



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Farida DILEKH et Insaf MESSAOUDI

Le : Samedi 10 Octobre 2020

Thème

Etude de quelques activités biologiques de glycyrrhizin extrait de la plante médicinale *Glycyrrhiza glabra* L. de deux régions

Jury :

M. Ziane LAIADI	Pr	Université de Biskra	Président
Mme. Soulef KRIKER	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme . Randa GAOUAOUI	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universite : 2019-2020

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier " Dieu" le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné le courage et la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide de mon encadreur Mm. Kriker Soulef, nous la remercies pour son orientation et son plus haut soutien.

Nous remercies aussi mes parents, qui mes a donné tous l'amour et la confiance tout au long de mes vie.

Nous adresse tout d'abord mes remerciements à l'ensemble du corps professoral de l'Université Mohamed Khider à Biskra, notamment du Département des Sciences de la Nature et de la Vie, pour ces deux années de Master qui ont été riches en connaissances et en expériences.

Bien sûr, nous tiens également à exprimer mes gratitude envers les techniciens de laboratoire, pour mes avoir fait partager leurs compétences et pour le temps qu'ils mes ont consacré pour mener à bien l'ensemble de mes expériences.

Nous n'oublie pas mes collègues de la promotion 2019-2020 du Master 2 et mes amies.

Dédicaces

En guise de reconnaissance, je dédie ce travail :

A mes très chers parents, pour les encouragements,

Tendresse, amour et soutien durant mes études ;

Vous étiez toujours là pour m'écouter, me soutenir, me reconforter

Et m'encourager dans les moments de doute... vous trouverez ici le fruit de vos sacrifices

Et je souhaite que j'ai réalisé l'un de vos rêves par ce modeste travail

Puisse Dieu vous accorder longue vie pleine de santé et de bonheur.

A mes frères, mes sœurs, et toute ma famille pour leur amour et compréhension.

*A mes chères amies chaque une par son nom pour les instants de joie partagés en leur
compagnie, leur gentillesse et tous les sentiments qu'ils me témoignent.*

A mon binôme insaf, ce qui m'a beaucoup aidé à terminer cet humble travail.

Farida

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

Aux âmes chères aux cœurs qui sont morts et ne reviendront pas : chère grand-mère et oncle

A mes adorables parents : Meberka Khalfali et Lakhder Messaoudi

Ma deuxième maman : Sabah Khalfali

Pour les encouragements, tendresse, amour et soutien durant mes études ;

Vous étiez toujours là pour m'écouter, me soutenir et me reconforter

A mon grand-père et à ma grand-mère : Labri et Amina Messaoudi

A mes sœurs : Alaa et Soundous

A mes frères : Larbi, chouaib, Chamso, Mounibe et El mamoune

Mes cousines et toute ma famille pour leur amour et compréhension

A mes chères amies chaque une par son nom pour les instants de joie partagés en leur

Compagnie, leur gentillesse et tous les sentiments qu'ils me témoignent

A mon binôme Farida, ce qui m'a beaucoup aidé à terminer cet humble travail.

Insaf

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux..... I

Liste des figures..... II

Liste des abréviations..... III

Introduction..... 1

Première partie .Synthèse bibliographique

chapitre 1. Généralité sur la plante *Glycyrrhiza glabra*L

1.1. Définition de la plante *Glycyrrhiza glabra* L 5

1.2. Histoire de la *Glycyrrhiza glabra* L. 5

1.3. Etymologie de *Glycyrrhiza glabra* L..... 5

1.4. Caractéristiques de la plante de réglisse 6

1.4.1. Classification de *glycyrrhiza glabra* L..... 6

1.4.2. Habitat et origine 6

1.5. Description botanique de *Glycyrrhiza glabra* L. 6

a) Les fleurs 6

b) Les feuilles 7

c) Tige 7

d) Les fruits 7

e) Les racines.....	7
1.6. Les composants principales de <i>glycyrrhiza glabra</i> L.	7
1.6.1. Saponoside	7
1.6.2. Les polyphénols : acides phénols et flavonoïdes.....	8
1.6.3. Les polysaccharides.....	8
1.6.4. Les Coumarines	8
1.6.5. Les huiles essentielles	9
1.6.6. Des composes volatils aromatiques.....	9
1.6.7. Les autres composants.....	9
1.7. Utilisations de <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	9
1.7.1. Utilisation traditionnelle.....	9
1.7.2. Usages médicaux.....	9

Chapitre 2. les activités biologiques

2.1. Stress oxydant.....	11
2.2. Radicaux libre.....	11
2.3. Activité antioxydant	11
2.3.1. Définition des antioxydants.....	11
2.3.2. Antioxydants endogènes	11
2.3.2.1. Antioxydants enzymatiques	11
2.3.2.2. Antioxydants non enzymatiques	12
2.3.3. Antioxydants exogènes (d'origine végétale).....	12
2.3.4. Activité antioxydant	12

2.4. Activité anti-inflammatoire	12
2.4.1. Inflammation	12
2.4.2. Activité anti-inflammatoire	12
2.4.3. Les types de l'anti-inflammatoire.....	13
2.4.3.1. Anti-inflammation stéroïdiens.....	13
2.4.3.2. Anti-inflammation non stéroïdiens.....	13
2.4.3.3. Anti-inflammatoire d'origine végétale.....	13

Deuxième partie .Partie expérimentale

chapitre 3. Matériels et Méthodes

3.1. Le Matériel végétal.....	16
3.1.1. Récolte et préparation d'échantillon	16
3.1.2.1. La région de Sidi Okba.....	17
3.1.2.2. La région d'Oumache.....	17
3.2. Méthodologie.....	18
3.2.1. Préparation d'extrait de racine de réglisse	18
3.2.2. Extraction de glycyrrhizine	20
3.2.2.1. Propriété chimique de glycyrrhizine	20
3.2.2.2. La méthode d'extraction.....	20
3.2.2.3. Détermination le rendement de glycyrrhizine.....	21
3.2.3. Tests phytochimiques	22
3.2.3.1. Test des tanins (test de chlorure ferrique)	22

3.2.3.2. Test de saponines (test de mousse)	22
3.2.3.3. Test de flavonoides (test de shinoda)	22
3.2.3.4. Test des Stéroïdes (Test de Salkowski).....	23
3.2.3.5. Test des glucides (Test de fehling).....	23
3.2.3.6. Test des alcaloides (Test de Mayer).....	23
3.2.3.7. Test de protéines (Test de biuret).....	23
3.2.4. Dosage des flavonoïdes	23
3.2.5. Dosage des saponines.....	24
3.2.6. Evaluation l'activité antioxydant	24
3.2.6.1. Test d' DPPH (1, 1-diphenyl-2- picrylhydrazyl).....	24
3.2.6.2. Test d' ABTS (2, 2-azino-bis-3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid).....	25
3.2.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	26

Chapitre 4. Résultats

4.1. Rendement de glycyrrhizine.....	28
4.2. Test phytochimiques	29
4.2.1. Teneur en flavonoïdes	30
4.2.2. Teneur en saponines	31
4.3. Résultats du test du pouvoir antioxydant	32
4.3.1. Estimation du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH.....	32
4.3.1.1. Les résultats de test avec le radical DPPH	33
4.3.1.2. Détermination d'IC50	34
4.3.2. Estimation du pouvoir antioxydant par la méthode d' ABTS	35

4.2.2.1. Les résultats de test avec le radical ABTS	36
4.3.2.2. Détermination d'IC50	37
4.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro.....	38
4.3.1. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique	38

chapitre 5. Discussion des résultats

5.1. Le rendement	41
5.2. Tests phytochimiques.....	42
5.3. Dosage des flavonoïdes et des saponines.....	42
5.4. L'activité antioxydant	43
5.5. Activité anti-inflammatoire	44

La bibliographie

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau 1. propriété chimique de glycyrrhizine (acide glycyrrhizinic).....	20
Tableau 2. Les caractéristiques de la réglisse pour les deux régions	28
Tableau 3. Criblage phytochimique des extraits de Glycyrrhizine de deux régions.....	29
Tableau 4. Les IC50 des extraits de glycyrrhizine de deux régions avec le standard acide ascorbique.....	34
Tableau 5. les IC50 des extraits des glycyrrhizines de deux région avec leTrolox par le test 'ABTS	37

Liste des figures

Figure 1. Représentation de la plante de <i>glycyrrhiza glabra</i> L.....	5
Figure 2. Structure chimique de glycyrrhizine	8
Figure 3. Récolte et préparation d'échantillon.....	16
Figure 4. Localisation de la zone d'étude Sidi Okba.....	17
Figure 5. Représentation la zone d'Oumache	18
Figure 6. Protocole de préparation de l'extrait aqueux des racines de réglisse.	19
Figure 7. Protocole de l'extraction de glycyrrhizine	21
Figure 8. Représent le rendement des extrait des glycyrrhizines de deux régions sidi okba et oumache.	28
Figure 9. Courbe d'étalonnage pour le dosage de flavonoïde.....	30
Figure 10. Teneur des flavonoïdes dans les extraits de glycyrrhizines de deux régions.....	30
Figure 11. Droite d'étalonnage pour le dosage de saponine	31
Figure 12. Teneur des saponines dans les racines de Réglisse de deux régions.....	31
Figure 13. Reaction d'antioxydant avec le radical DPPH	32
Figure 14. Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration de l'extrait de glycyrrhizine de deux régions (Sidi Okba et Oumache) et l'acide ascorbique.	33
Figure 15. Concentration efficace du l'extrait de la glycyrrhizine qui cause la réduction de 50 % du DPPH de deux régions (Sidi Okba et Oumache) et l'acide ascorbique.....	34
Figure 16. Formation du radical cation ABTS+• à partir de l'ABTS.....	36
Figure 17. Pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction de la concentration de l'extrait de glycyrrhizine de deux régions (Sidi Okba et Oumache) et Trolox.	36
Figure 18. Concentration efficace du glycyrrhizine qui cause la réduction de 50 % du ABTS de deux régions (Sidi Okba et Oumache) et Trolox.....	37
Figure 19. L'effet de l'extrait sur l'inhibition de la dénaturation des protéines	38

Liste des abréviations

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens.

GL : Glycyrrhizine.

GA : Acide glycyrrhizique.

GSH : Glutathion.

IC50: Concentration d'inhibition 50%.

PI: Pourcentage d'inhibition.

ROS : Espèces réactives de l'oxygène.

SOD : Super oxyde dismutase.

Introduction

Introduction

Depuis l'Antiquité, plusieurs sociétés ont eu recours à la nature, principalement aux plantes comme sources médicales et sanitaires. Aujourd'hui, un grand pourcentage de la population mondiale, en particulier dans les pays en développement, utilise des plantes pour faire face aux besoins primaires d'assistance médicale. Les êtres humains ont utilisé les plantes à des fins médicinales pendant des siècles. Temps à environ 3000 ans (Rajandeeep *et al.*, 2013)

Glycyrrhiza glabra Linn est l'une des herbes médicinales les plus largement utilisées de l'ancien antécédent médical de l'Ayurveda, il est également utilisé comme herbe aromatisant (Bhanuben, 2014). La réglisse s'est avérée efficace dans le traitement des maladies telles que les ulcères gastriques, l'arthrite, les allergies, l'inflammation, la leucémie, le cancer, le psoriasis, la dermatite atopique et l'hépatotoxicité. Fondamentalement la réglisse comprend deux composants c'est-à-dire glycone et aglycone qui sont responsables de ses propriétés médicales. La glycone est l'acide glycyrrhizique et l'aglycone est l'acide glycyrrhétinique, parmi ceux-ci, la glycone est la partie importante, c'est-à-dire que l'acide glycyrrhizique est un composé important responsable des propriétés pharmacologiques et biologiques de la réglisse (Chauhan *et al.*, 2018).

La glycyrrhizine (GL) est une saponine triterpénoïde naturelle extraite de la racine d'une Leguminosae, *Glycyrrhiza glabra* (réglisse) d'une masse moléculaire de 840 Da (Assafim *et al.*, 2006). Elle est connue pour ses activités anti-inflammatoires, anti-allergéniques, antivirales, anti-cancérigènes (Mendes-Silva *et al.*, 2004).

La glycyrrhizine possède la bonne activité antioxydante car elle a la capacité de piéger les radicaux libres partout où ils sont présents dans la circulation sanguine. L'activité de piégeage des radicaux peut être définie comme une action de piégeage du composé sur les ions de radicaux libres ou les espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites chez le corps de l'homme (Thakur *et al.*, 2016)

La glycyrrhizine triterpénique est le principal composé de l'extrait de réglisse est en partie responsable de son effet anti-inflammatoire. C'est un glycoside, ayant deux molécules d'acide glucuronique attachées au groupe hydroxyle en position C-3 de l'acide glycyrrhétinique (Akamatsu) a montré que la glycyrrhizine n'est pas un piègeur de ROS mais exerce une

action anti-inflammatoire en inhibant la génération de ROS par les neutrophiles (rackova *et al.*, 2007)

A fin de confirmer l'efficacité de la glycyrrhizine dans les cas de l'oxydation et l'inflammation ; Nous avons sélectionné des expériences adaptées qui correspondent aux capacités du laboratoire.

Notre travail est structuré de façon classique en trois parties. Une partie relative à une synthèse bibliographique contient deux chapitres, le premier chapitre consiste en Généralité sur la plante de *Glycyrrhiza glabra* L., dans le deuxième chapitre, nous avons étudié les activités biologiques.

Une seconde partie expérimentale, qui décrit les démarches méthodologiques, et les techniques utilisées dans le chapitre trois, dans la dernière partie, nous avons présenté les résultats obtenus et discussion dans le chapitre quatre.

Enfin, une conclusion relatant l'essentielle des résultats, accompagnée de perspectives conclue notre manuscrit.

Première partie .
Synthèse bibliographique

Chapitre 1.
Généralité sur la plante
***Glycyrrhiza glabra* L.**

1.1. Définition de la plante *Glycyrrhiza glabra* L.

Plante vivace de la famille des Fabaceae aux racines aromatiques. Elle est originaire du sud de l'Europe et de l'Asie. Elle pousse dans un sol riche et humide et elle a besoin d'un climat chaud (sud des USA, Moyen-Orient, Afrique du Nord et Méditerranée (Petit, 2011)



Figure 1. Représentation la plante de *glycyrrhiza glabra* L. (site web 1)

1.2. Histoire de la *Glycyrrhiza glabra* L.

La réglisse était connue des Grecs et des Romains, de Théophraste et de Sainte Hildegarde, qui l'employaient notamment pour éclaircir la voix. Mélangée à du chiendent, elle entrait dans la composition de la boisson dite « hospitalière », qui se trouvait jadis sur les tables de chevet dans tous les hôpitaux. En 1950, on a démontré son effet bénéfique sur l'estomac, et elle a été utilisée dans les cas d'ulcères et de gastrites.

En médecine populaire, la racine jaunâtre de réglisse était utilisée pour ses vertus adoucissantes, digestives et rafraichissantes. Il est cependant signalé que l'abus de la réglisse provoque de l'hypertension artérielle, la substance qui en est responsable est l'acide glycyrrhizique (Chouitah, 2012)

1.3. Etymologie de *Glycyrrhiza glabra* L.

L'étymologie du nom botanique de la réglisse renseigne sur ses propriétés.

Glycyrrhiza vient du grec *glukurrhiza* ou *glycyrrhiza* et se décompose-en :

-« glycys- » qui signifie doux, sucre.

-« -rhidza » qui signifie racine.

« glabra » est le nom de l'espèce. Il dérive du latin « glaber » qui signifie glabre et se rapporte à la gousse imberbe.

La lettre L signifie Linné, nom du botaniste Suédois ayant décrit cette espèce, le mot réglisse est apparu à la suite d'évolution linguistique (Caël, 2009).

1.4. Caractéristiques de la plante de réglisse (Fouzia, 2019).

1.4.1. Classification de *glycyrrhiza glabra* L.

Règne	Planta
Sous-règne	Tracheobionta
Classe	Magnoliophyta
Sous-classe	Spermatophyta
Ordre	Rosidae
Division	Fabales
Famille	Fabaceae
Genre	<i>Glycyrrhiza</i>
Espèce	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.

1.4.2. Habitat et origine

La plante est originaire des régions méditerranéennes, cultivée en Europe, en Perse et en Afghanistan. Aucune des espèces productrices de réglisse n'est présente en Inde, mais la culture de *glycyrrhiza glabra* L. à l'échelle expérimentale a été entreprise à plusieurs endroits, notamment Baramulla, Srinagar dans le Jammu et le Cachemire, Dehradun, Delhi et également dans les régions vallonnées du sud de l'Inde.

1.5. Description botanique de *Glycyrrhiza glabra* L.

a) Les fleurs

Les fleurs, normalement de couleur bleue, peuvent être plus ou moins violacées. Celles-ci sont relativement petites (10 à 13 mm de longueur) et groupées en grand nombre (20 à 30 fleurs), en grappes allongées (Caël, 2009).

b) Les feuilles

alternes se composent de plusieurs paires de folioles ovales, obtuses et pétiolées

(Chopra *et al.*, 1960)

c) Tige

Annuelles presque ligneuses, pouvant atteindre 1m. bien dressées, rigides et creuses (Chouitah, 2012).

d) Les fruits

La réglisse faisant partie des légumineuses, son fruit est donc une gousse. La gousse de la réglisse est aplatie et bosselée par la présence de petites graines brunâtres qu'elle contient. Le fruit de *Glycyrrhiza glabra* contient environ 5 graines. Les graines font 2 à 4 millimètres de diamètre et sont de couleur brune (Lhervois, 2016).

e) Les racines

vivace rampantes, atteignant 1à2 m. brunes à l'extérieur, jaunes à l'intérieur, à saveur sucrée et agréable (Chouitah, 2012).

1.6. Les composants principales de *glycyrrhiza glabra* L.**1.6.1. Saponoside**

Le principale saponoside de la réglisse est la glycyrrhizine, ou acide glycyrrhizique : est un saponine triterpénique, et c'est un conjugué de deux molécules d'acide glucuronique et une molécule d'acide glycyrrhétinique et comme composant actif dans la réglisse est responsable des propriétés sucrés de réglisse (Abd El-Lahot *et al.*, 2017).

La glycyrrhizine a une saveur 50 à 60 fois plus sucrée que le sucre cristallisé, ce qui fait de la réglisse un édulcorant. Il s'agit soit d'une poudre cristalline blanche soit de prismes cristallins incolores soit de lamelles jaune pâle, brillantes et lisses. Cette poudre est inodore mais, en solution, celle-ci présente une odeur caractéristique rappelant celle de la racine. La glycyrrhizine est soluble dans le méthanol, l'éthanol absolu bouillant, dans l'éthanol dilué, l'acétone et dans l'acide acétique bouillant dans lequel il cristallise par refroidissement. Par contre, cet acide est insoluble dans l'alcool absolu froid, le chloroforme, le xylène, l'éther Et le benzène. Son point de fusion est de 296° à 298° (Caël, 2009). La glycyrrhizine constitue jusqu'à 25% de l'extrait de racine de réglisse (Alagawany *et al.*, 2019)

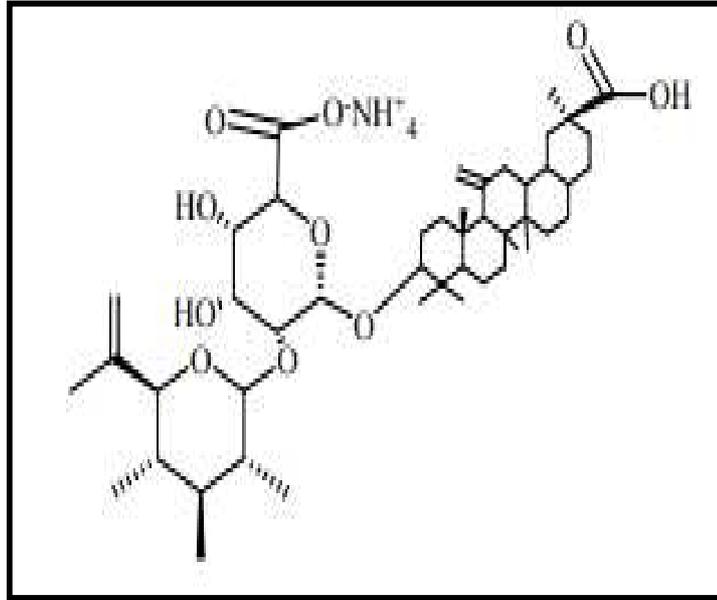


Figure 2. Structure chimique de glycyrrhizine (tinku & mohd, 2018)

1.6.2. Les polyphénols : acides phénols et flavonoïdes

Les polyphénols représentent 1 à 5% de la racine séchée. Sont majoritaires et représentent 0,65 à 2% de la drogue sèche. Ils sont principalement sous forme d'hétérosides.

Les flavonoïdes se divisent en plusieurs groupes selon leur structure chimique. Ces groupes sont :

- Flavanones : le liquiritoside et le liquiritine
- Flavones et pyranoflavones : hispaglabrine, hispaglabridine et glabridine,
- Isoflavones : formononétine,
- Chalcones: licochalcones, isoliquiritigénine, isoliquiritine (sanjai, 2004).
- Isoflavonols, isoflavènes et coumestanes (Edouard, 2013).

1.6.3. Les polysaccharides

Les polysaccharides représentent 10% de la racine séchée les principaux polysaccharides sont la glycyrrhizane et les acides type GPI et GPII (nommés ainsi en référence à un groupement glycosyl phosphatidyl contenu dans ces molécules) (Edouard, 2013).

1.6.4. Les Coumarines : licocoumarone et autres coumarines : ombelliférone, herniarine, licobenzofurane et kaempferol 3-O-methyl ether (Caël, 2009).

1.6.5. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes, présentes dans les plantes aromatiques et localisées, dans les fleurs, les feuilles, les fruits, les graines, l'écorce, les racines (Chouitah, 2012).

1.6.6. Des composés volatils aromatiques

(Environ 0,04 à 0,06%) dont plus de 40 ont été identifiées: anéthol, estragole, eugénol, carvacrol, fenchone, guaiacol, géraniol, linalol, p : cymène, nphujone, thymol, α -terpinéol (Caël, 2009).

1.6.7. Les autres composants

acides aminés (2-4% asparagine), gommes, résines, graisses (0,8%), substances amères (Caël, 2009).

1.7. Utilisations de *Glycyrrhiza glabra* L (Rajandeeep *et al.*, 2013)

1.7.1. Utilisation traditionnelle

Une décoction de madhuka ou de sa poudre a été prescrite avec le miel dans l'anémie, une confection de lait de riz, préparée avec du yashtimadha, a été prescrite une voix rauque, yashti mélangé avec du lait de vache a été prescrite pour favoriser la.

1.7.2. Usages médicaux

Cette espèce végétale est rapportée dans la littérature pour ses activités biologiques telles que : anti-inflammatoire et expectorant, contrôle la toux et a des effets hormonaux. Il détoxifie et protège le foie. En médecine, il est utilisé en interne pour la maladie d'addiction, l'asthme.

À l'extérieur, les réglisses sont utilisées pour l'eczéma, l'herpès et le zona. La réglisse diminue le taux de testostérone sérique chez les femmes et est bénéfique dans l'anémie aplasique.

Chapitre 2.

Les activités biologiques

2.1. Stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme étant un déséquilibre entre la présence d'espèces réactives de l'oxygène et de nitrogène et la capacité de l'organisme à neutraliser leur action par les systèmes antioxydants (Kada, 2018).

2.2. Radicaux libre

Les radicaux libres sont des molécules très instables qui possèdent un électron non apparié, dit « électron célibataire ». Ils cherchent donc un état plus stable en « rattachant » leurs électrons (nombre pair d'électron) et ils ont tendance, pour cela, à prendre un électron, le plus souvent, à l'oxygène « car si l'oxygène moléculaire est très stable vis-à-vis des substances à électron appariés, la molécule réagit énergiquement avec les radicaux libres (Milane, 2004) ». Il se forme alors des radicaux oxygénés ou formes actives de l'oxygène (ROS) (Benalia, 2012).

2.3. Activité antioxydant

2.3.1. Définition des antioxydants

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat (Boubekri, 2014).

Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut. La deuxième partie permet d'appréhender les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation (Guillouty, 2016).

2.3.2. Antioxydants endogènes

2.3.2.1. Antioxydants enzymatiques

Le super oxyde dismutase (SOD) décompose le superoxyde en O₂ et H₂O₂ moins toxiques. Le H₂O₂ sera à son tour transformé par la catalase en O₂ et H₂O, ou en H₂O par la glutathion peroxydase, en présence du glutathion réduit (GSH). Le glutathion réduit, sert de substrat à la GPX pour former du glutathion oxydé (GSSG). Avec l'aide d'une glutathion réductase et de NADPH, le GSH sera régénéré à partir du GSSG. En plus d'éliminer directement les ROS, les enzymes antioxydants participent à la régulation du stress oxydant (Kada, 2018).

2.3.2.2. Antioxydants non enzymatiques

Sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs. Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres par les interventions directes sur les molécules prooxydantes ou indirectement, en chélatant les métaux de transition, empêchant ainsi la réaction de fenton (Boubekri, 2014)

2.3.3. Antioxydants exogènes (d'origine végétale)

Plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle sont douées de propriétés antioxydantes. Les fruits et les légumes contiennent une grande variété d'antioxydants comme la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes, les oligoéléments et surtout les polyphénols (Ferradji, 2010)

2.3.4. Activité antioxydant

Glycyrrhizine possède la bonne activité antioxydante car elle a la capacité de piéger les radicaux libres partout où ils sont présents dans la circulation sanguine. L'activité piégeant les radicaux peut être définie comme l'action piégeant le composé sur les ions radicaux libres ou les espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites dans le corps humain (Thakur *et al.*, 2016)

2.4. Activité anti-inflammatoire

2.4.1. Inflammation

L'inflammation est un ensemble complexe d'interaction entre les facteurs solubles et les cellules en réponse à une blessure traumatique, infectieuse, post-ischémique, toxique ou auto-immune (point of control in inflammation) (Carl, 2002).

2.4.2. Activité anti-inflammatoire

La racine de réglisse fait partie des plantes anti-inflammatoires (phytothérapie de l'inflammation). Il est rapporté que l'acide glycyrrhétinique dans l'extrait de réglisse donne un effet anti-inflammatoire semblable aux glucocorticoïdes et aux minéralocorticoïdes. Selon des études *in vitro*, l'acide glycyrrhizique inhibe l'activité de la cyclo-oxygénase et la formation de prostaglandines (spécifiquement la prostaglandine E2). Il est également responsable d'inhiber indirectement l'agrégation plaquettaire (Fouzia, 2019).

2.4.3. Les types de l'anti-inflammatoire

2.4.3.1. Anti-inflammation stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes sont des molécules synthétiques dérivées des hormones naturelles (cortisone et cortisol) ou hémi-synthétisés à partir d'extraits animaux ou végétaux. Ils ont des propriétés anti-inflammatoires, antalgiques et immuno-suppressives.

Les AIS empêchent l'activation de la phospholipase A2, en bloquant à la fois la voie des prostaglandines et celles des leucotriènes.

Les glucocorticoïdes agissent à de multiples niveaux sur toutes les phases de l'inflammation qu'elle soit aigue ou chronique. En outre, ils diminuent fortement la migration des polynucléaires et des monocytes, macrophages vers le site inflammatoire ainsi que la production des médiateurs inflammatoires, comme l'histamine, la sérotonine, la bradykinines, les cytokines et les ions superoxyde (Kada, 2018).

2.4.3.2. Anti-inflammation non stéroïdiens

Dans le processus de la réaction inflammatoire, au cours de la phagocytose et de la synthèse des différents dérivés de l'acide arachidonique, il y a une libération de superoxydes à action pro-inflammatoire d'où l'inflammation. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibent par lipooxygénase la formation de superoxydes. Ils ont également la capacité de stabiliser la membrane lysosomiale empêchant ainsi la libération des composés pro-inflammatoires et d'inhiber l'élaboration des Kinines (Aouissa itian wen, 2001).

2.4.3.3. Anti-inflammatoire d'origine végétale

Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti-inflammatoires. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipooxygénase ainsi que par d'autres mécanismes (Bounihi, 2016).

Deuxième partie.
Partie expérimentale

Chapitre 3.

Matériel et Méthode

3.1. Le Matériel végétal

3.1.1. Récolte et préparation d'échantillon

Au cours de ce travail, nous avons commencé par la récolte des racines de notre plante médicinale (la réglisse). À partir de deux régions Sidi Okba et Oumache wilaya de Biskra en 2019 durant les mois d'Octobre et Novembre. Après la collecte, les racines de plante médicinale étudiée ont été lavées pour se débarrasser des débris et de toute sorte de poussières, puis elles ont été séchées dans l'étuve pendant 5 jours afin d'obtenir un meilleur broyage et garder les substances bioactifs recherchés.

La partie séchée des racines de la plante médicinale étudiée ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre très fine, puis la poudre a été conservée dans des récipients en verre et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'utilisation. (fig.3)

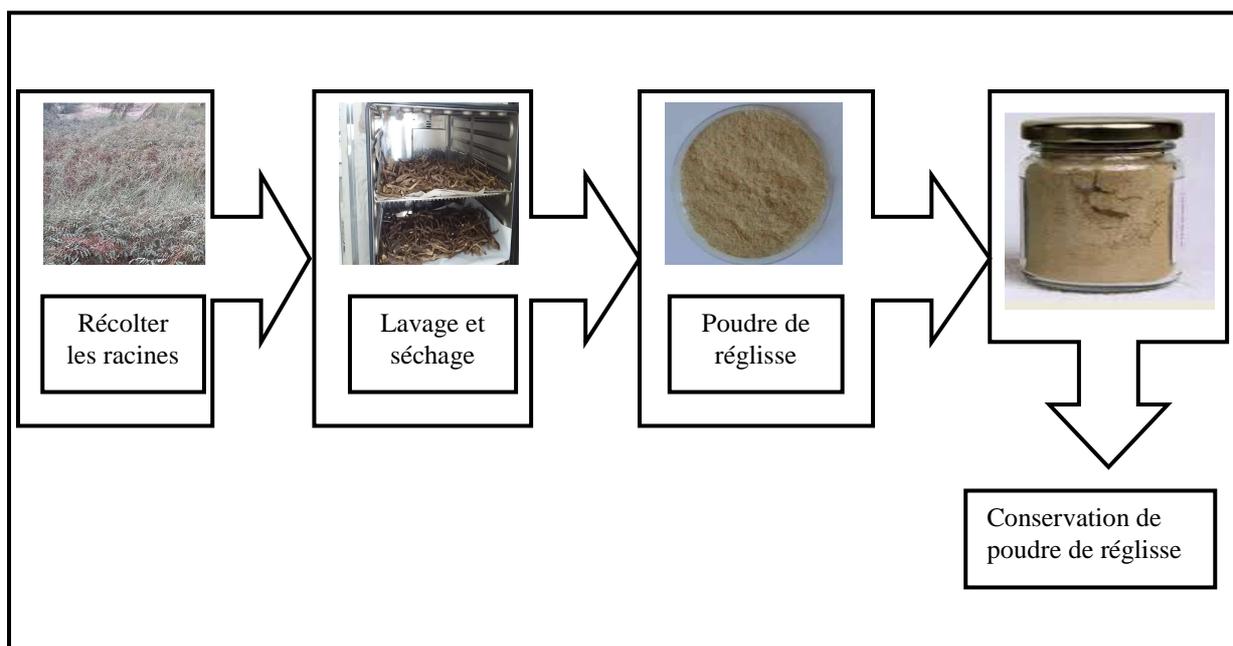


Figure 3. Récolte et préparation d'échantillon

3.1.2. Présentation des zones d'étude

3.1.2.1. La région de Sidi Okba

Situé à 18 km à l'est de la ville de Biskra (Hamamouche *et al.*, 2015), elle occupe une superficie de 254 Km² et une population de 34 804 habitants. La région est caractérisée par un climat aride avec moins de 150 mm de pluie par an et les eaux souterraines constituent la source principale d'irrigation (Bekaddour, *et al.*, 2018).

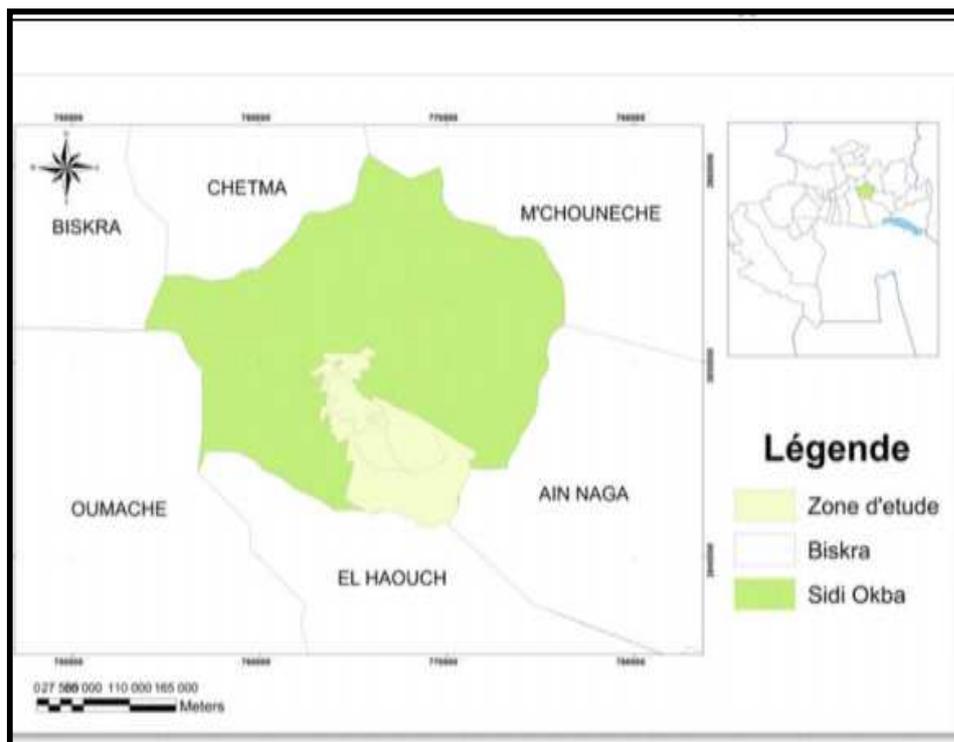


Figure 4. Localisation de la zone d'étude sidi okba (bekaddour, *et al.*, 2018)

3.1.2.2. La région d'Oumache

Le centre est situé au large d'Oumache à 20 km au sud de Biskra et à 35 km au sud-est de Tolga, il couvre une superficie de 828,53 km², c'est donc la plus grande ville de la wilaya de Biskra, c'est un pourcentage de 23.37% du Daira de Ourlal et 3.79% de la surface de la wilaya (Kriker *et al.*, 2013).

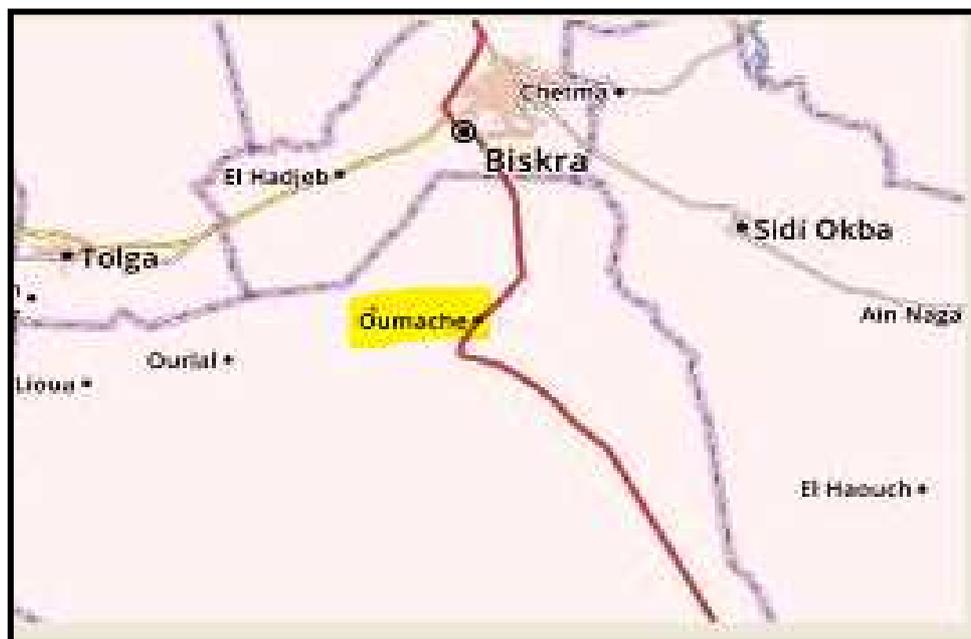


Figure 5. Représentation la zone d'oumache (site web 2)

3.2. Méthodologie

3.2.1. Préparation d'extrait de racine de réglisse

L'extrait de racine de réglisse a été préparé à partir de racines séchées et broyées selon la méthode décrite par Mukhopadhyay et panja (2008) (Abd El-Lahot *et al.*, 2017), (Voir 'annexe 1)

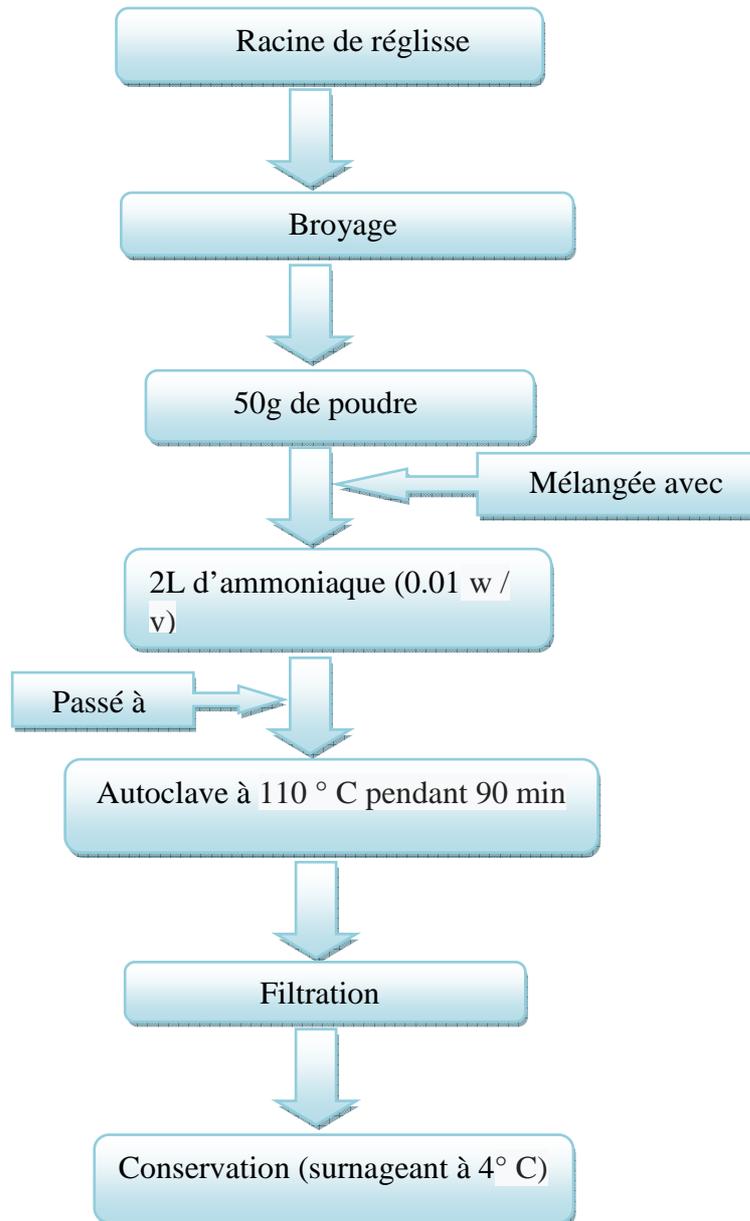


Figure 6. Protocole De préparation de l'extrait aqueux des racines de réglisse.

3.2.2. Extraction de glycyrrhizine

3.2.2.1. Propriété chimique de glycyrrhizine (CSF, 2003)

Tableau 1. Propriété chimique de glycyrrhizine (acide glycyrrhizinic).

Nom de la substance	Glycyrrhizinic acid
Nom chimique	(3-beta, 20-beta)-20-carboxy-11-oxo-30-norolean-12-en-3-yl 2-Obeta-D-glucopyranuronosyl-alpha-D-glucopyranosiduronic acid.
Synonymes	Glycyrrhizin
Formule moléculaire	$C_{42}H_{62}O_{16}$
Masse moléculaire	822.94 g /mol

3.2.2.2. La méthode d'extraction

Le protocole suivi pour l'extraction de glycyrrhizine est le protocole décrit par Mukhopadhyay et Panja (2008) (suivre annexe 2)

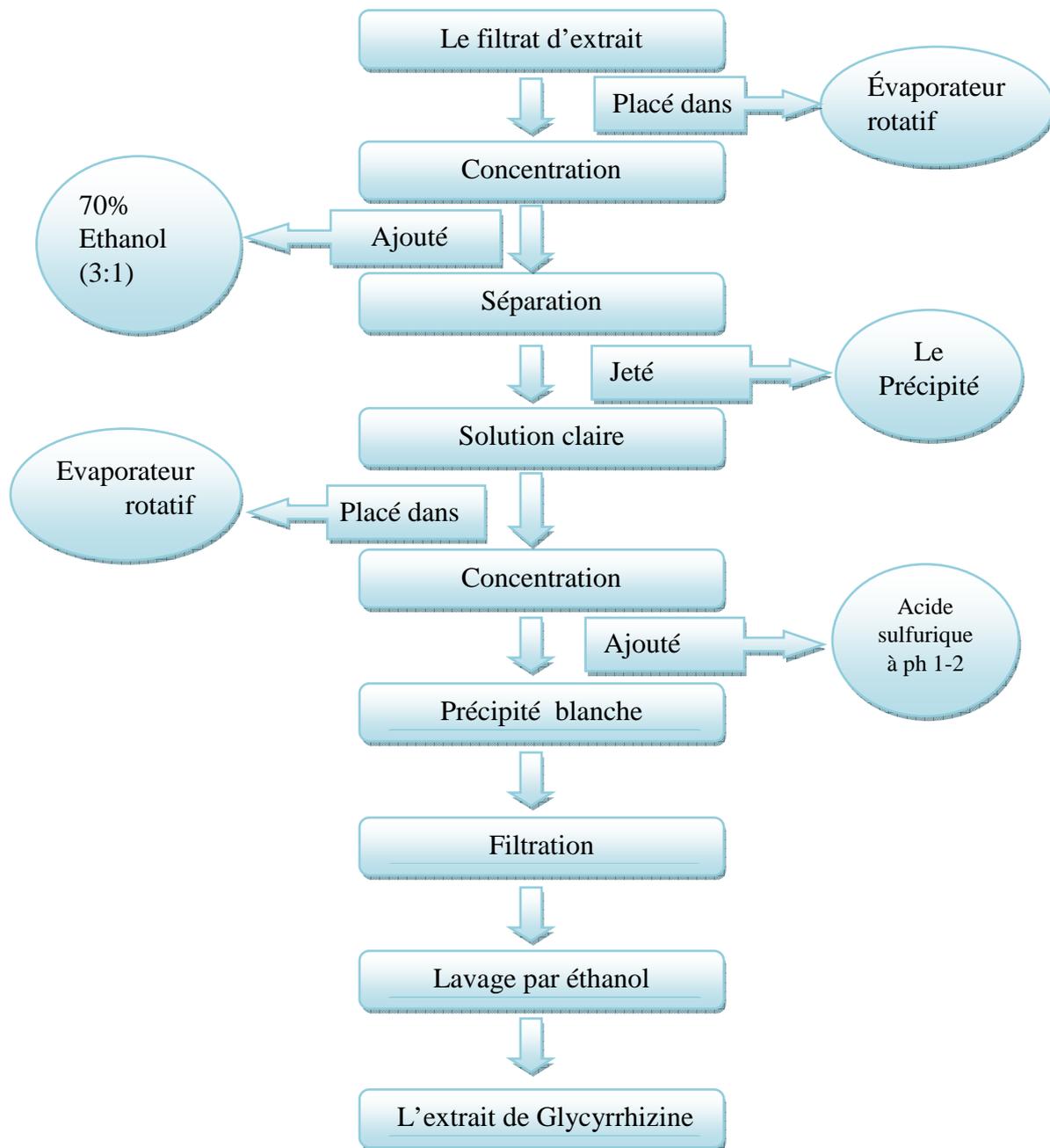


Figure 7. Protocole de l'extraction de glycyrrhizine

Remarque

Des concentrations plus élevées de NH₃ conduisent à la formation d'un précipité sombre de di à trois glycyrrhizinate d'ammonium (Soltani, 2019)

Le rendement en pourcentage(%) de l'extrait de glycyrrhizine a été calculé par la formule qui écrit par Koffi Akessé & Ahoua Angora (2018).

$$\text{Rdt \%} = \text{m/M} * 100$$

Rdt = Rendement

m = masse de glycyrrhizine obtenu

M = masse de la poudre utilisée

3.2.3. Tests phytochimiques

L'étude phytochimique qualitative permet de détecter différentes familles chimiques présentes dans la plante par des réactions de coloration, de précipitation et des observations sous lumière ultra-violette (Bruneton, 1999 ; Harborne, 1998).

3.2.3.1. Test des tanins (test de chlorure ferrique)

La détection des tanins a été réalisée par méthode décrit par Sharma *et al.* (2013) avec une légère modification.

Environ 0,5 µg d'extrait de glycyrrhizine séchés en poudre ont été bouillis dans 20ml d'eau bi distillée dans un tube à essai, puis filtrés. Quelques gouttes de chlorure ferrique à 0,1% ajoutées et observées pour une coloration vert brunâtre ou bleu-noir.

3.2.3.2. Test de saponines (test de mousse)

La détection des saponines a été réalisée par méthode décrit par Chauhan *et al.* (2018) avec une légère modification.

L'extrait de glycyrrhizine a été dissous avec 20ml d'eau distillée et agité pendant 15 min. la formation d'une couche de mousse de 1cm pendant un certain temps a montré la présence de saponines.

3.2.3.3. Test de flavonoïdes (test de shinoda)

La détection des flavonoïdes a été réalisée par méthode décrit par Chauhan *et al.* (2018) avec une légère modification.

Pour effectuer le test de shinoda, l'extrait de glycyrrhizine a été dissous dans l'éthanol, auquel des tournures de magnésium ont été ajoutées. Pour ce mélange, l'acide chlorhydrique été ajouté. Le passage du magenta au violet indique la présence de flavonoïde.

3.2.3.4. Test des Stéroïdes (Test de Salkowski)

La détection des stéroïdes a été réalisée par méthode décrit par Trease & Evans (1978), avec une légère modification .

Les stéroïdes sont mis en évidence par dissoudre chaque extrait dans 1 ml de chloroforme et ajouter 1 ml d'acide sulfurique concentré. Le test positif est révélé par l'apparition d'une couche supérieure de couleur rouge

3.2.3.5. Test des glucides (carbohydrates) (Test de Fehling)

La détection des glucides a été réalisée par méthode décrit par Sharma *et al.* (2013) avec une légère modification.

Au le bain marie, l'extrait a été conservé. A laquelle les solutions de Fehling A et B ont été mélangées. Un précipité rouge brique a montré la présence de sucres réducteurs.

3.2.3.6. Test des alcaloïdes (Test de Mayer)

La détection des alcaloïdes a été réalisée par méthode décrit Alilou *et al.* (2014), avec une légère modification .

A une quantité de 0,5 µg de l'extrait de glycyrrhizine est broyé en poudre. on ajoute 15 ml d'éthanol (70%). Ensuite, les extraits sont laissés en agitation magnétique pendant toute la nuit, décantés et filtrés. L'extrait est évaporé à sec dans le rotavapeur. Le résidu récupéré dans quelques ml de HCl (50%) est ensuite transvasé dans deux tubes à essai ; l'un est utilisé comme témoin et à l'autre on ajoute le réactif de Mayer. L'apparition de précipité blanc traduit la présence des alcaloïdes.

3.2.3.7. Test de protéines (Test de biuret)

La détection des protéines a été réalisée par méthode décrit par Sharma *et al.* (2013) avec une légère modification

Environ 2ml de filtrat ont été traités avec 2ml d'une solution d'hydroxyde de sodium à 10% dans tube à essai et chauffés pendant 10 minutes. Une goutte de solution de sulfate de cuivre à 7% a été ajoutée dans ci-dessus le mélange. La formation de la couleur violet violacé indique la présence de protéines.

3.2.4. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes d'extrait de glycyrrhizine a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium.

Mode opératoire

Une quantité de 100µl de l'extrait de glycyrrhizine a été mélangée avec 0.4 ml d'eau distillée et par la suite avec 0.03 ml d'une solution de nitrite de sodium NaNO_2 à 5%. Après 5 min, 0.02ml d'une solution d' AlCl_3 à 10% a été ajouté. On additionne au mélange 0.2ml de solution de Na_2CO_3 1M et 0.25ml d'eau distillée après 5min de repos. L'ensemble est agité à l'aide d'un vortex et l'absorbance a été mesurée à 150 nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent de quercétine par g d'extrait de glycyrrhizine (Bougandoura & Bendimerad, 2013).

3.2.5. Dosage des saponines

Mode opératoire

La teneur estimée en saponines totales a été déterminée par la méthode décrite par Makkar (2007). À base de réaction colorimétrique d'acide vanillinsulfuric avec quelques modifications.

Environ 50µl de l'extrait de glycyrrhizine ont été ajoutés avec 250 µl de réactif de vanilline (800 mg de vanilline dans 10 ml d'éthanol à 99.5%) ont été ajoutés. Ensuite, 2,5 ml d'acide sulfurique à 72% ont été ajoutés et ils ont été bien mélangés. Cette solution a été maintenue dans un bain-marie à 60C° pour 10 minutes. Au bout de 10 minutes, il a été refroidi dans de l'eau glacée et l'absorbance a été lue à 544 nm. Les valeurs étaient exprimée en microgrammes équivalents de diosgénine ($\mu\text{g DE} / \text{g d'extrait}$) dérivée d'une courbe standard (Makkar *et al.*, 2007).

3.2.6. Evaluation l'activité antioxydant

A cause de la propriété essentielle de l'antioxydant (piégeur des radicaux libres), plusieurs méthodes ont été mises en évidence pour évaluer l'efficacité de l'antioxydant à piéger les radicaux libres.

- Test de DPPH
- Test d'ABTS

3.2.6.1. Test d' DPPH (1, 1-diphenyl-2- picrylhydrazyl)

Cette méthode a été développée par Blois (1958) dans le but de déterminer l'activité antioxydant d'une manière similaire en utilisant un radical libre stable 1 α , α -diphenyl-

β picrylhydrazyl (DPPH; C₁₈H₁₂N₅O₆, M=394.33). Le test est basé sur la mesure de la capacité de piégeage des antioxydants à son égard (Sagar *et al.*, 2011)

Mode d'opérateur

En bref, l'extrait de glycyrrhizine séchée a été diluée avec du méthanol (200, 400, 600, 800 et 1000 μ g/ml). 2ml de l'échantillon dilué a été mélangé avec 1ml de DPPH à 0,004% dans du méthanol et maintenu dans l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance a été mesurée à 516 nm en utilisant un spectrophotomètre UV. L'acide ascorbique a été utilisé comme étalon de référence (Thakur *et al.*, 2016)

3.2.6.2. Test d'ABTS (2, 2-azino-bis-3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid

L'ABTS est la méthode simple, rapide, fiable et peu coûteuse pour évaluer la capacité antioxydante totale des extraits d'herbes médicinales à grande échelle, qui est également très adaptable aux systèmes antioxydants hydrophiles et lipophiles. Cette méthode efficace et efficiente pourrait être utilisée pour le dépistage systématique des herbes médicinales et des plantes comestibles pour leur teneur relative en antioxydants (Velvizhi & AnnapuranI, 2018).

Les radicaux ABTS⁺ sont plus réactifs que les radicaux DPPH Et contrairement aux réactions avec le radical DPPH, qui impliquent un transfert d'atome H, et les réactions avec les radicaux ABTS⁺ impliquent un processus de transfert d'électron (Tohma & Gulçin, 2010).

Mode Opérateur

L'extrait de glycyrrhizine a été diluée avec du méthanol (50, 100, 150, 200, 250 et 300 μ g/ml). 400 μ l d'échantillon dilué ont été mélangés avec 3.6 ml de la solution d'ABTS diluée (2.5 mM) de persulfate de potassium ont été ajoutés dans 7mM ABTS dans le rapport de 1 :1, v/v et maintenus pendant une nuit à 30 °c dans l'obscurité). Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre et comparée au Trolox qui a été pris comme référence standard.

% d'activité antiradicalaire de deux tests DPPH et ABTS

$$PI = (A_0 - A_1) / A_0 * 100$$

PI : pourcentage d'inhibition

A₀ : absorbance de la solution d'ABTS⁺ ou de DPPH pure

A1 : absorbance de la solution d'ABTS⁺ ou de DPPH après ajout de l'extrait testé à une concentration donnée et après un temps donné (Sarr *et al.*, 2015).

3.2.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* de GA a été évaluée par la technique de dénaturation de l'albumine donnée par Mizushima et Kobayashi avec une légère modification.

Mode opératoire

L'extrait de glycyrrhizine a été mélangé avec une solution aqueuse à 1% d'albumine bovine fœtale. Le pH de mélange a été ajusté en utilisant 0.1% NHCL ; la solution a été maintenue dans incubateur à 37°C pendant 20 min. Ensuite la dénaturation a été induite en gardant le mélange réactionnel à 60±1°C au bain marie pendant 10 min.

Le mélange a été refroidi et la turbidité a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV. Le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant l'équation suivante. Pour cela, l'acide salicylique a été considéré comme standard et la solution ne contenant aucun médicament n'a été considérée comme témoin (Chauhan *et al.*, 2018)

$$\% \text{ inhibition} = (\text{Absorbance du contrôle} - \text{Absorbance de l'échantillon}) * 100 / \text{Absorbance du contrôle}.$$

Chapitre.4

Résultats

4.1. Rendement de glycyrrhizine

Les résultats des différents rendements de l'extrait de glycyrrhizine sont calculés à partir de la matière végétale sèche des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. sont représentés dans la figure suivant :

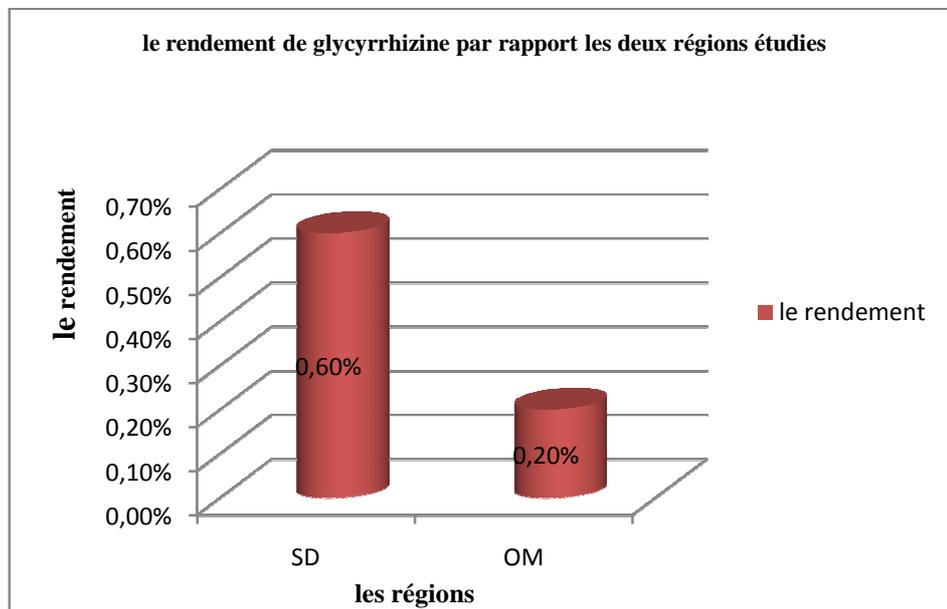


Figure 8. Représent le rendement des extraits de glycyrrhizine de deux régions sidi okba et oumache.

Le rendement est exprimé en pourcentage de masse de glycyrrhizine par rapport à la masse de la plante sèche.

Nos résultats obtenus montrent que les rendements de glycyrrhizine de la zone de Sidi Okba sont plus élevés que celui de rendement de glycyrrhizine de la zone d'Oumache. Les proportions sont respectivement (0,6% - 0,2%).

Le tableau 2 résume les caractéristiques de l'extrait de la réglisse pour les deux régions

Tableau 2. Les caractéristiques de la réglisse pour les deux régions

Caractéristique	aspect	La couleur	L'odeur
La réglisse de Sidi Okba	poudre	Marron foncé	Très forte
La réglisse d'Oumache	Poudre	Marron	Moyen

4.2. Test phytochimiques

Les résultats du screening phytochimique réalisé sur les deux extraits des glycyrrhizine sont représentés dans le tableau 3. Nous remarquons que les deux extraits sont riches en flavonoïdes, saponines, stéroïdes. De même les carbohydrates sont présent seulement dans les glycyrrhizine de la région de Sidi Okba, alors que les alcaloïdes, les tannins et protéine sont absent dans les deux extraits.

Tableau 3. Criblage Phytochimique des extraits de glycyrrhizine de deux régions

Constituants végétaux	Test / réactif	Région de Sidi Okba	Région Oumahe
Stéroïdes	Test de Salkowski	+	+
Alcaloïdes	Test de Mayer's reagent	-	-
Tannins	Test de Ferric chloride	-	-
Saponines	Test de foam	+++	++
Flavonoïdes	Test de shinoda	++	+
Protéines	Test de biuret	-	-
Carbohydrates	Test de fehling	+	-

+: présent

- : absent

4.2.1. Teneur en flavonoïdes

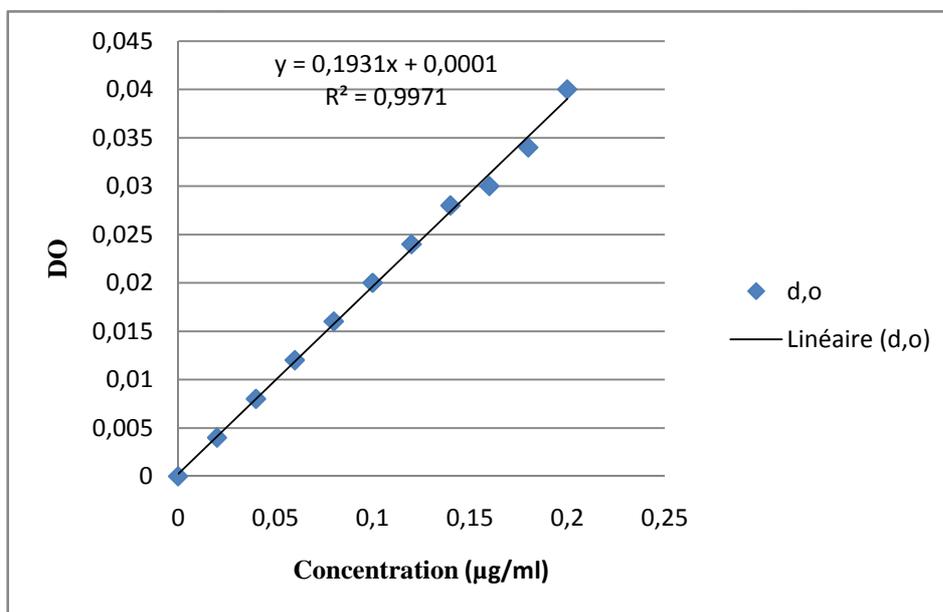


Figure 9. Courbe d'étalonnage pour le dosage de flavonoïde.

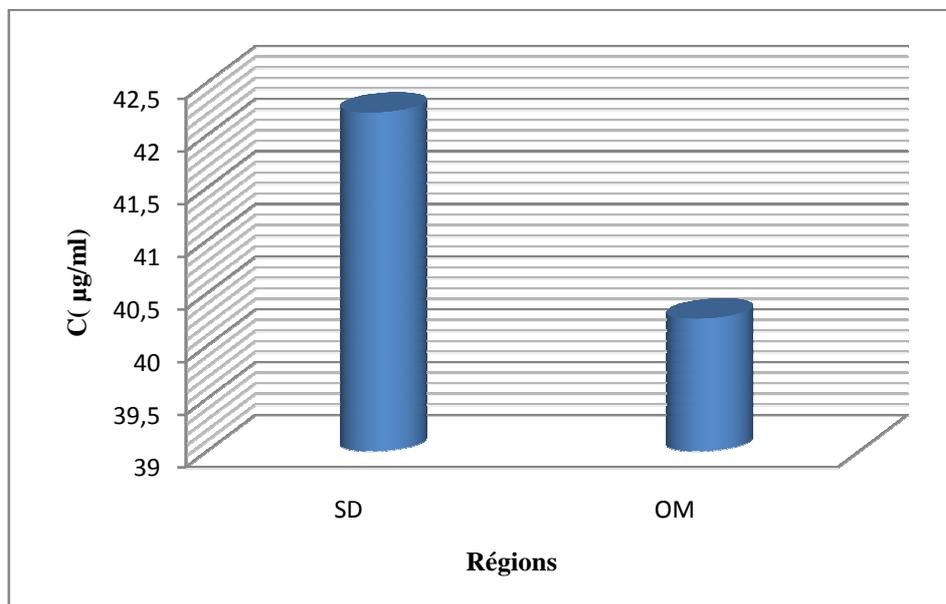


Figure 10. Teneur des flavonoïdes dans les extraits de glycyrrhizine de deux régions

Nos résultats montrent que l'extrait de glycyrrhizine de la région de Sidi Okba possède une teneur en flavonoïde plus élevée avec (42,213µg/ml), par rapport à la glycyrrhizine de la région d'Oumache avec teneur (40,257 µg/ml).

4.2.2. Teneur en saponines

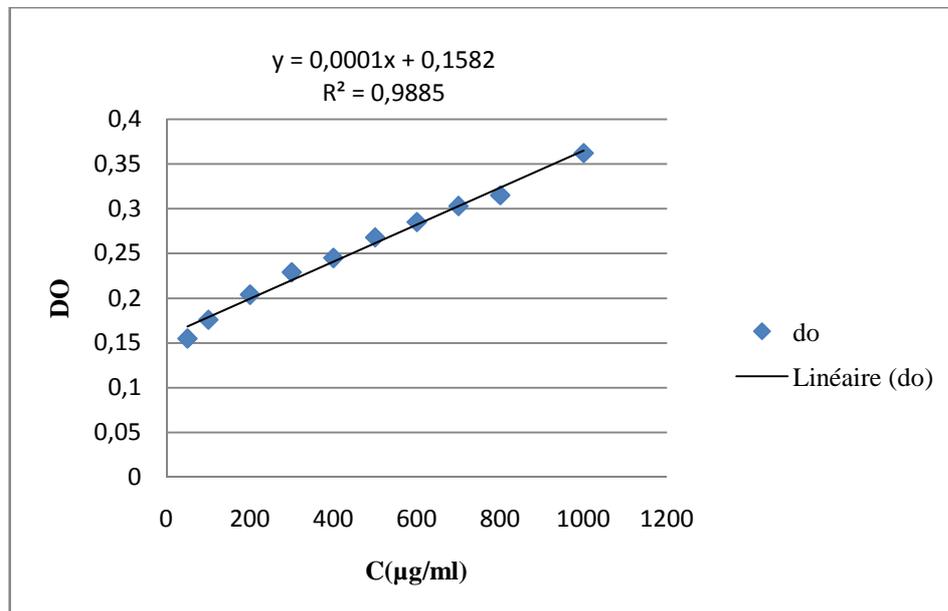


Figure 11. Courbe d'étalonnage pour le dosage de saponine

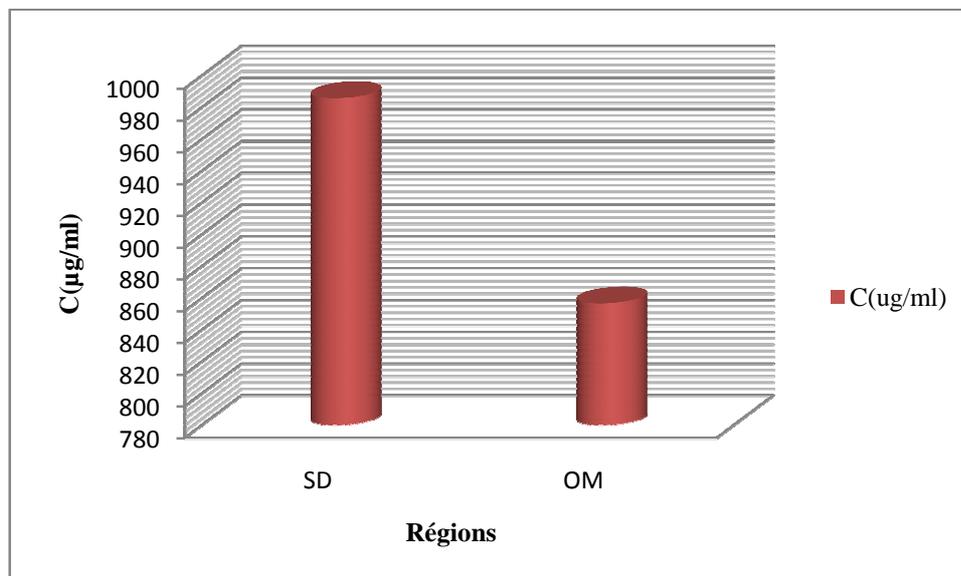


Figure 12. Teneur des saponines dans l'extrait de glycyrrhizine de deux régions.

Pour le dosage de saponine, les résultats obtenus montre que l'extrait de glycyrrhizine de la région de Sidi Okba possède une meilleure teneur en saponine (985,561 $\mu\text{g/ml}$), que l'extrait de glycyrrhizine de la région Oumache (856,423 $\mu\text{g/ml}$).

4.3. Résultats du test du pouvoir antioxydant

4.3.1. Estimation du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH

L'activité antioxydante de la glycyrrhizine. Et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH à été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm (Figure 11). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires, pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit le paramètre IC50.

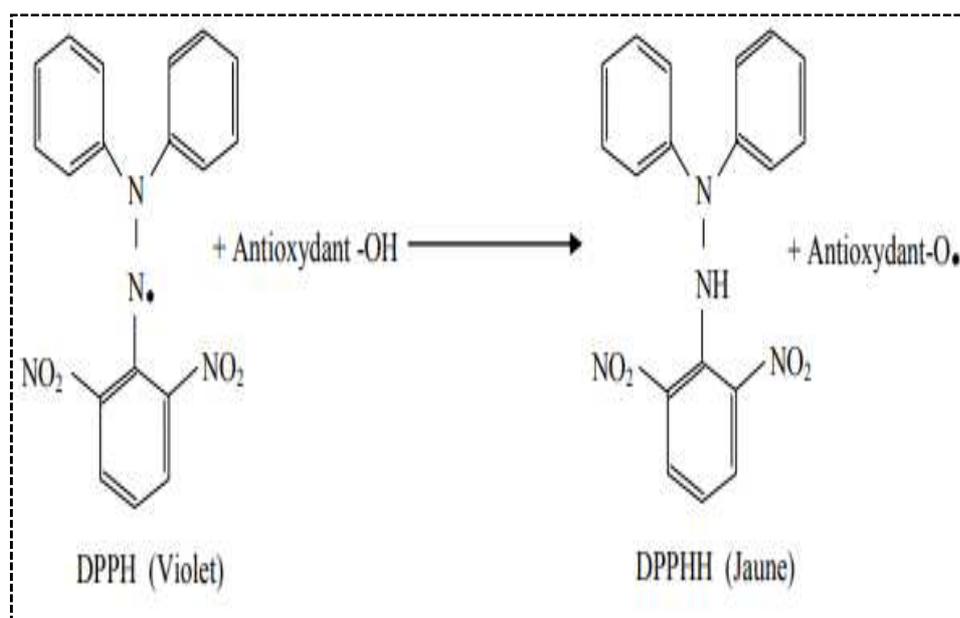


Figure 13. Réaction d'antioxydant avec le radical DPPH (talbi *et al.*, 2014).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation:



Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphenyle picryl hydrazine (jaune) (Brand-Williams *et al.*, 1994).

4.3.1.1. Les résultats de test avec le radical DPPH

Les résultats des tests d'inhibition de l'absorbance du radical DPPH, par l'extrait de glycyrrhizine obtenu à partir des racines de réglisse, sont présentés dans la courbe suivante.

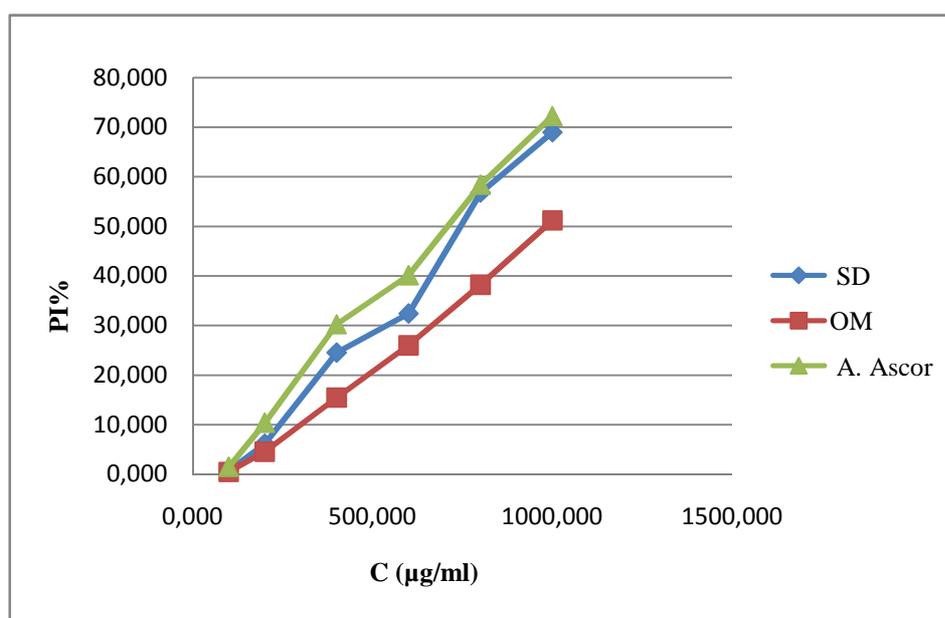


Figure 14. Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration de l'extrait de glycyrrhizine de deux régions (sidi okba et oumache) et l'acide ascorbique.

Les résultats de l'activité anti radicalaire obtenus, montre que l'extrait de la glycyrrhizine possèdent une activité anti radicalaire dépend à la dose.

L'extrait de la glycyrrhizine de Sidi Okba monté une activité supérieure à celui d'Oumache.

L'extrait de la glycyrrhizine de Sidi Okba atteint presque son maximum d'activité à 1000µg/ml. Avec un pourcentage d'inhibition (PI) de (68,968%), quant l'extrait de la glycyrrhizine d'Oumache son PI le plus important (51,187%) est observé à la concentration de (1000µg/ml).

Acide ascorbique utilisé comme antioxydant standard présente une activité inhibitrice supérieure à celle du glycyrrhizine de deux régions.

4.3.1.2. Détermination d'IC50

L'IC50 est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Khoudali *et al.*, 2014)

Les valeurs des IC50 présentées dans le tableau 04, nous permettent d'évaluer et de comparer l'efficacité des deux solutions.

Tableau 4. Les IC 50 des extraits de glycyrrhizine de deux régions avec le standard acide ascorbique

Extrait de :	IC 50 (µg/ml)
Sidi Okba	757,325
Oumache	1007,357
AC. Ascorbique	711,45

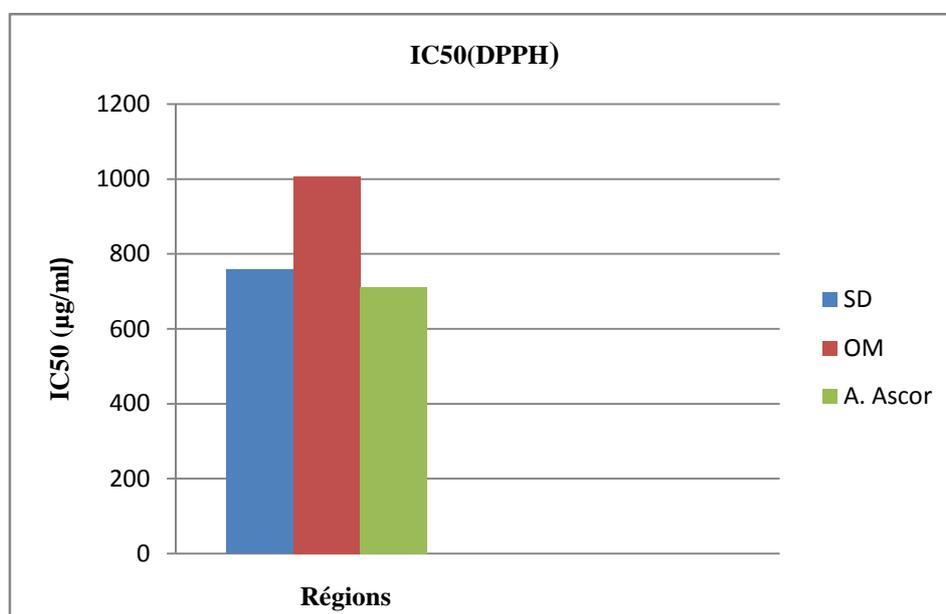


Figure 15. Concentration efficace de l'extrait de la glycyrrhizine qui cause la réduction de 50 % du DPPH de deux régions (sidi okba et oumache) et l'acide ascorbique.

Les résultats obtenus, montre que les concentrations faibles d'IC50 observer dans l'acide ascorbique (711,45 $\mu\text{g/ml}$) et dans la région de Sidi Okba (757,325 $\mu\text{g/ml}$) contre la région d'Oumache qui possède un IC50 plus élevée (1007,357 $\mu\text{g/ml}$).

D'après ces résultats ; nous avons conclu que :

Le standard a un IC50 le plus petit ; présente la bonne activité antioxydant par rapport les extraits de glycyrrhizine de deux régions.

Pour la comparaison entre les deux extraits de deux régions nous avons trouvé que l'extrait de la glycyrrhizine de la région de Sidi Okba présente une meilleure activité antioxydant par rapport à l'extrait de glycyrrhizine d'Oumache.

4.3.2. Estimation du pouvoir antioxydant par la méthode d'ABTS

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS \cdot^+ de coloration bleu verdâtre. Ce radical cationique est formé suite à l'oxydation de l'ABTS initialement incolore avec les différents composés comme le phosphate de potassium (KH_2PO_4) et le 2,2-azo-bis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH). Ainsi, la réaction se déroule en deux étapes : au cours de la première étape le radical est ABTS \cdot^+ formé par arrachement d'un électron e^- à un atome d'azote de l'ABTS. La deuxième se déroule en présence de vitamine C (ou d'antioxydant donneur de $\text{H}\cdot$; Trolox dans notre protocole), le radical d'azote concerné piège un $\text{H}\cdot$ conduisant à l'ABTSH $^+$, ce qui entraîne la décoloration de la solution (Ghnimi, 2015).

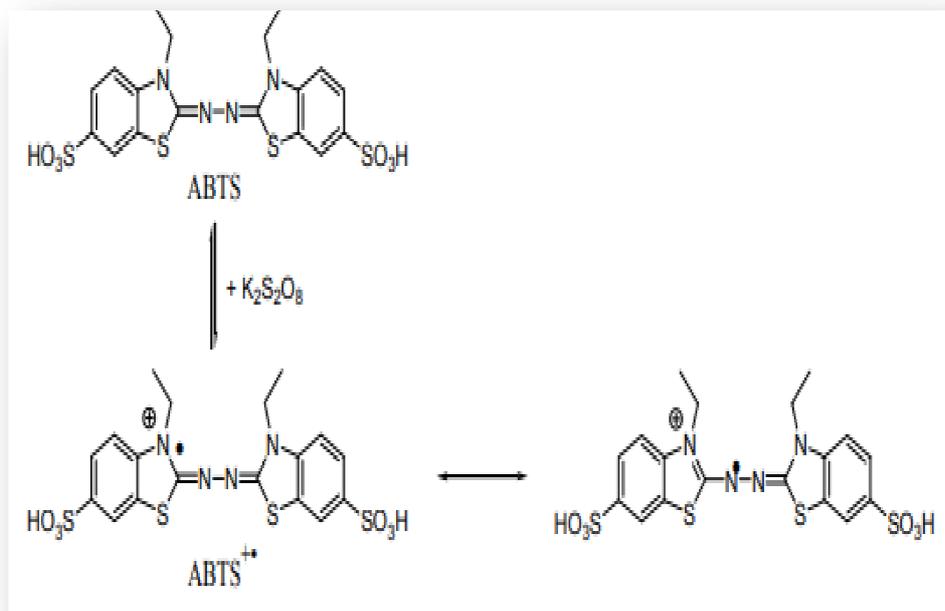


Figure 16. Formation du radical cation $abts^{\bullet+}$ à partir de l'abts (sarr *et al.*, 2015)

4.2.2.1. Les résultats de test avec le radical ABTS

Les résultats des tests d'inhibition de l'absorbance du radical ABTS, par l'extrait de la glycyrrhizine obtenu à partir des racines de réglisse sont présentés dans la courbe suivante.

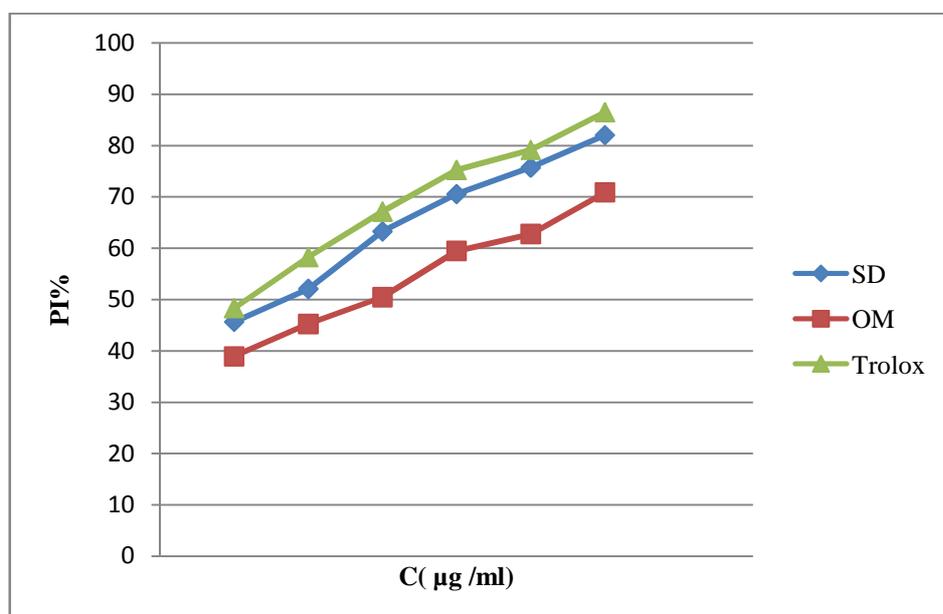


Figure 17. Pourcentage d'inhibition d' ABTS en fonction de la concentration de l'extrait de glycyrrhizine de deux régions (sidi okba et oumache) et trolox.

4.3.2.2. Détermination d'IC50

Les valeurs des IC50 pour le test d'ABTS sont présentées dans le tableau 05, nous permettent d'évaluer et de comparer l'efficacité des deux solutions.

Tableau 5. Les IC50 des extraits des glycyrrhizines de deux région avec letrox par le test « ABTS »

Extrait de :	IC50(ABTS) (µg/ml)
Sidi Okba	75,27
Oumache	138,809
Trolox	47,383

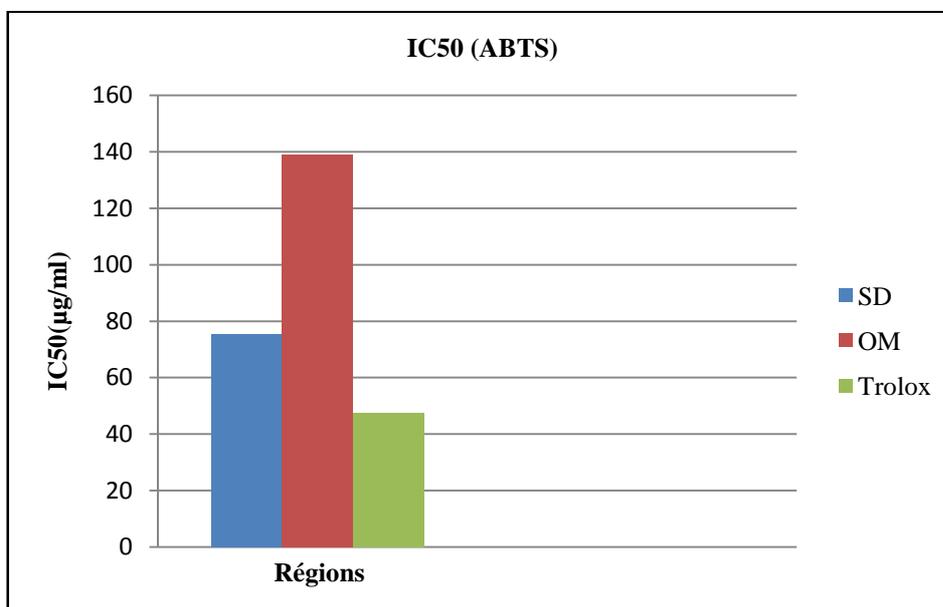


Figure 18. Concentration efficace du l'extrait de glycyrrhizine qui cause la réduction de 50 % de l'abts de deux régions (sidi okba et oumache) et trolox.

Les résultats obtenus montrent que :

L'extrait de glycyrrhizine de la région d'Oumache a présenté une activité faible par rapport à celle de Sidi Okba avec des IC₅₀ de 138,809 µg/ml et 75,27 µg/ml respectivement.

En comparaison avec l'antioxydant standard (Trolox), l'extrait de glycyrrhizine de la région Oumache est le plus faible, et le standard est le plus fort

4.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro

4.3.1. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique

Les résultats de l'effet protecteur de l'extrait de glycyrrhizine contre la dénaturation protéique causée par la chaleur sont représentés dans la figure suivante

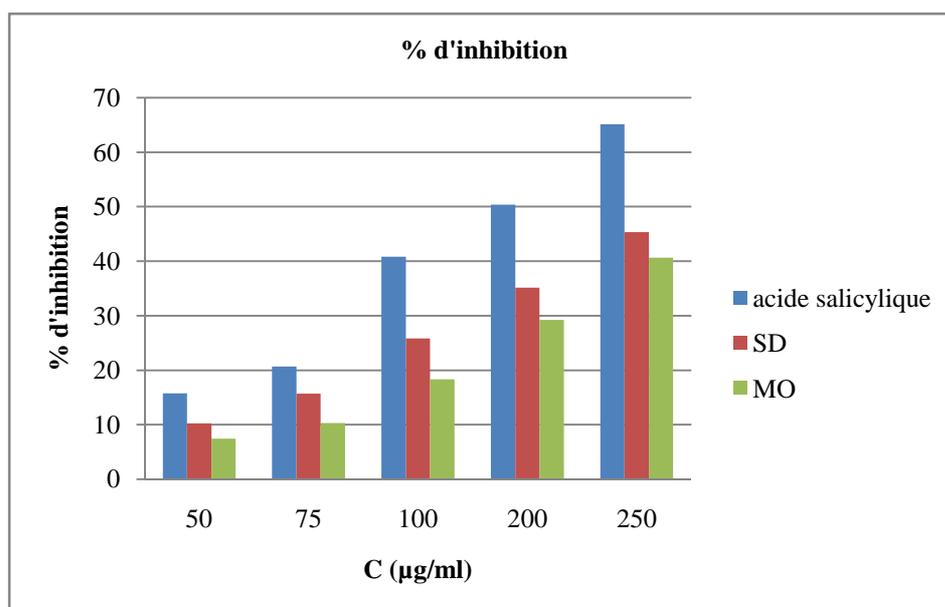


Figure 19. L'effet de l'extrait sur l'inhibition de la dénaturation des protéines

Les études anti-inflammatoires in vitro ont été menées pour relier l'activité anti-inflammatoire de l'AG à l'acide salicylique comme standard (le plus couramment utilisé comme agent anti-inflammatoire), Le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant l'absorbance.

D'après l'histogramme de pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique, on observe que l'extrait de glycyrrhizine de la région de Sidi Okba présente une inhibition

maximale de la dénaturation des protéines à un pourcentage de 45,325% à 250 µg/ml par rapport l'extrait de glycyrrhizine de la région d'Oumache qui présente une valeur inférieure

(40,625%) pour la même concentration.

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que la glycyrrhizine possède une activité anti-inflammatoire.

Chapitre 5.

Discussion des Résultats

5. discussion des résultats

Dans la littérature, très peu d'études ont été faites sur l'espèce *Glycyrrhiza glabra* L. de l'Algérie, ce qui nous a poussés à l'étudier et à l'explorer. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à faire l'extraction de glycyrrhizine des racines de cette plante à partir de deux régions (Sidi Okba et Oumache) et étudier leur activités biologiques, en évaluant son activité antiradicalaire et l'activité anti-inflammatoire.

5.1. Le rendement

L'utilisation de la poudre à la place de la plante entière a pour but d'améliorer l'extraction du fait de rendre l'échantillon plus homogène, augmenter la surface du contact avec le solvant et faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage (Mohammedi, 2013).

D'après les résultats des expériences sur l'extraction de la glycyrrhizine de la réglisse de deux régions. Nous avons obtenus que l'extrait de glycyrrhizine de Sidi Okba (0,6%) été plus important par rapport à l'extrait de glycyrrhizine de la réglisse d'Oumache (0,2%).

Cette différenciation de rendements entre les deux régions pourrait être expliquée par :

Kelen et Tepe (2008) ; montrent que les choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et qualité d'extrait végétale, le climat, la zone géographique l'organe de plante utilisé, la période de séchage, la méthode d'extraction, ce sont des facteurs entre autres qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements en extrait végétal.

Endrias (2006) ; montre que les conditions pédologiques optimales, le type de sol, de drainage, rétention de l'humidité, fertilité, pH seront dictées par l'espèce de plantes médicinales ou aromatiques choisies et ou par la partie de la plante que l'on souhaite récolter. Il est souvent indispensable d'utiliser des engrais pour obtenir des rendements élevés.

Feknous (2013) ; indique que ces variations du rendement peuvent être attribuées aux facteurs écologiques et environnementaux. Ce rendement peut varier d'une part, d'une région à une autre, selon les facteurs pédoclimatiques.

5.2. Tests phytochimiques

Les analyses phytochimiques sur les extraits des végétaux est une étape préliminaire et d'une grande importance puisqu'elle révèle la présence des constituants connus par leur activités physiologiques et leur vertus médicinales (Sofowra, 1993).

Les caractéristiques phytochimiques d'échantillons de glycyrrhizine en poudre séchée ; a indiqué la présence de flavonoïdes, saponines, stéroïdes, et de sucres glucidiques mais pas des alcaloïdes, de tanins et de protéines.

La présence de composés chimiques (flavonoïdes, saponines, stéroïde) révèle dans les deux extraits de glycyrrhizine. La richesse de ces extraits organiques en composés chimiques actifs pourrait expliquer l'utilisation traditionnelle de cette plante pour soigner de nombreuses maladies telles que le diabète et l'ulcère gastrique. De nombreux travaux ont montré que ces métabolites secondaires sont des indicateurs importants pour certaines activités pharmacologiques (Leong & Shui, 2002).

5.3. Dosage des flavonoïdes et des saponines

Parmi l'ensemble des métabolites secondaires, nous a semblé intéressant de déterminer dans nos extraits le taux de flavonoïdes et de saponines.

L'analyse quantitative des deux extraits a montré que l'extrait de glycyrrhizine de Sidi Okba renferme les teneurs soit : les flavonoïdes ou les saponines, plus élevées par rapport à l'extrait de glycyrrhizine de Oumache.

Pour la teneur de flavonoïde nous avons obtenu de l'extrait de Glycyrrhizine de sidi okba (42,213 μ g/ml) et (40,257 μ g/ml) pour l'extrait d'Oumache. Et pour la saponine, obtenu (985,561 μ g/ml) de l'extrait de sidi Okba et (856,423 μ g/ml) pour l'extrait de Oumache.

Nous remarquons aussi que la concentration des flavonoïdes est plus faible que celle des saponines, ceci nous permet de penser que les saponines sont la famille la plus représentatif dans l'extrait de glycyrrhizine.

La présence de flavonoïdes dans les plantes est probablement responsable de l'activité de piégeage des radicaux libres. Les flavonoïdes sont des composés phénoliques et les composés phénoliques végétaux constituent un groupe majeur de composés qui agissent comme des antioxydants primaires ou des piègeurs de radicaux libres (Ali *et al.*, 2013).

La teneur en saponine des plantes est variable et peut être influencée par les facteurs environnement. Le géoclimat local, les changements saisonniers, les conditions extérieures telles que la lumière, la température, l'humidité et la fertilité du sol, ainsi que les techniques culturales, affectent à la fois le montant quantitatif et composition qualitative des saponines. Une telle variation a un impact considérable sur la qualité et les propriétés des plantes sauvages et cultivées exploités à des fins pharmaceutiques (Szakiel *et al.*, 2011).

Grâce aux résultats obtenus, nous concluons qu'il ya des facteurs pouvant influencer sur la teneur en composés phénoliques comme les facteurs extrinsèques (facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (Bouزيد *et al.*, 2011), et aussi le moment de la récolte, le solvant d'extraction, les conditions de stockage (Fadili *et al.*, 2015).

5.4. L'activité antioxydant

Les résultats de l'activité réductrice, obtenus selon la méthode décrite par Thakur (2008)

Pour les deux tests : DPPH et ABTS montre que la glycyrrhizine de la région de Sidi Okba présente une meilleure activité antioxydant par rapport à la glycyrrhizine d'Oumache, comme nous sommes observés dans les figures 14 et 19 respectivement, ce différent réside soit:

- Dans les conditions de la vie de cette plante dans les deux régions : le type de sol ; l'eau, pH.
- Dans la richesse des racines de réglisse de Sidi Okba en composé phénoliques représentent majoritairement par la flavonoïde et les saponines avec une quantité plus élevée par rapport à la réglisse d'Oumache, comme indique dans les résultats que l'extrait de la glycyrrhizine de Sidi Okba montre la présence des teneurs de flavonoïdes, saponines, stéroïdes avec une teneur supérieure, par rapport à la glycyrrhizine d'Oumache.

Les valeurs de piégeage des radicaux dépendent de la localité, de la polarité d'extraction du solvant et des parties de la plante utilisées dans l'extraction (Thakur *et al.*, 2016).

Les composés antioxydants peuvent piéger les radicaux libres et augmenter la durée de conservation en retardant le processus de la peroxydation lipidique, qui est l'une des

principales raisons de la détérioration des aliments et produits pharmaceutiques pendant le traitement et le stockage, les antioxydants aussi peuvent protéger le corps humain contre les radicaux libres et les effets ROS (Tohma & Gulçin, 2010).

Les résultats des tests antiradicaux DPPH et ABTS pour les extraits des glycyrrhizines de deux régions Sidi okba et Oumache montrent que l'extrait de glycyrrhizine de Sidi Okba présente une capacité élevées par rapport à celle de Oumache

5.5. Activité anti-inflammatoire

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leurs structures tertiaire et secondaire par l'application d'un stress externe ou d'un composé tel que l'acide fort ou la base, d'une concentration en sel inorganique, un solvant organique ou par la chaleur dont la plupart des protéines perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées (Marliyah & ananthi, 2015)

La dénaturation des protéines est une cause de l'inflammation bien documentée, elle peut être à l'origine de la production d'auto-antigènes dans certaines maladies arthritiques comme la polyarthrite rhumatoïde (Mizushima & Kobayashi, 1968), elle a été utilisée dans le cadre de l'enquête sur les mécanismes de l'activité anti-inflammatoire in vitro (Govindappa *et al.*, 2011) .D'après les résultats obtenus dans notre étude, les pourcentages d'inhibition de la dénaturation protéique pour les deux régions Sidi Okba et Oumache dans la concentration 250µg/ml sont (45,325% et 40,625%) respectivement, elles ont moins de propriété inflammatoire que le standard, lorsque on le compare à ceux obtenus pour acide salicylique, un médicament anti-inflammatoire utilisé comme standard qui exercé un pourcentage d'inhibition de 65,123%, à la même concentration.

Chauhan *et al.* (2018) dit que l'extrait de glycyrrhizine capable de montrer un pourcentage significatif de propriété inflammatoire, quand elle est moins de propriété anti-inflammatoire que le standard.

Aussi les résultats obtenus indiquent que l'extrait de glycyrrhizine de la région de Sidi Okba montre une propriétés anti-inflammatoire meilleure par rapport à l'extrait de glycyrrhizine d'Oumache.

La différence de l'activité anti-inflammatoire entre les deux extraits de glycyrrhizine ; il peut retour à les effets des conditions de travaille (comme la température, le temps d'incubation...ect.) ou bien l'extrait de glycyrrhizine de Sidi Okba a un effet anti-

inflammatoire important que l'extrait de glycyrrhizine de Oumache puisque l'extrait de glycyrrhizine de Sidi Okba est plus riche en flavonoïdes et saponines par rapport l'extrait de de Oumache .

Plusieurs médicaments anti-inflammatoires ont montré une capacité de concentration-dépendante pour inhiber la dénaturation des protéines provoquées thermiquement (Grant *et al.*, 1970). Cette inhibition était le principal mécanisme d'action des AINS posés par (Mizushima & Kobayashi, 1968), avant la découverte de leur effet inhibiteur de la cyclo-oxygénase par (Vane, 1971).

Conclusion

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

Dans le but de rechercher de nouvelles molécules à intérêt thérapeutique, nous nous sommes extraites la glycyrrhizine à partir de réglisse est une plante de la famille des légumineuses. Un extrait aqueux a été préparé à partir de la racine de cette plante, cet extrait est utilisé après pour l'extraction de glycyrrhizine, est le principal constituant actif biologique de la réglisse et largement utilisé dans les industries alimentaires comme additif édulcorant et dans nombreux pays la glycyrrhizine utilisé comme un traitement. Les caractéristiques phytochimiques d'échantillon de glycyrrhizine en poudre séchée ont été étudiées par une méthode colorimétrique a indiqué la présence de saponines, de flavonoïdes, de stéroïde et de sucres glucidiques. Les flavonoïdes et les saponines sont des phytoconstituants importants trouvés dans les plantes et responsable dans l'activité de piégeage des radicaux libres ; la glycyrrhizine a également été évalué pour son activité anti-inflammatoire en utilisant une analyse in vitro qui a prouvé sa capacité à contrer l'activité inflammatoire.

Dans ce travail nous avons comparé le rendement et l'activité antioxydant et anti-inflammatoire de l'extrait de la glycyrrhizine des deux régions dans la même condition climatique.

Les résultats obtenus montrent que la région de Sidi Okba possède un meilleur rendement et une teneur élevé en flavonoïde et saponine qui donne une capacité antioxydante plus forte que la région d'Oumache ; le même résultat obtenu aussi dans l'activité anti-inflammatoire.

Cette étude reste préliminaire et plus superficielle, donc, elle nécessite d'autres études approfondies. Nous suggérons la réalisation des nouvelles techniques d'extraction comme l'ultrasonication et des autres méthodes telles que les analyses qualitatives par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) pour connaît les molécules actifs précis de cette plante .

La bibliographie

1. Abd El-Lahot M. S., Amal M. Abd El-Razek., Mona I. Massoud ., E. G. Gomaa. 2017. Utilization of glycyrrhizin and licorice extract as natural sweetener in some food products and biological impacts. *J. Food And Dairy Sci* 8(3): 127-136.

2. Alagawany M., Elnesr S. S., Farag M. R., Abd El-Hack M. E., Khafaga A. F., Taha A. E., Tiwari R., Iqbal Yattoo M., Bhatt P., Marappan G., Dhama K. 2019 . Use of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) Herb as a feed additive in poultry : Current Knowledge and Prospects. *Animals* 9(536) : 1-11.

3. Ali R., Hossain M., Kuri S ., Islam M S. 2013 . Evaluation of total phenolic content , free radical scavenging activity and phytochemical screening of different extracts of Averrhoa bilimbi (fruits). *Int Curr Pharm J* 2 : 92–96.

4. Alilou H., Bencharki B., Hassani L. M. I., Barka N. 2014. Screening phytochimique et identification spectroscopique de flavonoïdes d’*Asteriscusgraveolens* subsp. *Odorus*. *Afrique science* 10(3): 316-328.

5. Aouissa Itiann Wen - Rehaba. 2001. etude des activites biologiques et de la toxicite aigue de l’extrait aqueux des feuilles de *mangifera indica* L. (Anacardiaceae). Diplôme D’état, Université de Bamako, Mali, 127 p.

6. Benalia Y, Y. 2012. Valorisation Des Ressources Végétales Steppiques Par L’étude Des Huiles Essentielles. Cas : *Marrubium deserti de noé*. Déplome de Magister. Université de Ferhat Abbas, sétif ,142p.

7. Boubekri, C. 2014. Etude de L’activité Antioxydante des Polyphénols extraits De *Solanum Melongena* Par Des Techniques Electrochimiques. Thèse de doctorat en Sciences, Université Mohamed Khider, Biskra, 210 p.

8. Bougandoura N., & Bendimerad N. 2013. Evaluation de l’activité antioxydante des extraits aqueux et méthanoïque de *Satureja calamintha ssp.Nepeta* (L.). *Nature & Technologie* 9(9) : 14 - 19.

9. Bounihi A. 2016. criblage phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de melissa officinales et de *mentha rotundifolia* (lamiacées). thèse de doctorat national, université mohammed v, Maroc, 199p.

10. Bouzid W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane, M. C., Ayachi A. 2011. Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des extraits de l'aubepine monogynelebanese. Science journal 12(1): 59-69.
11. Brand-Williams M., Cuvelier M. E., Berset C. 1994 . Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Lebensm.-Wiss. u.-Technol 28(1) : 25-30.
12. Bruneton J. 1999. Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales: Technique et documentation Lavoisier .3 éd, paris, p.418-419.
13. Caël D. 2009 . Contribution A L'étude de La Reglisse (*Glycyrrhiza Glabra* L.) : Ses Utilisations Therapeutiques Et Alimentaires. Diplôme D'état de docteur En Pharmacie , Université Henri Poincare - Nancy 1, paris, 134p.
14. Carl N. 2002 . Thus, the body reacts t o trauma as if the emergency is infecpoints of control in inflammation. NATUR 420: 846-852.
15. Chauhan S., Neha G., Upendra N. 2018 . Glycyrrhizic acid : Extraction, screening and evaluation of anti- inflammatory property. Ars Pharmaceutica 59(2): 61-67.
16. Chopra I. C., Abrol B. K., Hand A . K. L. 1960. Les Plantes Médicinales des régions Arides : arid Zone research .7è , p. 97.
17. Chouitah O. 2012 . Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *glycyrrhiza glabra* .Thèse de doctora en science ,université d'oran, Oran , 143p.
18. Csf. 2003 . Opinion of the scientific committee on food on glycyrrhizinic acid and its ammonium salt. scientific committee on food, 41p.
19. Edouard M. R. G. 2013. Impact de la phytothérapie sur le système immunitaire. thèse de doctorat vétérinaire. école nationale vétérinaire d'alfort, 142 pages.
20. Endrias A. 2006. Bio. Raffinage des plantes aromatiques et médicinales appliquent à L'Hibiscus sabdariffa L.et a l'Artemisia annua .Thèse doctorat science des procédés, L'institut national polytechnique, Toulouse, 181p.
21. Fadili K., Amalich S., N'dedianhoua S. K., Bouachrine M., Mahjoubi M., El HilalilF., Zair, T. 2015. Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydant des extraits de deux espèces du haut atlas du Maroc : *Rosmarinus officinalis* et *thymus satureioides*. International journal of innovation and scientific research 17(1):24-33.

22. Farnoosh Soltani S. 2019. Extraction and Purification of Mono Ammonium glycyrrhizic Acid from licorice Roots (*Glycyrrhiza glabra*). BFuP - Betriebswirtschaftliche Forschung und Praxis 22 : 890-901.
23. Feknous S., Saidi F., Ramdhane M. 2013. Extraction, Caractérisation et Identification de quelques Métabolites Secondaires actifs de La *Mélisse* (*Melissa officinalis*L.) . Nature & Technology 11 : 7-13 .
24. FERRADJI A. 2010. Activités Antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *pistacia lentiscus*. Thèse de Magister, Université Ferhat Abbas, Sétif, 90 p.
25. Fouzia B. 2019. ASL-Us-Sus (*Glycyrrhiza Glabra* L.) –A Potent Unani Drug. International Journal Of Scientific Research And Reviews 8: 1575-1596.
26. Ghnimi W. 2015. Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété antioxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Thèse de doctorat en cotutelle, université de lorraine et de la faculté des sciences de Bizerte, France, 244p.
27. Govindappa M., Naga Sravya S., Poojashri M. N., Sadananda T. S., Chandrappa C. P. 2011. Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity of ethanol extract and active phytochemical screening of *Wedelia trilobata* (L.). Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy 3(3): 43-51.
28. Grant N. H., Album H. E., Kryzanasuskas C. 1970. Stabilization of serum albumin by Anti inflammatory drugs. J. Biochemical Pharmacology 19(3): 715-722.
29. Guillouty A. 2016. Plantes Médicinales Et Antioxydants .Diplôme d'état de Docteur En Pharmacie, Université Toulouse Iii Paul Sabatier, paris, 102p.
30. Hamamouche M. F., Kuper M., Lejar C. (2015). Émancipation des jeunes des oasis du Sahara algérien par le déverrouillage de l'accès à la terre et à l'eau. Étude originale 24(6) : 412-419.
31. KADA S. (2018). Recherche d'extraits de Plantes Médicinales Doués D'activités Biologiques .Doctorat En Science, Université Ferhat Abbas, Sétif, 419 p .

32. Kelen M., Tepe B. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology* 99: 4096-4104.
33. Khoudali S., Benmessaoud left D., Essaqui A., Zertoubi M., Azzi M., Benaissa M. 2014. Etude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc Study of antioxidant activity and anticorrosion action of the methanol extract of dwarf palm leaves (*Chamaerops humilis* L.) from Morocco. *JMESCN* 5: 887-898.
34. Koffi Akessé G., Ahoua Angora R. 2018. Activité antioxydante de quelques plantes utilisées dans la région de Tiassalé (Côte d'Ivoire) dans le maintien de la santé de la peau. *Européen Scientific Journal* 14 : 338-352.
35. Kriker S., Yahia A., Nebbache S. 2013 . Effect of climate on some morphological and chemical characteristics of the plant *Glycyrrhiza glabra* L. in two arid regions of southern Algeria. *Egypt. Acad. J. Biolog* 4(2):1-9.
36. Leong L. P., Shui G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem* 76: 69-75.
37. Lhervois T. 2016. La Réglisse : Plante Antique Et Plante D'avenir ? .Thèse Pour Le Diplôme d'état De Docteur En Pharmacie, Université De Poitiers, France, 89p.
38. Makkar H., Siddhuraju P., Becker K. 2007 . *Methods in molecular biology : Plant secondary metabolites*, vol. 393, Totowa, Human Press. 100p.
39. Marliyah., Ananthi M. 2015. In vitro anti-inflammatory activity of seed extract of *Zea Mays* (L.). *Journal of global biosciences* 4: 2168-2173.
40. Mizushima y., Kobayashi M. 1968. Interaction of anti-inflammatory drug with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *Journal of pharmacy and pharmacology* 20(1): 169-173.
41. Mohammedi Z. 2013 .Etude photochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l'Algérie : Biologie. Thèse de doctorat Chimie thérapeutique, université Abou bakr belkaid, Telemcen, 116p.
42. Mukhopadhyay M., Panja P. 2008. A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (*Glycyrrhiza glabra*) roots. *Separation and Purification Technology* 63: 539–545.

43. Petit A. C. 2011. Toxicite et utilisation de quelques fabaceae alimentaires et medicinales. Le Diplôme D'état De Docteur En Pharmacie, Université Henri Poincaré – Nancy1, France, 2011 p .
44. Rajandeeep K., Harpreet K., Ajaib Singh D. 2013. *Glycyrrhiza glabra*: A Psychopharmacological Review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 4(7): 2470-2477.
45. Sagar B. K., Singh P. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. J Food Sci Technol 48(4): 412–422.
46. Sanjai, Saxena. (2004). *Glycyrrhiza Glabra*: Medicine Over The Millennium. Natural Product radiance 4(5):358-367.
47. Sarr S. O., Fall A. D., Gueye R., Diop A. 2015 . Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). International Journal of biological and chemical sciences 9 : 1263-1269.
48. Sharma V., Agrawal R. C., Pandey S. 2013 . Phytochemical Screening And Determination Of Anti-Bacterial And Anti-Oxidant Potential Of *Glycyrrhiza glabra* root extracts. Journal of Environmental Research And Development 7: 1552-1558.
49. Sofowra A. 1993. Medicinal Plants And traditional Medicine In Africa: Spectrum Books Ltd. 2 éd, nigeria, 289p.
50. Szakiel A ., Pączkowski C ., Henry M . 2011. Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. Phytochemistry Reviews 10:471–491.
51. Talbi H., Boumaza A., El-Mostafa K., Talbi J., Hilali A. 2014. Evaluation De L'activité Antioxydante Et La Composition Physico-Chimique Des Extraits Méthanolique Et Aqueux De La *Nigella Sativa* L. (Evaluation Of Antioxidant Activity And Physico-Chemical Composition Of Methanolic And Aqueous Extracts Of *Nigella Sativa* L.). JMESCEN 6(4) : 1111-1117.
52. Thakur D., Abhilasha ., jain A ., Ghoshal G. 2016 . Evaluation of phytochemocal, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Glycyrrhizin Extracted from Roots of *Glycyrrhiza Glabra*. journal of scientific et industrial research 75: 487-494.
53. Tinku G., Mohd M. 2018 . Ammonium Glycyrrhizinate: A Comprehensive Review Of Its Traditional Use, Phytochemistry, pharmacology & safety. Asian Journal Of Pharmaceutical Education And Research 7: 58-65.

54. Tohma H. S., Gulçin I. 2010. Antioxidant and Radical Scavenging Activity of Aerial Parts and Roots of Turkish Liquorice (*Glycyrrhiza Glabra* L.) . International Journal of Food Properties 13: 657–671.

55. Trease E. G., Evans W. C. 1978 . Pharmacognosy : Balliere Tindall. 11^e éd, london, pp. 115-222.

56. Vane J. R. 1971. Inhibition of prostaglandin synthesis is a mechanism of action for aspirin like drugs. J. Nature 42: 231-235.

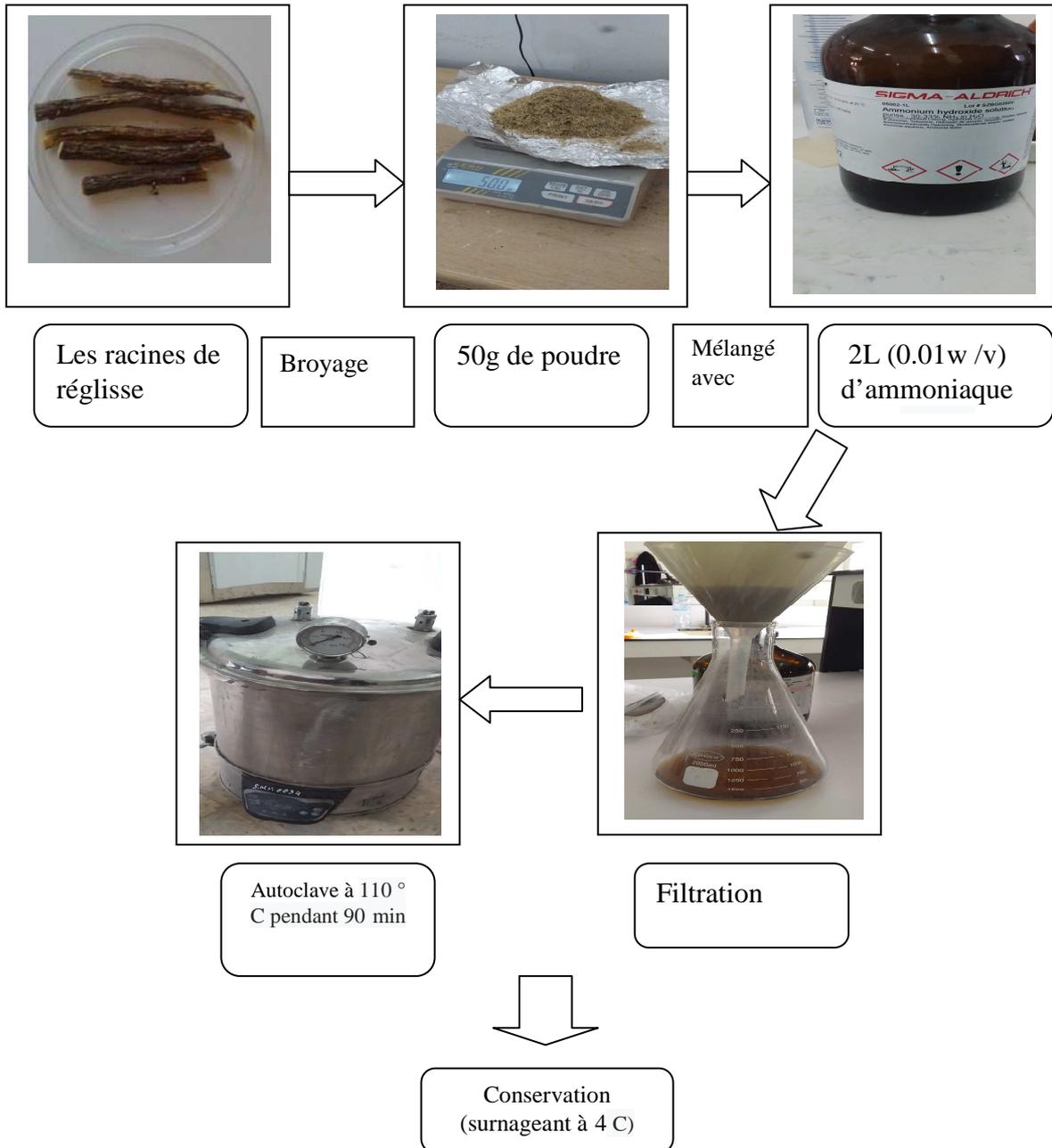
57. Velvizhi S., Annapurani S. 2018. Estimation of total flavonoid, phenolic content, and free radical scavenging potential of *glycyrrhiza glabra* root extract. asian journal of pharmaceutical and clinical research 11: 231-235.

Site web

1. <http://fr.m.wikipedia.Org/wiki/réglisse>
2. http://www.viamichelin.fr/web/cartes-plans/carte_plan-oumache-_biskra-alerie

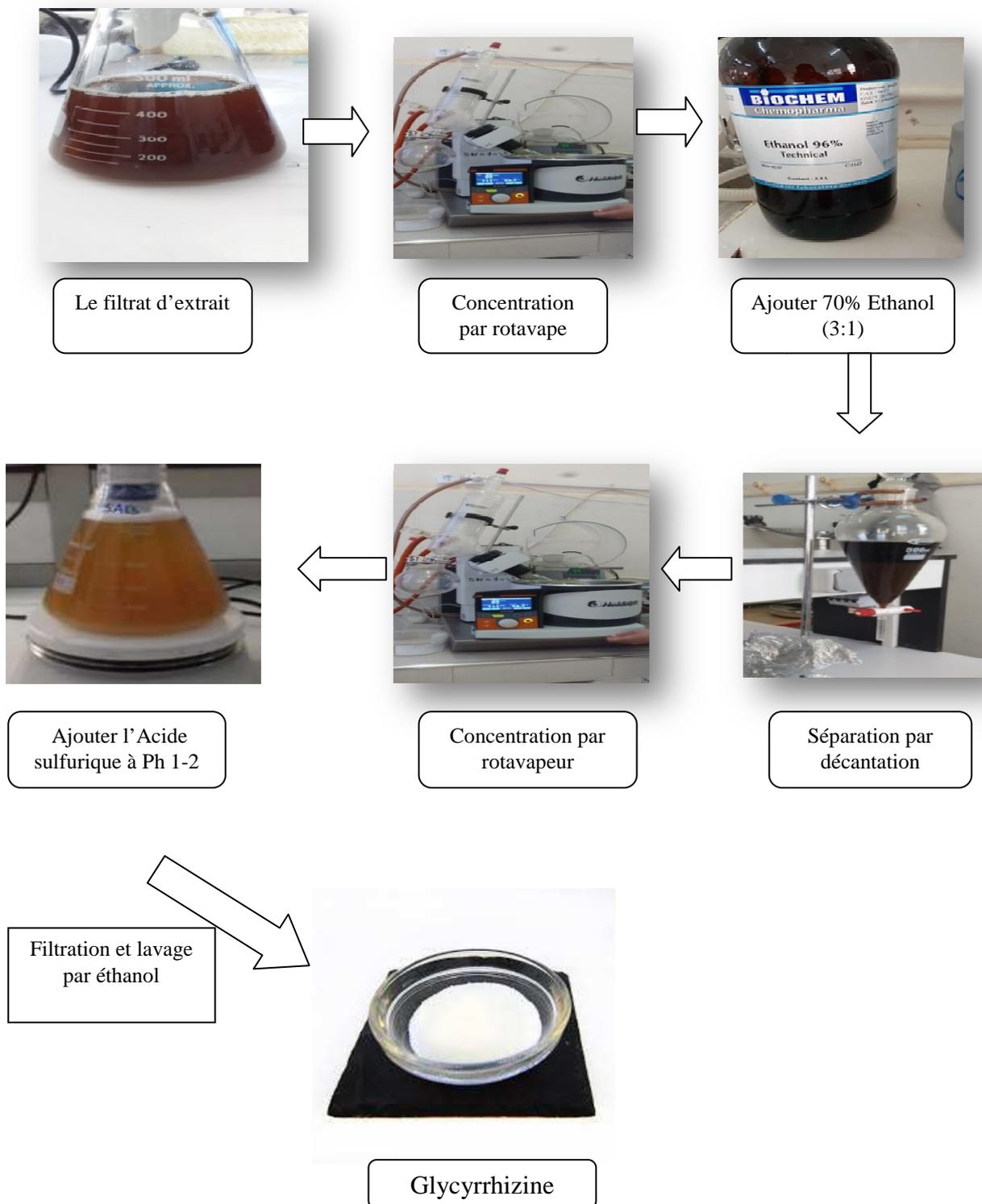
Annexe1

Préparation de l'extrait de réglisse



Annexe 2

L'extraction de glycyrrhizine



المخلص

يستخدم عرق السوس (من البقوليات) على نطاق واسع في الأدوية التقليدية . الجليسيريزين مركب نشط لهذا النبات تم الحصول عليه من المستخلص المائي للجذر , يركز هذا العمل على دراسة الأنشطة البيولوجية للجليسيريزين من منطقتين هما سيدي عقبة و أوماش. نقوم باستخراج هذا المكون من جذور عرق السوس لإجراء فحص لتحديد مركبات الفلافونويد و الصابونيين, ثم دراسة نشاطها ضد الأكسدة و ضد الالتهاب.

النتائج التي تم الحصول عليها من خلال الاختبارات الكيميائية النباتية تظهر ثراء المستخلصين بالفلافونويد والصابونين والستيرويد, وكذلك ثراء الجليسيريزين المستخلص من سيدي عقبة بالكربوهيدرات مقارنة بالجليسيريزين المستخلص من أوماش بالنسبة للأنشطة البيولوجية, يمتلك الجليسيريزين المستخلص من سيدي عقبة نشاطا بيولوجيا جيدا مقارنة بمستخلص أوماش.

الكلمات المفتاحية : *Glycyrrhiza glabra* L., الجليسيريزين , النشاط ضد الأكسدة، النشاط ضد الالتهاب.

Résumé

Glycyrrhiza glabra L (légumineuses) est largement utilisé dans les médicaments traditionnels. La glycyrrhizine, un composé actif de cette plante, obtenu à partir de l'extrait aqueux de la racine. Ce travail porte sur l'étude les activités biologiques de glycyrrhizine de deux régions : Sidi Okba et Oumache. Nous avons faire l'extraction de ce composant à partir des racines de *glycyrrhiza glabra* L. Pour faire un dosage a été entrepris afin de quantifier, les flavonoïdes, les saponines, ensuite étude l'activité antioxydant et anti-inflammatoire.

Les résultats obtenus par les tests phytochimiques montre la richesse de deux extraits en flavonoïde, saponine, stéroïde, aussi la richesse de l'extrait de la glycyrrhizine de Sidi Okba par carbohydrates que l'extrait de glycyrrhizine d'Oumache. Pour les activités biologiques, l'extrait de glycyrrhizine de Sidi Okba montre les bonnes activités celui que d'Oumache.

Mot clé : *Glycyrrhiza glabra* L. , Glycyrrhizine, Activité antioxydant, Activité anti-inflammatoire.

Abstract

Glycyrrhiza glabra L (legumes) is widely used in traditional medicines. Glycyrrhizin, an active compound of this plant, obtained from the aqueous extract of the root. This work focuses on the study of the biological activities of glycyrrhizin extract from tow region: Sidi Okba and Oumache. We have extracted this component from roots of *Glycyrrhiza glabra* L. To do an assay was undertaken to quantify the flavonoid, saponins, and then study the antioxidant and anti-inflammatory activity.

The résultats obtained by phytochemical tests show the richness of two extracts in flavonoid, saponin, steroid, also the richness of glycyrrhizin extract from Sidi Okba by carbohydrate as Oumache glycyrrhizin extract. For biological activities, glycyrrhizin extract from Sidi Okba shows the good activity that of Oumache.

Keyword: *Glycyrrhiza glabra* L, Glycyrrhizin, Antioxidant activity, Anti-inflammatory activity.