPx)

Les glutathion peroxydases (GPx) sont des enzymes antioxydantes qui jouent un rôle essentiel dans la protection des cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. Elles réduisent les peroxydes lipidiques en utilisant le glutathion réduit comme substrat. L'activité de la GPx dépend fortement du sélénium, et un déficit en ce minéral entraîne une baisse significative de son activité, ce qui en fait un bon indicateur de carence en sélénium. Cependant, lorsque l'apport en sélénium est suffisant, l'activité de la GPx atteint un plateau, ce qui signifie qu'elle ne peut pas servir de marqueur pour détecter une intoxication au sélénium. La synthèse de la GPx étant rénale et hépatique, des problèmes rénaux ou hépatiques peuvent affecter ses niveaux dans l'organisme (**Haleng et al., 2007**).

II.4.2.2. Antioxydant non enzymatique

Les cellules tirent avantage d'une large gamme de molécules antioxydantes non enzymatiques, issues de sources endogènes et exogènes, caractérisées par une grande diversité structurale et une capacité d'interaction à différents niveaux (**Sen et al., 2010**).

A. Le système antioxydant non enzymatique d'origine endogène

- **Le coenzyme Q10**

Le coenzyme Q10 est un antioxydant clé qui joue un rôle essentiel dans la production d'énergie cellulaire et la protection des lipides. Sa synthèse est parallèle à celle du cholestérol et peut être affectée par les statines, qui réduisent les niveaux de coenzyme Q10 en inhibant une enzyme clé de sa synthèse (**Langsjoen et Langsjoen., 2003**).

- **Le glutathion**

Le glutathion est un tripeptide, la fonction thiol confère au glutathion des propriétés antioxydantes. C'est-à-dire des agents réducteurs 5 donneurs d'électrons ou d'atomes d'hydrogène, agissant contre de nombreuses espèces oxydantes, notamment le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyles (**Albert et al., 2003**). Les autres propriétés antioxydantes du GSH sont nombreuses. Cofacteur du GPx, chélateur des métaux de transition, régénérant final des vitamines E et C à partir de leurs formes radicales) (**Haleng et al., 2007**).

- **L'acide urique**

Les composés azotés non-protéiques, tels que l'acide urique, et les caroténoïdes possèdent des propriétés antioxydantes. L'acide urique, produit naturellement par l'organisme, neutralise les espèces réactives de l'oxygène, notamment l'oxygène singulet et les radicaux peroxydes et hydroxyles, et protège les globules rouges contre la peroxydation lipidique (**Pisoschi et Pop, 2015**).

B. Le système antioxydant non enzymatique d'origine exogène

- **La vitamine C**

La vitamine C, également appelée acide ascorbique, est un antioxydant majeur hydrosoluble, qui présente à la fois des propriétés antioxydantes et pro-oxydantes selon les contextes. Elle est naturellement présente dans plusieurs fruits, notamment le jus de citron. Son activité antioxydante, au sein des milieux aqueux de la cellule, est comparable à celle de l' α -tocophérol dans les milieux lipidiques. Elle est capable de neutraliser divers radicaux libres tels que l'anion superoxyde (O_2^-), les radicaux hydroxyles (OH) et peroxydes (ROO). Un rôle particulièrement important de la vitamine C est sa capacité à régénérer la vitamine E

oxydée (radical tocophéryl), en rétablissant son pouvoir antioxydant. Au cours de ce processus, la vitamine C est elle-même oxydée en radical ascorbyle (A⁻) (**Adjélé et Salamantiàn, 2003**).

- **Les oligoéléments**

Les oligoéléments, principalement des métaux ou des métalloïdes, jouent un rôle crucial dans les réactions métaboliques en facilitant le transfert d'électrons pour neutraliser les composés oxydants et inhiber les effets prooxydants. Une fois absorbés par l'organisme, ils sont souvent intégrés dans des systèmes enzymatiques. Ces éléments se lient généralement à des protéines pour former des métalloprotéines, adoptant une structure quaternaire spécifique qui leur permet de fonctionner efficacement (**Zoroddu et al., 2019**).

- **Les polyphénols**

Les polyphénols sont des antioxydants puissants qui neutralisent les radicaux libres en leur donnant un électron, prévenant ainsi les dommages cellulaires et tissulaires causés par le stress oxydant. Les anthocyanes, une sous-classe de flavonoïdes appartenant à la famille des polyphénols, sont des pigments naturels hydrosolubles présents dans certains fruits et plantes. Ces composés possèdent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, neuroprotectrices et cardioprotectrices. **Zafra-Stone et al., (2007)**. La consommation d'anthocyanes peut aider à moduler les effets du stress oxydant, prévenir l'obésité et la dégénérescence neuronale (**Prior et Wu, 2006**).



Partie II: Etude expérimentale



Chapitre I : Matériel et méthodes

Ce travail expérimental, ayant objet de l'étude phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits aqueux d'une plante médicinale *Ajuga iva* .Ce travail est réalisée au laboratoire de biologie, Université Abbas Lagrou-Khenchela.

I. Matériel et Méthodes

I.1. Réactifs chimiques l'utiliser

Dans cette étude nous avons utilisé : éthanol, méthanol, carbonate de sodium (Na_2CO_3) FolinCiocalteu, 2,2'- diphenylel-picrylhydrazyl (DPPH), trichlorure d'aluminium (AlCl_3), acide ascorbique, Fehling, acide acétique, acétone, réactif de Mayer, acide chlorhydrique, Trichlorure de fer (FeCl_3), NH_4OH , Chloroforme, Acide sulfurique (H_2SO_4), .

I.2. Appareillage

Parmi les appareils utiliser : Etuve, spectrophotomètre UV, chambre d'observation UV, balance de précision, vortex et bain marie.

II. Étude phytochimique

II.1. Le matériel végétal

La plante *Ajuga iva* (partie aérienne) a été récoltée de la région Bir Ammar de la wilaya d'Oum El Bouaghi en moins de février 2025. La plante a été séchée, broyées puis conservées à l'abri de la lumière et l'humidité.



Figure 4 : photographie de la plante *Ajuga iva*.

II.2. L'extraction

Les extraits dérivés des poudres ont été préparés en utilisant les méthodes traditionnelles de préparation d'extraits en milieu villageois, à savoir l'infusion, la décoction et la macération. Ces procédés ont permis d'obtenir des extraits aqueux.

II.2.1. La décoction

25g de poudre de la plante a été introduite dans un ballon contenant 250 ml d'eau distillée. L'ensemble a été maintenu en ébullition pendant 30 minutes. Après refroidissement et filtration, le filtrat est mis dans l'étuve à 40°C pour l'évaporation jusqu'à ce qu'il sèche pendant 24 heures. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé (**Benzeggouta., 2015**).

II.2.2. L'infusion

Une prise d'essai de 25g de poudre de plante a été introduite dans un ballon contenant 250 ml d'eau distillée bouillante. L'ensemble a été maintenu pendant 30 minutes jusqu'au refroidissement. Après filtration .Le filtrat est mis dans l'étuve à 40°C pour l'évaporation jusqu'à ce qu'il sèche pendant 24 heures. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé (**Lehout et al., 2015**).

II.2.3. La macération

25 g de poudre de chaque plante a été introduite dans un ballon contenant 250 mL d'eau distillée. L'ensemble a été maintenu sous agitation magnétique pendant 24 heures à la température ambiante. Après filtration, filtrat est mis dans l'étuve à 40°C pour l'évaporation jusqu'à ce qu'il sèche pendant 24 heures. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé (**Pacôme Serge et al., 2018**).

➤ **Calcul des rendements**

Le rendement des extraits de la plante est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \text{Po/P} * 100$$

Où :

Po : Masse en gramme (g) de l'extrait sec résultant.

P: Masse en gramme (g) de matériel végétal à traiter.

II.3. Analyse qualitative

II.3.1. Screening phytochimique

L'analyse phytochimique préliminaire a été réalisée à l'aide de tests de coloration spécifiques pour identifier les principaux groupes chimiques présents, en utilisant divers réactifs (**Boukada, 2023**).

II.3.1.1. 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 (**Rosine et Momo, 2009**).

II.3.1.2. Recherche des coumarines

L'extrait sec est dissous dans l'eau distillée par chauffage, après refroidissement, la solution obtenue est 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 vert à la lampe UV 365 nm indique la présence des coumarines (**Zellagui, 2012**).

II.3.1.3. 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**).

II.3.1.4. 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 Kakkar, 1990**).

II.3.1.5. 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**).

II.3.1.6. 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 (**Rosine et Momo, 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

II.3.1.7. Détection des Terpénoïdes

Pour 0,5 g de chaque extrait ; nous avons rajouté 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. La présence de la couleur brune rougeâtre à l'interface indique la présence des terpénoïdes (**Ayoola et al., 2008**).

II.3.1.8. 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**).

II.3.1.9. 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**).

II.3.1.10. 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 effectué avec le réactif colorimétrique de Folin Ciocalteu selon la méthode décrite par **Wong et al. (2006)**.

II.4.1.1. Principe

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 µl de chaque extrait sont ajoutés à 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu, après 4 min d'incubation 400 µl 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 gamme d'étalonnage de l'acide gallique à différentes concentrations et exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg E).

II.4.2. Dosage des flavonoïdes

II.4.2.1. Principe

La quantification des flavonoïdes dans l'extrait a été réalisée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium. Ce dernier forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des flavonoïdes (**Dewanto et al., 2002**).

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 antioxydante par le test de piégeage du radical libre DPPH

II.5.1. Principe

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable, caractérisé par la présence d'un électron non apparié situé sur l'atome d'azote du pont hydrazyle. En solution, il se distingue par une couleur violette intense. Cette coloration est proportionnelle à la concentration en radicaux libres et permet d'évaluer la capacité antioxydante d'un échantillon. En présence d'antioxydants, le DPPH subit une réduction, entraînant une décoloration progressive de la solution. Cette réaction repose sur le transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène vers le radical DPPH, le convertissant en une forme hydrazine jaune pâle. La diminution de l'intensité de la couleur violette est quantifiée par spectrophotométrie à 517 nm (**Sirivibulkovit et al., 2018**).

II.5.2. 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.5.3. 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**)

$$I\% = [(A0 - A1) / A0] \times 100$$

- A0 : Abs contrôle négatif : absorbance du blanc contenant tous les réactifs sauf le composé à tester.
- A1 : Abs échantillon : absorbance de l'échantillon, qui contient les réactifs et le composé à tester.
- (I%) : pourcentage d'inhibition.

II.6. Analyse statistique

La représentation graphique des données a été réalisée grâce à Microsoft office Excel 2007. La valeur moyenne est accompagnée de l'écart-type (Moyenne \pm SD).



Chapitre II : Résultats et discussion

I. Rendements des extraits bruts

Les trois extraits obtenus par macération, décoction et infusion à partir la plante *Ajuga iva* possèdent des caractéristiques différentes. Les résultats obtenus montrent que les trois extraits sont récupérés sous forme de poudre cristallisée avec des rendements variables, qui sont présentés dans le tableau 5 suivant :

Tableau 5 : Représente la couleur et l'aspect et le rendement des extraits aqueux d'*A. iva*

La plante	L'extrait	La couleur	L'aspect	Le rendement (%)
<i>Ajuga Iva</i>	Macéré (EM)	Marron foncé	Poudre cristallisée	7,6%
	Infusé (EI)	Jaune foncé	Poudre cristallisée	5%
	Décocté (ED)	Marron clair	Poudre cristallisée	2,34%

D'après les résultats obtenus, la méthode d'extraction par macération présente le rendement le plus élevé avec un taux moyen de 7,6 %, suivie de l'infusion à 5 %, et enfin de la décoction à 2,34 %. Cette différence entre la macération et les deux autres méthodes d'extraction pourrait être due au temps d'extraction, qui est long dans le cas de la macération (24 heures) par rapport aux autres méthodes. En examinant nos résultats par rapport à ceux documentés dans la littérature, il apparaît que notre rendement en extrait aqueux est inférieur à ceux obtenus par **Makni et al. (2013)** et **Mouheb et al. (2018)**, qui ont rapporté des rendements de 12,4 % et 16 %, respectivement. Par ailleurs, les recherches menées par **Taleb-Senouci (2009)** ainsi que **Bahi et Necib (2014)** ont démontré des rendements nettement supérieurs, atteignant 25 %, comparativement à nos résultats. En revanche, selon nos résultats, l'étude de **Saidi et al. (2023)** indique que l'extraction par décoction offre le rendement le plus élevé (17,016%), comparativement à l'extrait aqueux qui présente une valeur de (11,048 %). Plusieurs autres études ont démontré que les extraits aqueux présentaient des rendements plus élevés que ceux obtenus par des solvants organiques (**Kalle et al., 2014**) ; (**Khelifi et al ; 2014**). Par exemple, les rendements d'extraction déterminés à partir d'extraits d'*A. iva* (L.)


obtenus par acétone, éthanol et eau étaient respectivement d'environ 2,3 %, 2,6 % et 24 % (Bendif *et al.*, 2017).




Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale (Quy Diem Do *et al.*, 2014). De plus, il est semblé être influencé par le degré de polarité du solvant, la méthode d'extraction, le temps d'extraction, ainsi que par le degré de polarité des différents composants de l'extrait, comme les constituants phénoliques (Medjeldi *et al.*, 2018).


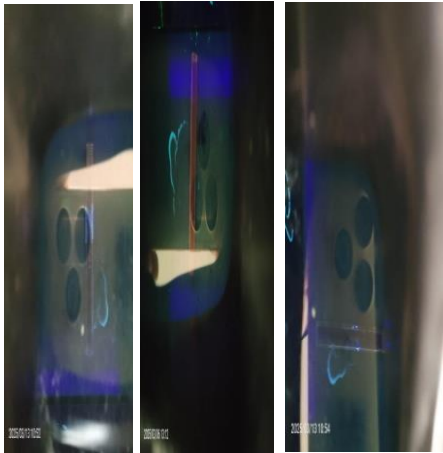
II. Screening phytochimique des extraits




L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique des extraits a révélé la présence de certains groupes chimiques dans l'espèce étudiée, basée sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactions spécifiques. Les résultats sont montrés dans le tableau suivant (Tableau 6) :


Tableau 6 : screening phytochimiques des extraits aqueux de l'espèce *Ajuga Iva*

Les métabolites secondaires	Résultats attendus	EM	EI	ED	Photographie
Les alcaloïdes	Précipitation jaune	-	-	-	

Tanins	Coloration bleu verdâtre	-	-	-	 <p>2025/03/17 14:08</p>
Terpenoïdes	La formation d'une coloration brun rouge	+++	+++	+++	 <p>2025/03/17 13:59</p>
Composés Phénoliques	Coloration bleu verdâtre	-	-	-	 <p>2025/03/16 12:46</p>

<p>Saponines</p>	<p>Formation d'une mousse</p>	<p>+</p>	<p>+</p>	<p>+</p>	
<p>Coumarines</p>	<p>Fluorescence</p>	<p>-</p>	<p>-</p>	<p>-</p>	

<p>Stéroïdes</p>	<p>Anneau pourpre/violet</p>	<p>++</p>	<p>++</p>	<p>++</p>	
<p>Polyuronides</p>	<p>Une précipitation</p>	<p>+</p>	<p>+</p>	<p>+</p>	
<p>Mucilage</p>	<p>Une précipitation</p>	<p>+++</p>	<p>+++</p>	<p>+++</p>	

Sucres réducteurs	Rouge brique	+	+	+	
-------------------	--------------	---	---	---	---

(+++): Fortement positif (++) : Moyenne positif (+) : faible positif (-) : négatif

D'après les résultats présentés dans le tableau ci-dessus, on constate la présence des saponines, les polyuronides, les terpénoïdes, les mucilages, les stéroïdes et les sucres réducteurs. Alors que les alcaloïdes, les polyphénols, les tanins et les coumarines sont absentes. Les recherches menées par **Bouyahya et al. (2016, 2020)** montrent que *Ajuga iva* contient divers composés bioactifs, incluant des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des quinones, des terpénoïdes, des saponines et des composés réducteurs. Contrairement à nos résultats, les stéroïdes, les saponines, les composés réducteurs et les triterpènes et les alcaloïdes ne sont pas détectés dans les extraits aqueux et méthanolique d'*Ajuga iva* (**Khemkham, 2022**). Dans une autre étude menée par **Azizi et al. (2022)** les feuilles d'*A.iva* (L.) se caractérisent par la présence de composés réducteurs, d'oses et d'holosides en grandes quantités. De plus, des tanins galliques et catéchiques, des flavones, des anthocyanines, les stéroïdes 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. Une étude de **Senhaji et de ses collaborateurs** a également montré que *A. iva* (L.) est riche en tanins catéchiques, saponines, stéroïdes et flavonoïdes (**Senhaji et al., 2022**)

III. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

La teneur en polyphénols totaux (PPT) et en flavonoïdes des extraits *d'Ajuga iva* a été déterminée par des méthodes spectrophotométriques. Le dosage des polyphénols a été réalisé en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, tandis que celui des flavonoïdes a été effectué à l'aide du trichlorure d'aluminium. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique (EAG) par milligramme de l'extrait pour les PPT et en microgramme d'équivalent de quercétine (EQ) par milligramme d'extrait pour les flavonoïdes. Ces teneurs ont été calculées à partir des équations de régression linéaire établies à partir des courbes d'étalonnage respectives. Les résultats obtenus pour les extraits aqueux *d'Ajuga iva* sont présentés dans le tableau 7 suivant :

Tableau 7. Teneurs en polyphénols et flavonoïdes des extraits aqueux *d'Ajuga iva*.

La plante	L'extrait	Teneur en polyphénols	Teneur en Flavonoïdes
<i>Ajuga iva</i>	EI	23,45±0,29	10,62±0,66
	ED	35,54±0,42	12,54±0,72
	EM	24,30±0,30	11,97±0,70

Les résultats obtenus concernant les polyphénols indiquent des concentrations faibles, avec un taux de $35,54 \pm 0,42 \mu\text{g EAG/mg E}$ observé dans la décoction, suivi par la macération ($24 \pm 0,30 \text{ mg EAG/g}$) et l'infusion ($23,45 \pm 0,29 \text{ mg EAG/g}$). En ce qui concerne les flavonoïdes, les analyses révèlent également une faible concentration dans l'extrait de la décoction ($12,542 \pm 0,72 \mu\text{g EQ/mg E}$), suivie par la macération ($11,97 \pm 0,70 \mu\text{g EQ/mg E}$) et l'infusion ($10,62 \pm 0,66 \mu\text{g EQ/mg E}$).

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par **Bediaf et al. (2017)** pour les extraits aqueux, qui présentent des teneurs relativement faibles, comprises entre 25,18 et 15,60 mg EAG/g E, selon les régions. En comparant nos résultats à ceux des études antérieures, nous constatons qu'ils sont supérieurs à ceux de **Boukada et Meddah (2021)**, qui ont rapporté dans l'extrait aqueux des teneurs totales de $3,87 \pm 0,17 \text{ mg GAE/g DE}$ en polyphénols et $1,54 \pm 0,09 \text{ mg CE/g DE}$ en flavonoïdes. Par ailleurs, **Makni et al. (2013)** ont indiqué des teneurs de 16,5 mg EAG/g en phénols totaux et de 1,1 mg EQ/g en flavonoïdes. En revanche, nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par **Saad et al. (2019)** dans leur

étude sur les extraits aqueux de la même espèce, qui ont rapporté des valeurs de 65,3 mg EAG/g et 128,4 mg ER/g. De même, **Saidi et al. (2023)** ont observé des concentrations élevées de polyphénols dans les feuilles d'*A. iva*, avec $53,148 \pm 2,509$ mg EAG/g E pour l'extrait aqueux et $40,786 \pm 2,957$ mg EAG/g E pour l'extrait décocté. Cependant, les concentrations en flavonoïdes sont similaires à nos résultats, avec des valeurs de $10,281 \pm 0,521$ mg EQ/g E et $8,960 \pm 0,370$ mg EQ/g pour les extraits obtenus par macération et décoction, respectivement. **Deng et al. (2018)** soulignent que le séchage, le broyage et le stockage peuvent influencer considérablement les résultats obtenus. De plus, **Ashraf et al. (2018)** attribuent les variations observées à des facteurs génotypiques qui régulent la biosynthèse et l'accumulation de ces métabolites secondaires au sein des plantes.

IV. Activité antioxydante

La méthode DPPH a été retenue pour son efficacité, sa simplicité d'exécution, sa rapidité, ainsi que pour sa sensibilité et sa reproductibilité (**Boudjelal, 2013**). L'activité antiradicalaire des différents extraits, ainsi que celle de l'antioxydant de référence (acide ascorbique), a été évaluée à travers leur capacité à neutraliser le radical libre DPPH en le réduisant en sa forme stable, DPPH-H. Cette capacité réductrice se manifeste par une diminution de l'absorbance, traduisant l'interaction entre les composés antioxydants présents dans les extraits et le radical DPPH. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 5 ci-après.

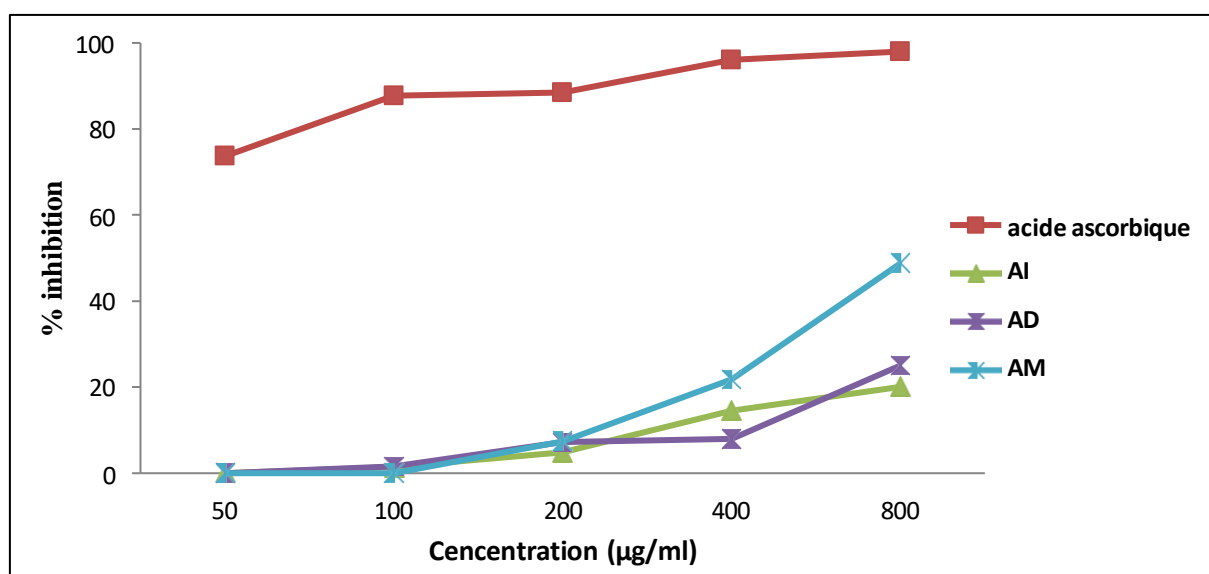


Figure 5. Pourcentage d'inhibition des extraits et de l'acide ascorbique.

Il a été constaté que les extraits aqueux (macération, décoction, infusion) présentent une activité antioxydante moyenne, avec des pourcentages d'inhibition de 48,76 %, 25,03 % et 20,07 % respectivement, à une concentration de 800 µg/ml. Ces valeurs sont inférieures à celle de l'acide ascorbique, qui atteint 97,7 %.

IV.1. Détermination d'IC₅₀

Nous avons établi les concentrations requises pour atteindre une réduction de 50 % du radical libre DPPH pour l'acide ascorbique ainsi que pour les trois extraits, ces valeurs correspondant aux valeurs des IC₅₀. Il convient de souligner que plus la valeur est faible, plus l'extrait présente une activité antioxydante puissante (Zbadi et al., 2018).

Tableau 8. Les calculs des IC₅₀ des extraits et d'acide ascorbique.

Extrait et standard	IC ₅₀ (µg/ml)
Macération	>800
Infusion	>800
Décoction	>800
Acide ascorbique	2,64±0,016

Les valeurs présentées dans le tableau ci-dessous montrent que les extraits aqueux d'*A.iva*, préparés par macération, infusion et décoction, présentent une activité antioxydante relativement faible, avec des valeurs d'IC₅₀ supérieures à 800 µg/ml. Comparativement à l'acide ascorbique, un antioxydant de référence, présente une IC₅₀ de 2,64 ± 0,016 µg/ml, ce qui reflète un pouvoir antioxydant nettement plus élevé.

Nos résultats indiquent une efficacité considérablement moindre par rapport à plusieurs études antérieures. Dans l'étude menée par Ammar et al. (2022), il a été démontré que les extraits aqueux d'*A.iva*, prélevés dans la région de Mograne-Zaghouan en Tunisie, présentent des IC₅₀ de 729,98 ± 7,21 µg/ml. De même, les extraits aqueux obtenus par décoction, infusion et macération ont donné respectivement les valeurs suivantes : 616,57 ± 44,21 µg/ml, 26128 ± 0 µg/ml et 403,5 ± 10,94 µg/ml Senhaji et al. (2020). En outre, Saad et al. (2019) n'ont observé que l'extrait infusé d'*A.iva* du Maroc possède une activité antioxydante avec un IC₅₀ de 0,225 ± 0,026 mg/ml. Par ailleurs, les extraits aqueux préparés

par la méthode Soxhlet et par décoction ont révélé des IC₅₀ de 145,15 ± 0,72 µg/ml et 195,35 ± 14,58 µg/ml respectivement (**Saidi et al., 2023**).

Le pouvoir anti oxydant d'un agent est en relation directe avec la nature chimique et la teneur en polyphénols, il varie en fonction de la teneur en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes, acide ascorbiques caroténoïdes, les sucres, acides aminés...etc.), en effet, les flavonoïdes ont toujours un énorme potentiel antioxydant en piégeant ou en décomposant diverses molécules impliquées dans la production des radicaux libres (oxygène, ions métalliques, peroxydes) et en complexant les métaux pro-oxydants **Suznjevic et al. (2011)**. Ces variations enregistrés d'une étude à l'autre peuvent être attribuées à la variable en composés phénoliques, notamment les polyphénols et les flavonoïdes, comme l'ont démontré les résultats de **Cai et al. (2004)**. D'où La faible activité antioxydante de nos extraits aqueux peut être attribuée aux faibles niveaux de polyphénols et de flavonoïdes mesurés lors de l'analyse. De plus, **Lahrizi et al. (2024)** ont indiqué que l'origine géographique, la méthode d'extraction ainsi que le solvant utilisé constituent des facteurs déterminants influençant l'activité antioxydante de *l'A. iva*.



Conclusion

Conclusion et perspectives

Conclusion

Malgré les avancées significatives de l'industrie pharmaceutique fondée sur la chimie, la médecine traditionnelle et les traitements à base de plantes continuent d'occuper une place importante et suscitent un intérêt croissant à l'échelle mondiale. De nombreuses recherches, tant expérimentales que cliniques, sont consacrées à l'étude des plantes médicinales et à l'évaluation de leurs propriétés thérapeutiques.

Le présent travail avait pour but de faire une étude comparative de trois techniques d'extraction des polyphénols contenus dans une plante aromatique, vivace, appartenant à la famille des Lamiaceae : *Ajuga iva*. Ils s'agit de l'extraction par macération, l'extraction par infusion et l'extraction par décoction. La comparaison porte sur la quantification des teneurs en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH.

Le screening phytochimique a révélé la présence des composés suivants : terpénoïdes, stéroïdes, polyuronides, mucilages, sucres réducteurs et saponosides.

Une variation en rendement a été remarquée. Les pourcentages calculés par rapport à la matière sèche. Le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu par macération (7,6%), suivi par l'extrait infusé (5%) et décocté (2,34%).

Les dosages des polyphénols et des flavonoïdes totaux, réalisés à l'aide des tests de Folin-Ciocalteu et de la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), ont révélé des concentrations faibles. L'extrait décocté a présenté la teneur la plus élevée en polyphénols, avec $35,54 \pm 0,428 \mu\text{g EAG/mg E}$, suivi par l'extrait macéré avec $24,30 \pm 0,301 \mu\text{g EAG/mg E}$, et enfin l'extrait infusé avec $23,45 \pm 0,295 \mu\text{g EAG/mg E}$. En ce qui concerne les flavonoïdes, l'extrait décocté a également montré la teneur la plus importante, avec $12,54 \pm 0,727 \mu\text{g EQ/mg E}$, suivi de l'extrait macéré avec $11,97 \pm 0,707 \mu\text{g EQ/mg E}$, puis de l'extrait infusé avec $10,62 \pm 0,660 \mu\text{g EQ/mg E}$.

En ce qui concerne l'activité antiradicalaire mesurée par le test de DPPH, les résultats obtenus indiquent que les extraits présentent une activité antioxydante relativement faible, avec des valeurs d' IC_{50} supérieures à $800 \mu\text{g/mL}$. Cette valeur est nettement plus élevée que celle de l'acide ascorbique, un antioxydant de référence, dont l' IC_{50} est de $2,64 \pm 0,016 \mu\text{g/mL}$, ce qui témoigne d'un pouvoir antioxydant bien plus important que celui de nos extraits.

Conclusion et perspectives

Toutefois, ces résultats demeurent préliminaires et nécessitent d'être approfondis afin de mieux cerner l'intérêt pharmacologique de cette plante médicinale. En perspective, il serait pertinent de :

- Évaluer la présence d'autres molécules bioactives en utilisant des techniques d'extraction plus ciblées, telles que les solvants organiques et les ultrasons, ou en analysant d'autres parties de la plante.
- Évaluer d'autres activités biologiques *in vitro* et *in vivo*.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

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.

Azzi, A., Davies, K. J., & Kelly, F. (2004). Free radical biology–terminology and critical thinking. *FEBS Lettres*, 558(1-3), 3-6.

Ait Youssef, M. (2006). *Plantes médicinales de Kabylie*. Ibispress.

Ayoola, G. A., Coker, H. A., Adesegun, S. A., Adepoju-Bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia, E. C., & Atangbayila, T. O. (2008). 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.

Amina, B., & Hadjer, M. (2015). Les antioxydants [Doctoral dissertation, Université de Ghardaïa].

Ashraf, M. A., Iqbal, M., Rasheed, R., Hussain, I., Riaz, M., & Arif, M. S. (2018). Environmental stress and secondary metabolites in plants: an overview. *Plant metabolites and regulation under environmental stress*, 153-167.

Ammar, H., Touihri, I., Kholif, A. E., M'Rabet, Y., Jaouadi, R., Chahine, M., ... & Hosni, K. (2022). Chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of leaves of *Ajuga iva*. *Molecules*, 27(20), 7102.

Adjélé, W., & Leyli, S. (2003). Les Radicaux Libres : Une question d'équilibre. Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines DESS IST.

Azzi, A., Davies, K. J., & Kelly, F. (2004). Free radical biology–terminology and critical thinking. *FEBS letters*, 558(1-3), 3-6.

Byung P. Y., 1994, cellular defense s against damage from reactive oxygen species, *Physiological reviews*, 71 (1) : 139-162.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie Plantes médicinales (3ème éd., pp. 227, 310, 312-314, 494). Techniques et documentations.

Références bibliographiques

- Ben Jannet, H, Harzallah-Skhiri, F., Mighri, Z., Simmonds, M. S. J., & Blaney, W. M. (2000).** Responses of *Spodoptera littoralis* larvae to Tunisian plant extracts and to neoclerodane diterpenoids isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves. *Fitoterapia*, 71(2), 105-112.
- Bondi, M. L., Al-Hillo, M. R. Y., Lamara, K., Ladjel, S., Bruno, M., Piozzi, F., & Simmonds, M. S. J. (2000).** Occurrence of the antifeedant 14, 15-dihydroajugapitin in the aerial parts of *Ajuga iva* from Algeria. *Biochemical systematics and Ecology*, 28(10), 1023-1025.
- Burns, J.A., Yokota, T., Ashihara, H. et al. (2002b)** Plant foods and herbal sources of resveratrol. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3337–3340.
- Bennaghmouch, L., Hajjaji, N., & Gmira, N. (2002).** Flavonoïdes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb (Labiée). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 22(1), 25-30.
- Berger, M. M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(1), 48-53.
- Breitmaier, E. (2006).** Terpenes : Importance, general structure, and biosynthesis, Terpenes : Flavors, fragrances, pharmaca, pheromones, 1 (2006) 1-3.
- Brooker, N., Windorski, J. and Blumi, E. (2008)** Halogenated coumarins derivatives As novel seed protectants. *Commu Agri Appl Biolog Sci.* 73(2) :81-89.
- Boufridi, A. (2011).** Étude chimique de l'huile essentielle d'*Ajuga iva* détermination de l'activité antioxydante et tests d'activités biologiques.
- Bouabdelli F., Djelloul A., Kaid-Omar Z., Semmoud A et Addou A., 2012-**Antimicrobial Activity Of 22 Plants used in Urolithiasis Medicine in Western Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 530-535.
- BOUDJELAL, A. (2013).** Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie (Doctoral dissertation, Université de Annaba-Badji Mokhtar).
- Bahi A. et Necib Y. 2014.** Protective effect of aqueous extract of *Ajuga iva* (L.) against Mercury (II) induced oxidative and renal stress in rats. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 27(1), 20: 111-116.

Références bibliographiques

- Bentabet Lasгаа, N. (2015).** Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Fredoliaaretioides* et *echiumvulgare* de l'ouest algérien (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen), P. 20-21.
- Benzeggouta, N. (2015).** Study of the Antibacterial Activity of the Infused Oils of Four Medicinal Plants Known as Foods (Doctoral dissertation, These in Pharmacochemistry at the Mentour i University of Constantine).
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Gatto Jr., G. J. (2015).** Biochemistry (8th ed.). W. H. Freeman.
- Bouyahya, A., Abrini, J., El-Baabou, A., Bakri, Y., & 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), 2.
- Bendif, H., Lazali, M., Harir, M., Miara, M. D., Boudjeniba, M., & Venskutonis, P. R. (2017).** Biological screening of *Ajuga iva* extracts obtained by supercritical carbon dioxide and pressurized liquid extraction. *J. Med. Bot*, 1, 33.
- Bouyahya, A., El Omari, N., Elmenyiy, N., Guaouguaou, F. E., Balahbib, A., El-Shazly, M., & Chamkhi, I. (2020).** Ethnomedicinal use, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Ajuga iva* (L.) schreb. *Journal of ethnopharmacology*, 258, 112875.
- Boukada, F., & Meddah, B. (2021).** FLAVONOIDS FROM AERIAL PART OF ALGERIAN *AJUGA IVA* (L.) SCHREB. : THE HPLC-UV ANALYSIS AND ANTIOXIDANT CAPACITY. *Kragujevac journal of Science*, 43(2021).
- Boukada, F. (2023).** Isolement et caractérisation des flavonoïdes des plantes médicinales de la région de Mascara et leurs activités biologiques (Doctoral dissertation).
- BENRAS, A. (2024).** Caractérisation physico-chimique et activités biologiques des alcaloïdes d'une plante saharienne de la famille *Apiaceae* (Doctoral dissertation, Kasdi Merbah-Ouargla University).
- Bousetla, A., Zellagui, A., Derouiche, K., & Rhouati, S. (2011).** Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Camps L., Coll J. & Cortel A. (1982)** New clerodane diterpenoids from *Ajuga iva* (Labiatae). *Chem. Lett.* 1053-1056.

Références bibliographiques

- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004).** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences*, 74(17), 2157-2184.
- Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (2006).** Plant secondary metabolites. Occurrence, Structure and Role in the Human Diet, Blackwell-Publishers.
- Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2006).** Phenols, polyphenols and tannins : an overview. *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet*, 1, 1-25.
- Coll, Y. A., & Tandro, N. (2008).** Neo-Clerodane diterpenoids from *Ajuga* : Structural elucidation and biological activity. *Phytochemistry Reviews*, 7, 25-49.
- Chanforan, C., (2010).** Stabilité de microconstituants de la tomate (composés Phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : Etudes en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tom
- Challacombe, C. A., Abdel-Aal, E. S. M., Seetharaman, K., & Duizer, L. M. (2012).**
- Chabane, D., Saidi, F., Rouibi, A., & Azine, K. (2013).** Activité hypoglycémique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* L. Schreber chez les rats diabétiques induite par l'alloxane. *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(1), 120-127.
- Dean, R. T., FU, S., Stocker, R., & Davies, M. J. (1997).** Biochemistry and pathology of radical mediated protein oxidation. *Biochemical Journal*, 324(1), 1-18.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002).** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 3010-3014.
- Dohou N., Yani K., Thahrouch S., Idrissi Hassani L-M Badoc A, G mira N. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine ; *Thynelaea lythroïdes*. *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.

Références bibliographiques

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302.

Deng, J., Yang, H., Capanoglu, E., Cao, H., & Xiao, J. (2018). Technological aspects and stability of polyphenols. In *Polyphenols : Properties, recovery, and applications* (pp. 295-323). Woodhead Publishing.

El Hilaly, J., & Lyoussi, B. (2002). Hypoglycaemic effect of the lyophilized aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 80, 109-113.

El-Hilaly, J., Tahraoui, A., Israili, Z. H., & Lyoussi, B. (2006). Hypolipidemic effects of acute and sub-chronic administration of an aqueous extract of *Ajuga iva* L. whole plant in normal and diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 105(3), 441-448.

El-Hilaly, J., Tahraoui, A., Israili, Z. H., & Lyoussi, B. (2007). Acute hypoglycemic, hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effects of continuous intravenous infusion of a lyophilized aqueous extract of *Ajuga iva* L. Schreber whole plant in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20, 261-268.

El-Hawary, S., El-Shabrawy, A., Ezzat, S. M., & El-Shibany, F. (2013). Gas chromatography-mass spectrometry analysis, hepatoprotective and antioxidant activities of the essential oils of four Liby herbes

Erol, O. (2023). *Natural products*. Doi : 10.5040/9781440880148.0190.

Elshafie, H. S., Camele, I., & Mohamed, A. A. (2023). A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. *International journal of molecular sciences*, 24(4), 3266.

<https://doi.org/10.3390/ijms24043266>

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

Fettach, S., Mrabti, H. N., Sayah, K., Bouyahya, A., Salhi, N., Cherrah, Y., & El Abbes, F. M. (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.

Références bibliographiques

- González-Burgos, E., & Gómez-Serranillos, M. P. (2012).** Terpene compounds in nature: A review of their potential antioxidant activity. *Current Medicinal Chemistry*, 19, 5319-5341.
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.
- Guignard, J. L. (2000).** *Biochimie végétale* (2ème édition). Edition Dunod, Paris.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1989).** *Free radicals in biology and medicine* (543 pp.). Oxford University Press.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1999).** *Free radicals in biology and medicine* (3rd ed.). Oxford University Press.
- Hermes-Lima, M. (2004).** Oxygen in biology and biochemistry: Role of free radicals. In K. B. Storey (Ed.), *Functional metabolism: Regulation and adaptation* (pp. 319-368). Wiley-Liss.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
- Israili, Z. H., & Lyoussi, B. (2009).** Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(4), 425-462.
- Jahanger, A. (2021).** Influence of FDI characteristics on high-quality development of China's economy. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 18977-18988.
- 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 (Doctoral dissertation, Université Mouloud MAMMERRI Tizi-Ouzou).
- Langsjoen, P. H., & Langsjoen, A. M. (2003).** The clinical use of HMG CoA-reductase inhibitors and the associated depletion of coenzyme Q10: A review of animal and human publications. *Biofactors*, 18, 101-111.
- Liu, R. H. (2004).** Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of nutrition*, 134(12), 3479S-3485S.
- Lock O., Cabello I., Doroteo V.H., (2006).** Analysis of flavonoids in plants. *Current Medicinal Chemistry*, 20 : 6-11.

Références bibliographiques

Lehout, R., & Maya, L. (2015). Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale: *Artemisia herba alba* Asso. Mémoire de Master en Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constant.

Lakache, Z., Tigrine, C., Aliboudhar, H., & Kameli, A. (2021). Composition chimique, activités anti-inflammatoire, antalgique et cytotoxique in vivo de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea*. *Phytothérapie*, 19(2), 83-92.

Lahrizi, L., Errachidi, F., Nekhla, H., & El Ghadraoui, L. (2024). *Ajuga iva* L.: An overview of phytochemical profile and biological functionalities. *Chem Rev Lett*, 7, 31-44.

Meyer, S., Reeb, C., & Bosdevieix, R. (2004). Botanique : Biologie et physiologie végétales. Maloine.

Monteil, C., Mulder, P., Thuillez, C. (2004). Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une Cible thérapeutique utopique ? *Médecine Thérapeutique Cardiologie*, 2(2), 75-85.

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), 756-765.

Mouheb, S., Khalil, M., Rouibi, A., & Saidi, F. (2018). Antimicrobial and analgesic activity of aqueous extract of Algerian *Ajuga iva* (L.) Schreb (Lamiaceae). *Agrobiologia*, 8(1), 863-870.

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

Mahamat Ahmat, Y. (2025). Époxydation des terpènes par dioxirane en microémulsion.

Moreno Paolini, A., Abdel-Rahman, S. Z., Sapone, A., Pedulli, G. F., Perocco, P., Cantelli-Forti, G., & Legator, M. S. (2003). Beta-carotene: A cancer chemopreventive agent or a co-carcinogen? *Mutation Research*, 543(3), 195-200.

<https://doi.org/10.1016/S1383>

Références bibliographiques

- Ojeil, A., El Darra, N., El Hajj, Y., Mouncef, P. B., Rizk, T. J., & Maroun, R. G. (2010).** Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin château KSARA. *Lebanese Science Journal*, 11(2), 117-131.
- Pichersky, E., & Gang, D. R. (2000).** Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends in plant science*, 5(10), 439-445.
- Pistrick, k. (2002).**- Notes on neglected and underutilized crops Current Taxonomical overview of cultivated plants in the family's Umbelliferae and Labiatae, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49 : 211-225.
- Prior, R. L., & Wu, X. (2006).** Anthocyanins: Structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*, 40, 1014-1028.
- Pourrut B., Perchet G., Silvestre J., Cecchi M., Guisresse Met Pinelli E. (2008)** Publishers, p 115-136.
- Pamplona, R., & Costantini, D. (2011).** Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in animals. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 301(4), R843-R863.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00034.2011>.
- Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., & Bansal, Y. K. (2015).** Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9(3), 293-304.
- Pioschi, R., Pop, L. (2015).** Oxidation of proteins by reactive oxygen species (ROS) leads to various alterations in protein structure and function. In *Oxidative stress and antioxidants*.
- Park, H. Y., Kim, D. H., & Sivanesan, I. (2017).** Micropropagation of *Ajuga* species: A mini-review. *Biotechnology Letters*, 39, 1291-1298.
- Pacome, S. S., Phillipe, G., Patrice, A. K., Turquin, L., Theodore, S. V., Koutoua, S., & Diallo, H. A. (2018).** Bio-control of the lesion nematode *Pratylenchus coffeae* using lixiviate from banana rachis (*Musa* sp.). *International Journal of Phytopathology*, 7(3), 111-121.
- Quézel, R., & Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome II). Centre national de la recherche scientifique.

Références bibliographiques

- Quezel P. Santa S. (1963).** Nouvelle flore De l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome II. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, 788-789.
- 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.
- Rayate, A. S., Nagoba, B. S., Mumbre, S. S., Mavani, H. B., Gavkare, A. M., & Deshpande, A. S. (2023).** Current scenario of traditional medicines in management of diabetic foot ulcers : A review. *World journal of diabetes*, 14(1), 1.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., De, B. (2010).** Free radicals, Antioxidants, diseases and phytomedicines. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3: 91-1001.
- Sužnjević, D. Ž., Pastor, F. T., & Gorjanović, S. Ž. (2011).** Polarographic study of hydrogen peroxide anodic current and its application to antioxidant activity determination. *Talanta*, 85(3), 1398-1403.
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018).** Based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical sciences*, 34(7), 795-800.
- Singla, R. K., Dubey, A. K., Garg, A., Sharma, R. K., Fiorino, M., Ameen, S. M., & Al-Hiary, M. (2019).** Natural polyphenols : Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1397-1400.
- 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.
- Senhaji, S., Lamchouri, F., Bouabid, K., Assem, N., El Haouari, M., Bargach, K., & Toufik, H. (2020).** Phenolic contents and antioxidant properties of aqueous and organic extracts of a Moroccan *Ajuga iva* subsp. *Pseudoiva*. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 26(3), 248-266.

Références bibliographiques

- Saidi, S., Remok, F., Handaq, N., Drioiche, A., Gourich, A. A., Menyiy, N. E., & Zair, T. (2023).** Phytochemical profile, antioxidant, antimicrobial, and antidiabetic activities of *Ajuga iva* (L.). *Life*, 13(5), 1165.
- Senhaji, S., Lamchouri, F., Boulfia, M., Lachkar, N., Bouabid, K., & Toufik, H. (2022).** Mineral composition, content of phenolic compounds and in vitro antioxidant and antibacterial activities of aqueous and organic extracts of the seeds of *Peganum harmala* L. *South African Journal of Botany*, 147, 697-712.
- Tiwari and Kakkar H.P.A. (1990).** Phytochemical examination of *Spilanthus acemella* (Murr.). *Journal of the Indian Chemical Society*, 67 (9):784-785,
- Tessier, F., Marconnet, P. (1995).** Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & Sports*, 10(1), 1-13.
- Taleb-Senouci, D., Ghomari, H., Kroufa, 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, 623-631.
- Tapiero, H., Townsend, D. M., & Tew, K. D. (2004).** The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 58(2), 100-110. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2003.12> .
- Wong, S. P., Leong, L. P., Koh, J. H. W. (2006).** Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*, 99(4), 775-783.
- Wang, H., Cao, G., Prior, R. L. (2006).** Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(3), 701-705.
- Zafra-Stone, S., Yasmin, T., Bagchi, M., Chatterjee, A., Vinson, J. A., & Bagchi, D. (2007).** Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Molecular nutrition & food research*, 51(6), 675-683.
- Zellagui, A., Gherraf, N., & Rhouati, S. (2012).** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Ferula vesceritensis* Coss et Dur. Leaves, endemic in Algeria. *Organic and medicinal chemistry letters*, 2, 1-4.
- Zbadi, R., Mohti, H., & Moussaoui, F. (2018).** Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine thérapeutique*, 24(2), 134-141.

Références bibliographiques

Zoroddu, M. A., Aaseth, J., Crisponi, G., Medici, S., Peana, M., & Nurchi, V. M. (2019). The essential metals for humans: A brief overview. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 195, 120-129.

<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.03.013>.