



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 :
Ibtissem REFFAS et Lemya SLIMANI

Le : mercredi 10 juillet 2019

Thème

**Contribution à l'étude phytochimique et à
l'évaluation de quelques activités biologiques
d'un mélange d'épices "Ras El Hanout" de la
région de Biskra.**

Jury :

Mme. Randa GAOUAOUI	MCB	Université de Biskra	Président
Mme. Fadjeria YAACOUB	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
M. Ziane LAIADI	MCA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciements

Avant tout, nous remercions ALLAH, le maitre des cieux et de la terre qui nous a donné de la volonté, la puissance, et de la santé afin de réaliser et d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice Mme " Yaakoub Fedjeria "Maître Assistante Classe A au département de biologie, faculté des sciences exactes de la nature et de la vie, l'Université Mohamed Khider (Biskra). Qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction par excellence. Nous tenons à la remercier aussi pour la liberté qu'elle nous a donné et la grande confiance qu'elle nous a fait dès le début jusqu'à la fin du travail.

Nous adressons nos sincères remerciements aux membres de jury, chacun de son nom, d'avoir accepté de juger et d'examiner notre travail.

Nos vives remerciements vont aussi aux ingénieurs de laboratoire ;

Mme Saliha, Mme Mofida, Sara, Alima, Abdel Kader, Walid. Un grand respect et un grand remerciement à toutes ces personnes qui ont participé par leur disponibilité, leur gentillesse, leur aide chaque jour.

Merci à tous

Ibtisseem / Lemya

Dédicace

Au nom d'Allah le miséricordieux le très miséricordieux

Avant tout, je remercie Allah qui m'a éclairé mon chemin et d'aboutir au moment que j'ai l'attendu

Tout l'amour et le respect à mes chers parents et je souhaite que dieu les garde et les protège INCHAA ALLAH.

Je dédie mon modeste travail :

À mes très chers parents : Maman et Papa qui ont fait le possible pour moi, qui ont été toujours avec moi, qui ont souffert durant toutes mes années d'études, franchement je ne peux pas exprimer autour de tous ce qui m'ont fait dès mon enfance jusqu'à ce moment.

À mes chers sœurs : Saliha, Meryem, Asma.

À mes chers frères : Kamel, Youssef, et Abdel Ali, Zainlabidin,

À toute ma famille : Hakim, Mahfoud, Farouk, Slimane, Kamel, Rokaya, Jouayriya, omkhir, Gossen- lban, Razika, Samira, Firdaws, Balkiss, Mohamed, souad, Mehdi, Saba, Fadi, Anouar, Iyad, Seif, Racha, Ritaj Sajid, lojain, djawad, et.....etc. qui ont toujours participé à me donner du courage et de la volonté.

À mon binôme Ibtissem qui a été toujours active et très sympathique avec moi, et à toute sa famille.

À mes très chers amies : Asma et Hanane, avec qui j'ai passé ensemble de beaux moments inoubliables.

À tous mes collègues et tous les assistants qui me connaissent.

Lemya slimani

À l'aide de "ALLAH" je termine ce travail qui je le dédie :

À mes chers parents, qui m'avez dirigé et suivi pendant toute mes années d'étude

À mes frères : Ali, Tahar, Hamlaoui.

À mes chers sœurs : Ghania, Alima, Saida et Hayat.

À tous mes petits enfants : Iyad, Khalil, Moatasseem bellah, Abd elmoamen et Abd elhalim.

À mon marie : Saddam Hocine Zouai



À tous mes amies depuis le primaire Jusqu'à l'université.

À toute ma famille REFFAS

En fin, à tous ceux qui m'aime.

REFFAS IBTISSEM

Sommaire

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

Première partie: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. GENERALITES SUR LES EPICES ET LES METABOLITES SECONDAIRES

1.1. Généralité sur les épices	2
1.1.1 Histoire des épices	2
1.1.2. Définition des épices	2
1.1.3. Classification des épices	3
1.1.4. Utilisation des épices	4
1.1.4.1. Utilisation nutritionnelle	4
1.1.4.2. Utilisation médicinale	4
1.1.4.3. Utilisation en cosmétique	4
1.1.5. Mélanges d'épices	4
1.1.6. Les aromates les plus utilisés dans la cuisine Algérienne.....	4
1.2. Les métabolites secondaires.....	5
1.2.1. Les composés phénoliques.....	5
1.2.2. Les flavonoïdes	5
1.2.3. Les tanins	5
1.2.4. Les triterpènes	6

Chapitre 2. LES ACTIVITÉS À ÉTUDIER

2.1. Activité anti-oxydante	7
2.1.1. Les radicaux libres	7
2.1.2. Le stress oxydatif	7
2.1.3. Les maladies liées au stress oxydatif.....	7
2.1.4. Les antioxydants	7
2.1.5. Le système de défense antioxydant.....	7
2.1.5.1. Les antioxydants enzymatiques.....	8
2.1.5.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	8
2.2. Activité anti inflammatoire.....	8
2.2.1. Inflammation.....	8
2.2.1.1. Inflammation aiguë	8
2.2.1.2. Inflammation chronique	9
2.2.2. Les anti-inflammatoires	9
2.2.2.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	9

2.2.2.2. Les anti inflammatoires stéroïdiens (AIS)	9
2.2.2.3. Les anti inflammatoires d'origine végétale	9

Deuxième partie: PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Matériel.....	10
3.1.1. Matériel végétal	10
3.1.1.1.Échantillonnage	10
3.2. Méthodes	10
3.2.1. La macération.....	10
3.2.2. La décoction.....	10
3.2.3. Screening phytochimique.....	11
3.2.3.1. Teste des alcaloïdes	11
3.2.3.2. Teste des Tanins	11
3.2.3.3. Teste des Stéroïdes	11
3.2.3.4. Test des Flavonoïdes	11
3.2.3.5. Teste des terpénoïdes	12
3.2.3.6. Teste des glycosides cardiaques	12
3.2.3.7. Teste des anthocyanes	12
3.2.3.8. Test des anthraquinones	12
3.2.3.9. Test des huiles volatiles.....	12
3.2.4. Dosage quantitatif par des réactions colorimétriques	12
3.2.4.1. Dosage quantitatif des poly phénols.....	12
3.2.4.2. Dosage des flavonoïdes	13
3.2.4.3. Dosage quantitatif des tanins condensés	14
3.2.4.4. Dosage des triterpènes.....	14
3.2.5. Evaluation de L'activité anti oxydante	15
3.2.5.1. La capacité réductrice du fer (FRAP)	15
3.2.5.2. Inhibition du radical cation ABTS+	15
3.2.5.3. Le test de la capacité anti-oxydante totale (TAC).....	16
3.2.6. Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro	17
3.2.6.1. Inhibition de la dénaturation des protéines	17
3.2.6.2. La stabilisation de la membrane des globules rouges	18
a) Test d'hémolyse induit par la chaleur.....	18
b) Test d'hémolyse induit par la solution hypotonique.....	18

Chapitre 4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Le rendement d'extraction	20
4.2. Screening phytochimique.....	21
4.3. Tests quantitatifs (Dosages)	23

4.3.1. Dosage des polyphénols.....	23
4.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	25
4.3.3. Dosage des tanins condensés	26
4.3.4. Dosage des tritèrpenes	28
4.4. Evaluation de l'activité anti oxydante	29
4.4.1. Réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	29
4.4.2. Inhibition du radical cation ABTS+.....	31
4.4.3. TAC.....	33
4.5. Evaluation de l'activité anti inflammatoire.....	34
4.5.1. Inhibition de la dénaturation des protéines	34
4.5.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges	36
a) Test d'hémolyse induit par la chaleur.....	36
b) Test d'hémolyse induit par une solution hypotonique.....	37
Conclusion.....	39
Références	41
Annexes	
Résumés	

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification de quelques épices selon la partie utilisé de la plante.	3
Tableau 2. Les aromates les plus utilisés en Algérie.....	4
Tableau 3. Screening phytochimique du mélange étudié (Ras El Hanout).....	21

Liste des figures

Figure 1. Aspect de Ras El Hanout.	3
Figure 2. Structure de base de flavonoides.....	5
Figure 3. Le rendement d'extraction de Ras El Hanout.....	20
Figure 4. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.	24
Figure 5. Histogramme des teneurs en polyphénols dans les extraits de Ras El Hanout en μg EAG/mg ES.....	24
Figure 6. La courbe d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes.	25
Figure 7. Histogramme des teneurs en flavonoïdes dans les extraits de Ras El Hanout en μg ER/mg ES.....	26
Figure 8. La courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.	27
Figure 9. Histogramme des teneurs en tanins condensés dans les extraits de Ras El Hanout en μg EC/mg ES.....	27
Figure 10. La courbe d'étalonnage de l'acide ursolique pour le dosage des triterpènes.	28
Figure 11. Histogramme des teneurs en triterpènes dans les extraits de Ras El Hanout en μg EAU/mg ES.....	29
Figure 12. Le pouvoir réducteur des deux extraits aqueux et méthanolique.....	30
Figure 13. La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test pouvoir réducteur.....	30
Figure 14. Le pouvoir réducteur de deux extraits.	31
Figure 15. Les pourcentages d'inhibitions de l'ABTS+ par les deux extraits et le standard (la quercétine).....	32
Figure 16. L'IC 50 des deux extraits et le standard (la quercétine).	32
Figure 17. La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour test de TAC.	33
Figure 18. Les TAC des deux extraits aqueux et méthanolique.....	34
Figure 19. Les pourcentages d'inhibitions de la dénaturation de BSA par les extraits et le standard (Diclofénac sodique).....	35
Figure 20. Le pourcentage de stabilisation de la membrane des érythrocytes contre la chaleur par les extraits et le standard (Aspirine).....	36
Figure 21. Les pourcentages de stabilisation de la membrane des érythrocytes contre la solution hypotonique par les extraits et le standard (Aspirine).....	37

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

AC : Absorbance du Contrôle

ADN : acide désoxyribonucléique

AIS : anti inflammatoires stéroïdiens

AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens

AQ : aqueux

AT : Absorbance du test effectué

BSA : Bovine Serum Albumin

COX : Cyclo-oxygénase

EC : Equivalent de la catéchine

EAA : Equivalent de l'acide ascorbique

EAG : Equivalent de l'acide gallique

EAU : Equivalent de l'acide ursolique

ER : Equivalent de la rutine

ES: Extrait sec

FRAP: Ferric reducing antioxydant power

IC50 : Concentration Inhibitrice de 50 %

Me : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g

Mv : la masse sèche de l'échantillon végétal en g

P/V : Poids par volume.

PBS : Phosphate Buffer Salin

PM : Poids moléculaire

R (%): Rendement en %

R² : coefficient de corrélation linéaire

ROS: Reactive oxygen species

rmp: Rotation par minute

SOD: Superoxyde dismutase

TAC : Capacité antioxydant totale

TCA: Acide Trichloracétique

UV : Ultra violet

UV-Vis : Ultra violet visible

V/V : Volume par volume

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales représentent la première source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice, 1997). Reposant souvent sur une approche empirique, les propriétés biologiques des plantes et des substances naturelles qu'elles renferment, font actuellement l'objet de nombreux travaux (Brudieux, 2007).

Les épices sont classées parmi les plantes médicinales, ces épices sont des parties de plantes aromatiques à la saveur forte. Ces épices renferment de nombreux principes actifs qui sont largement utilisés en thérapeutique, comme des agents préventifs antioxydants, antimicrobien, anti-inflammatoire.... (Shiva Rani *et al.*, 2013).

Plusieurs mélanges d'épices sont utilisés en gastronomie. « Ras el Hanout » est l'un de ces mélanges traditionnellement préparé et largement utilisé surtout au niveau des plats traditionnels chez les habitants de Biskra.

Les épices essentiellement rentrés dans leur composition sont : la coriandre, la menthe verte, la cannelle, le gingembre, le poivre noir, les pétales de rose, le cubèbe, le Curcuma, le carvi, le fenouil.....etc.

L'objectif de notre travail est :

La réalisation du screening phytochimiques pour le mélange de Ras El Hanout.

L'estimation de contenu en polyphénols, en flavonoïdes, en tanins condensés et en triterpènes de ce mélange.

L'évaluation de l'activité antioxyante du mélange par les tests de FRAP, TAC, ABTS.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire par l'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) et la méthode de stabilisation de la membrane des érythrocytes.

Le présent travail est scindé en deux parties :

La première regroupant des généralités sur les épices, des notions des métabolites secondaires, et les activités biologiques à étudier sous forme d'une synthèse bibliographique.

La deuxième partie, le matériel biologique et la méthodologie de travail y sont présentés, et les principaux résultats obtenus suivie des discussions. Et enfin une conclusion.

Première partie
Synthèse bibliographique

Chapitre 1
Généralités sur les épices
et les métabolites
secondaires

1.1. Généralité sur les épices

1.1.1 Histoire des épices

Les épices sont originaires pour la plupart, des régions tropicales d'Asie (Inde, Indonésie, Asie du sud-est) et d'Amérique (Mexique, Pérou, Antilles). Dans l'Antiquité, en Mésopotamie, les Assyriens et Babyloniens utilisaient déjà des épices dans la nourriture, en médecine et en parfumerie. Le commerce des épices était alors comparable en importance à celui de l'or ou des pierres précieuses. Les égyptiens se servaient aussi des épices pour embaumer les morts et confectionner des parfums et des onguents.

XIX^{ème} siècle, la culture des épices s'est très largement étendue. L'Indonésie, restent un fournisseur important, mais est supplantée sur le marché international par l'Amérique latine (Droniou-Cassaro, 2012).

Aujourd'hui, les épices sont devenues très largement répondues dans tous les pays du monde.

1.1.2. Définition des épices

Le terme d'épices est un terme culinaire. Une épice est une "substance d'origine végétale, aromatique ou piquante, servant à l'assaisonnement des mets. Les épices contiennent des substances organiques appelés arômes qui stimulent les perceptions olfactives et gustatives (Bernard ,2012).

Les épices sont utilisées en petite quantité en cuisine comme conservateur, ou colorant (Heers, 2008).

Les épices peuvent provenir de différentes parties de la plante : l'écorce, exemple de la cannelle, de grains comme pour le fenouil, la coriandre, de feuilles, le cas du laurier, des fleurs, le cas clou de girofle de rhizome exemple du curcuma et du gingembre (Farrell, 1990).



Figure 1. Aspect de Ras El Hanout (Bensaha et Guitton, 2015).

1.1.3. Classification des épices

On peut classer les épices selon la partie de la plante dont elles sont tirées, ainsi elles peuvent provenir des graines, des fleurs, des fruits, des racines ou du bois (tableau N1) (Bernard, 2012).

Tableau 1. Classification de quelques épices selon la partie utilisée de la plante (Redhead, 1990).

Nom(s) commu(s)	Nom botanique	Partie de la plante utilisée
Premier groupe : Epices fortes		
Poivre noire et blanc	<i>Piper nigrum</i>	Fruit
Poivre de Cayenne et tabasco	<i>Capsicum frutescens</i>	Fruit
Piment et paprika	<i>Capsicum annuum</i>	Fruit
Clous de girofle	<i>Eugenia caryophyllus</i>	Fleur
Gingembre	<i>Zingiber officinale</i>	Rhizome
Deuxième groupe : Fruits et graines aromatiques		
Muscade et macis	<i>Myristica fragrans</i>	Graine
Piment toute-épices	<i>Pimento dioica</i>	Fruit
Anis	<i>Pimpinelle anisum</i>	Fruit
Fenugrec	<i>Trigonella foenumgraecum</i>	Graine
Coriandre	<i>Coriandrum sativum</i>	Fruit
Cumin	<i>Cuminum cyminum</i>	Fruit
Troisième groupe : Ecorces aromatiques		
Cannelle	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Ecorce

Casse	<i>Cinnamomum cassia</i>	Ecorce
Quatrième groupe : Epices colorées		
Paprika Curcuma	<i>capsicum annuum</i> <i>Curcuma domestica</i> , <i>Curcuma longa</i>	Fruit Rhizome

1.1.4. Utilisation des épices

1.1.4.1. Utilisation nutritionnelle

Les épices apportent de la variété et du goût aux denrées de base et aux sauces, ce qui excite l'appétit et permet de manger plus (Redhead, 1990).

1.1.4.2. Utilisation médicinale

Enormément d'épices ont des activités antimicrobiennes et antioxydantes, et sont utilisées alors comme antiseptiques, analgésiques et anti-inflammatoires et également indiquées pour lutter contre les maladies du stress (Mohammedi, 2006).

1.1.4.3. Utilisation en cosmétique

Un grand nombre des épices et leurs constituants sont utilisés dans l'élaboration des parfums, produits de beauté et produits de toilettes. Ces essences servent à préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique tout en leur assurant leur odeur agréable. (JeanM, 2006).

1.1.5. Mélanges d'épices

On connaît par exemple le « curry » et « grama-massala » caractéristique de la cuisine Indienne (Bahroun, 1997). Et « Ras el Hanout » originaire d'Afrique du Nord. (Zette, 2009).

1.1.6. Les aromates les plus utilisés dans la cuisine Algérienne

Tableau 2. Les aromates les plus utilisés en Algérie (Boualem, 1998).

Cumin	Cerfeuil	Nigelle
Carvi	Sarriette	Laurier sauce
Persil	Origan	Poivre noir
Aneth	Sauge	Gingembre
Moutarde	Romarin	Cannelle
Coriandre	Fenugrec	Noix de muscade
Menthe	Galanga	Thym
Curcuma	Safran	Clou de girofle

1.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes (Lutge *et al.*, 2002). Ils appartiennent à des groupes chimiques variés : alcaloïdes, terpènes et composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005).

1.2.1. Les composés phénoliques

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) à des proportions variables. Les plus représentés sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, et les tanins (Lugasi *et al.*, 2003).

1.2.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006). Elles ont une structure de base à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6) constitué de deux noyaux aromatiques reliés par un hétérocycle oxygéné (Dacosta, 2003). voir la figure N°2.

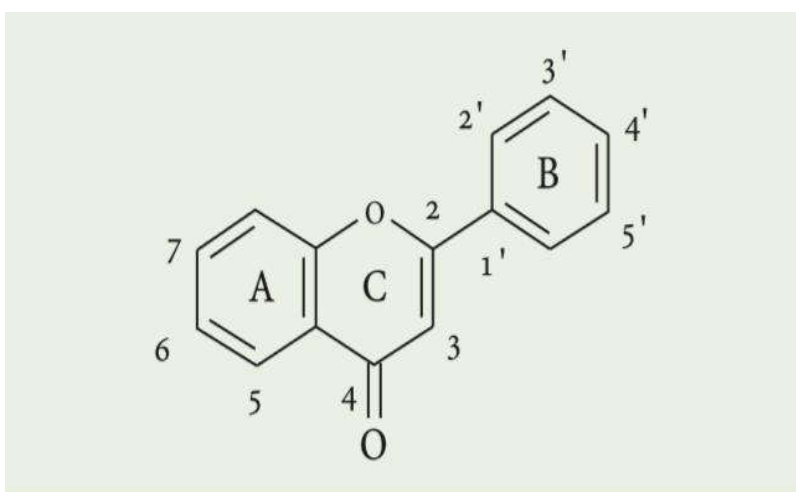


Figure 2. Structure de base de flavonoïdes

1.2.3. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire (PM) compris entre 500 et 3000 Da. Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes distincts. Les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Brunet, 2008).

1.2.4. Les triterpènes

Il y a au moins 4000 tri terpènes connus. Beaucoup de tri terpènes se produisent librement mais d'autres se produisent sous forme de glycosides (saponines) ou dans des formes spéciales combinées (Jiri, 2003). Les Triterpènes possèdent une activité antioxydant, et jouent un rôle dans la protection contre les rayons UV. (Puziah, 2011).

Chapitre 2

Les activités à étudier

2.1. Activité anti-oxydante

2.1.1. Les radicaux libres

Une espèce chimique (atome, molécules ou fragment de molécule contenant au moins un électron célibataire ou non apparié sur sa couche électronique externe ce qui augmente sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour devenir stable (Bonnerfont *et al*, 2003).

Les radicaux libres proviennent à la fois de sources endogènes (mitochondrie, réticulum endoplasmique, cellules phagocytaires...) et de sources exogènes (pollution, alcool, fumée de tabac, solvants industriels, pesticides et rayonnement) (Phaniendra *et al.*, 2015).

Lorsque ces radicaux livres sont produits plus rapidement ils ne peuvent être neutralisés par les systèmes de défense antioxydant ce qui permet le développement de stresse oxydatif (Picchi, 2006).

2.1.2. Le stress oxydatif

Les stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants, en faveur des premières, il est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies (Atamer, 2008).

2.1.3. Les maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydatif engendre diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que: Oxydation de l'ADN, Oxydation des protéines, Oxydation des composés lipidiques, oxydation du glucose (Loft *et al.*, 2008).

Le stress oxydant est principalement la cause initiale de plusieurs maladies : cancer, , œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, le diabète, maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

2.1.4. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. L'organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres (Favier, 2003).

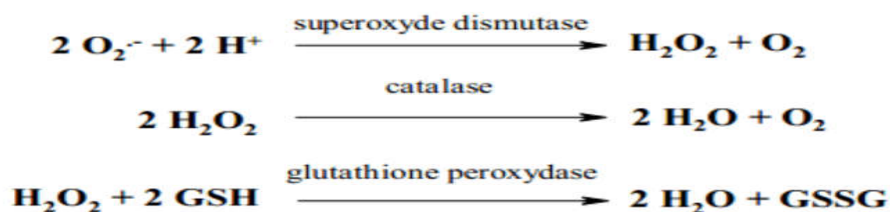
2.1.5. Le système de défense antioxydant

L'organisme possède un ensemble de systèmes de défenses antioxydants très efficaces afin de diminuer la concentration des espèces oxydants dans l'organisme. Ce système est divisé en deux grandes catégories.

2.1.5.1. Les antioxydants enzymatiques

- Superoxyde dismutase
- Catalase
- Glutathion peroxydase

D'après Halliwell (2006), ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres, selon les réactions suivantes :



2.1.5.2. Les antioxydants non enzymatiques

D'après Pincemail *et al.* (2002), parmi ces antioxydants on cite les oligoéléments, les vitamines : E (tocophérol), les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables. aussi que les composés phénoliques issus des végétaux (Kanoun, 2011).

2.2. Activité anti inflammatoire

2.2.1. Inflammation

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme à des agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse (Ndiaye *et al.*, 2006), ces agressions déclenchent l'activation de nombreuses cellules immunitaires tels que les macrophages, les monocytes, les neutrophiles qui produisent de nombreux médiateurs chimiques lors de réponses cellulaires telles que la phagocytose (Capelari *et al.* , 2011).

2.2.1.1. Inflammation aigue

C'est une réponse immédiate à un agent agresseur de courte durée (quelques semaines) (Botting et Botting, 2000). La réaction inflammatoire est caractérisée par 4 signes : la rougeur gonflement, chaleur, douleur (Russo-Marie *et al.*, 1998).

2.2.1.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique se développe lorsqu'une agression persiste ou dans les tissus soumis à des réactions auto-immunes ou l'antigène ne peut être éliminé (Rankin, 2004). Elle est caractérisée par une durée étalée sur des mois, des années et peut être se prolonger tout au long de la vie de l'individu (Fauve et Hevin, 1998).

2.2.2. Les anti-inflammatoires

2.2.2.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Sont de médicaments dépourvus de noyau stéroïdien, ayant une action anti inflammatoire, antalgique et antipyrétique (Chiolero *et al.*, 2010). Monassier (2005) indique que les AINS bloquent sélectivement la COX 2, en évitant le blocage de la COX 1 responsable en particulier de la gastrotoxicité des AINS.

2.2.2.2. Les anti inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti inflammatoires stéroïdiens ou corticoïdes sont des produits pharmaceutiques qui traitent les inflammations. L'anti-inflammatoire stéroïdien constitue une vaste famille de médicaments dérivés de cortisol (Faure, 2009). Les glucocorticoïdes agissent sur tous les types cellulaires et tissulaires de l'organisme dans le cadre de la réaction inflammatoire, ils inhibent la migration leucocytaire vers le site inflammatoire (Blétry *et al.* , 2006).

2.2.2.3. Les anti inflammatoires d'origine végétale

L'activité anti-inflammatoire des plantes médicinales revient à leur contenu en métabolites secondaires doués d'activités biologique ; polyphénols, alcaloïdes, saponines, coumarines, terpènes et polysaccharides... (Meziti, 2009).

Deuxième partie

Etude expérimentale

Chapitre 3

Matériel et méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Matériel végétal

3.1.1.1.Échantillonnage

Notre travail basé sur l'étude phytochimique et l'étude de quelques activités biologiques d'un mélange d'épices «Ras El Hanout» qui est largement utilisé par les habitants de la wilaya de Biskra. Il est constitué de douze épices (voir Annexe 1). L'échantillon de Ras El Hanout a été acheté sous forme d'une poudre telle qu'elle est vendue au consommateur par l'herboriste.

3.2. Méthodes

3.2.1. La macération

L'extrait méthanolique brut du mélange des épices étudiées est obtenu par macération. Ce type d'extraction est un simple contact entre le support solide et le solvant, La séparation se fait par filtration. Elle est utilisée couramment dans l'extraction des terpènes, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des acides gras, des amines.....etc. (Lumbu *et al.*, 2005 ; Penche, 2010).

La poudre du mélange étudiée est mise à macérer (50g) pendant 24 heures à température ambiante, dans un mélange méthanol-eau (80/20 ; V/V). L'extraction est refaite 3 fois avec renouvellement du solvant. Les macéras sont à chaque fois filtrés sur papier filtre et les 3 filtrats sont réunis. La majeure quantité du solvant est éliminée du filtrat sous vide à 40°C à l'aide d'un Rota vapeur, et le reste est éliminé à l'aide de l'étuve à 40°C (Craigie, 1950).

3.2.2. La décoction

L'extrait aqueux brut du mélange des épices étudiées est obtenu par la décoction 50g du poudre d'épices a été mélangés avec 500 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer et bouilli pendant 30 minutes. Ensuite on le refroidit puis le filtre à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat est séché dans l'étuve 30°C pendant trois jours pour se débarrasser de l'eau résiduelle. Le résidu est ensuite entreposé dans un récipient hermétiquement fermé, décrit par (Sanni *et al.*, 2010).

➤ Calcul du rendement

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé *via* l'équation : $Re = (Me/Mv) \times 100$.

Re %: Rendement en %.

Me: Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant.

Mv: Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (Harborne, 1998)

3.2.3. Screening phytochimique

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques. Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols totaux y compris les flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, les stérols, les terpènes...etc (Lendvai *et al.*, 2002).

Le screening phytochimique a été réalisé tant sur les phases aqueuses qu'organiques par des réactions usuelles à l'aide des réactifs de caractérisation classique (Bruneton, 2009).

3.2.3.1. Teste des alcaloïdes

On ajout 2 ml de réactif de Wagner (2g d'iodure de potassium KI + 1,27 g d'iode I₂ + 100 ml d'eau distiller) à 2 ml de chaque extrait. L'apparition d'un précipité blanc jaune indique la présence des alcaloïdes (Chaouch ,2001).

3.2.3.2. Teste des Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 2 ml de l'extrait méthanolique, 1 à 2 gouttes de solution de chlorure ferrique (FeCl₃) diluée à 0,1%. L'apparition d'une coloration vert foncée indique la présence de tanins cathéchiques ou bleu-vert indique la présence des tanins galliques (Harborne, 1998).

3.2.3.3. Teste des Stéroïdes

La présence des stéroïdes a été mise en évidence on ajout à 5 ml de l'extrait, 5 ml d'anhydride acétique dans une capsule, puis reprise dans un tube à essai dans lequel sont coulés 0,5 ml de H₂SO₄ concentré. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive (Harborne, 1998).

3.2.3.4. Test des Flavonoïdes

Dans un tube à essai, 1ml de l'extrait à tester a été mélangé avec 1 ml d'acide chlorhydrique (HCL) concentré et 3 copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose, rouge ou jaune indique la présence des flavonoïdes (Harborne, 1998).

3.2.3.5. Teste des terpénoïdes

La mise en évidence de l'existence des terpénoïdes est réalisé par la réaction de Liebermann-Buchard On ajoute à 5 ml d'extrait, 5 ml d'anhydride d'acétate, ensuite nous avons ajouté 1ml d' H_2SO_4 au fond du tube sans agitation. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette de la couche surnageante révèlent la présence des stéroïls et des triterpènes. (Chaouch, 2001).

3.2.3.6. Teste des glycosides cardiaques

Un volume de 2 ml de chaque extrait a été dissous avec 2 ml de chloroforme et d'acide sulfurique concentré a été ajoutée avec précaution pour former une couche rougeâtre foncée de couleur brun à l'interface de l'anneau stéroïde indique la présence de glycosides cardiaques (Harbarne, 1973).

3.2.3.7. Teste des anthocyanes

Les anthocynes sont révélé par l'ajout de 1 ml d'extrait, 3 ml de H_2SO_4 à 10 % et 1 ml de NH_4OH à 10 %, si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu en milieu basique, on peut conclure la présence des anthocyanes (Dialla, 2000).

3.2.3.8. Test des anthraquinones

Un volume de 5mL de solution ammoniacale sont ajoutés au 5 ml de filtrat. La présence de la coloration rose ou violette à la phase ammoniacale indique la présence des quinones (Odebeyi et Sofowora, 1978).

3.2.3.9. Test des huiles volatiles

on ajout à 2 ml d'extrait 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (10%) et quelques gouttes de HCl dilué a 10%, la formation d'un précipité blanc indique la présence d'huiles volatiles (Mojab *et al.*, 2003).

3.2.4. Dosage quantitatif par des réactions colorimétriques

3.2.4.1. Dosage quantitatif des poly phénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin Ciocalteu selon la méthode cité par (Wong *et al.*, 2006).

a) Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant le réactif de Folin Ciocalteu.

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀).

Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau, 1968).

La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm est proportionnelle à la quantité de poly phénols présents dans les extraits végétaux (Ghazi et Sahraoui, 2005).

Les poly phénols ont été déterminées suivant le protocole appliqué par (Li *et al.*, 2007).

b) Mode opératoire

Brièvement 200 µl de chaque extrait ont été ajoutés à 1ml de réactif de folin ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillé. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 min. Après l'incubation, 800 µl de la solution de carbonate de sodium (75g/l) est ajoutée. Le mélange final a été incubé pendant 30min dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm.

c) Expression des résultats

La concentration des poly phénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique comme standard à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique par g d'extrait sec (mg EAG/g ES) (Wong *et al.*, 2006).

3.2.4.2. Dosage des flavonoïdes

a) Principe

La méthode de Chlorure d'aluminium (AlCl₃) (Lamaison et carnet, 1990) à été employée pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes des extraits.

b) Mode opératoire

1mL de la solution de l'extrait à été ajoutée à 1mL d'une solution de (AlCl₃) à 2%, le mélange à été agité vigoureusement, et L'absorbance est mesuré à 367 nm après 10 min d'incubation.

c) Expression des résultats

Une courbe d'étalonnage réalisée par la rutine à différentes concentrations, la teneur en flavonoïdes est exprimée en (µg équivalent de la rutine /mg ES).

3.2.4.3. Dosage quantitatif des tanins condensés

Nous avons adopté la méthode de la vanilline avec l'HCl.

a) Principe

Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tannins condensée et la formation de complexes rouges, cela s'explique par la propriété des tannins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline.

La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par (Julkunen-Titto, 1985).

b) Mode opératoire

Un volume de 50 μ l de chaque extrait a été ajouté à 1500 μ l de la solution vanilline /méthanol à 4%, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750 μ l de l'HCl a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc.

Différentes concentrations (100-700 μ g /ml) préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

3.2.4.4. Dosage des triterpènes

La méthode décrite par (Chang, 2006) a permis la détermination des triterpènes dans les différents extraits.

a) Principe

Le principe de base de cette méthode est la réaction des triterpènes oxydés avec la Vanilline, où l'acide sulfurique est utilisé comme oxydant. Les sapogénines stéroïdiennes avec ou sans double liaison en C-5, les sapogénines triterpénoïdes et les acides stéroliques et biliaires qui ont un groupe OH en position C-3 réagissent avec la vanilline en milieu acide pour donner des chromogènes avec des maximal d'absorbance à 548 nm, selon la nature des saponines.

b) Mode opératoire

Dans des tubes à essais 20 μ l d'extrait sont mélangé avec, 30 μ l de vanilline, 100 μ l d'acide perchlorique, le mélange est homogénéisé puis, il est mis en incubation pendant 45 minutes à 60°C à l'obscurité. Après refroidissement dans un bain glacé, 450 μ l d'acide

acétique sont ajoutés. L'absorbance est mesurée à 548 nm contre un blanc qui contient tous les réactifs précédemment décrits sauf que l'extrait est remplacé par le méthanol.

c) Expression des résultats

Les résultats sont obtenus en $\mu\text{g EAU}/\text{mg}$ d'extrait sec par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de l'acide ursolique (Absorbances en fonction de la concentration).

3.2.5. Evaluation de L'activité anti oxydante

3.2.5.1. La capacité réductrice du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur des différents extraits est estimé en appliquant la méthode de Yildirin *et al.* (2001).

a) Principe

L'évaluation du pouvoir réducteur est basé sur la réduction du complexe fer ferrique (Fe^{+3}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{+2}), en présence des antioxydants réducteurs, dont la couleur est verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Gülçin *et al.*, 2003).

b) Mode opératoire

Un volume de 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ($\text{C}_6\text{N}_6\text{Fe}_6\text{K}_3$) (1%) est ajouté à 1 ml de chaque extrait (à différentes concentrations). 2,5 ml d'acide trichloracétique ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$) (10%) sont ajoutés au mélange après une incubation de 20 min à 50°C. Après centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min, 2,5 ml du surnageant sont mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique (FeCl_3) (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700nm.

c) Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent acide ascorbique par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g EAA}/\text{mg ES}$).

3.2.5.2. Inhibition du radical cation ABTS+

a) Principe

En réagissant avec le persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) forme le radical ABTS+, de couleur bleu-vert.

L'ajout d'antioxydant réduit ce radical et provoque une décoloration de l'ABTS. La décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm (Hajjaj, 2017).

b) Mode opératoire

- 50 µl de solution d'extrait ou du standard (à différentes concentrations).
- 950µl d'ABTs+.
- Le blanc test contient : 50 µl d'extrait et 950 µl de MeOH.
- Le control contient : 50 µl MeOH et 950µl d'ABTs.
- Agitation.
- Incubation 7 min à l'obscurité.
- Mesurer les Abs à 734 nm.

c) Expression des résultats

D'après Ré *et al.* (1999), les résultats sont exprimés en % d'inhibition.

$$\diamond \text{ \% d'inhibition du radical cation d'ABTs+} = [(Ac-At)/Ac]*100.$$

Ac = Absorbance control.

At = Absorbance test.

$$\diamond \text{ Calcul des concentrations inhibitrices IC}_{50}.$$

IC₅₀ est la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50% du radical ABTS. Les petites valeurs d'IC₅₀ indiquent que l'extrait a une efficacité et aussi un pouvoir antioxydant plus fort.

3.2.5.3. Le test de la capacité anti-oxydante totale (TAC)**a) Principe**

Pour dépister l'activité anti oxydante totale des extraits de la plante testés, le test de phosphomolybdate est utilisé selon la méthode décrite par (Prieto *et al.* 1999). Ce test est basé sur la réduction du molybdène Mo⁺⁶ en molybdène Mo⁺⁵ par des agents antioxydants et la formation d'un complexe vert de phosphate/Mo⁺⁵ à pH acide avec une absorbance maximale à 695nm.

b) Mode opératoire

- 100 µl de l'extrait ou standard.
- 1 ml de réactif de phosphomolybdate.

- Incubation 90 min.
- Lecture à 695 nm.
- Le blanc : l'extrait est remplacé par du MeOH.

c) Expression des résultats

La capacité anti oxydante totale est exprimée en microgramme équivalent d'acide ascorbique par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g EAA/mg ES}$).

3.2.6. Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro

3.2.6.1. Inhibition de la dénaturation des protéines

a) Mode opératoire

L'inhibition de la dénaturation des protéines a été utilisée comme méthode pour déterminer l'activité anti inflammatoire d'extrait *in vitro* selon le protocole décrit par Rahman *et al.* (2012) par l'utilisation de la protéine albumine du sérum bovine (BSA).

- ❖ Solution d'essai (0,5ml) : composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de la protéine albumine du sérum bovine (BSA) 0,5% (p/v) et 0,05 ml d'extrait avec des concentrations variées (500, 1000, 1500, 2000 $\mu\text{g/ml}$).
- ❖ Solution contrôle (0,5ml) : composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% (p/v) et 0,05 ml d'eau distillé.
- ❖ Solution contrôle produit (0,5ml) : composé de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml d'extrait avec des concentrations variées (500, 1000, 1500, 2000 $\mu\text{g/ml}$).
- ❖ Solution standard (0,5ml) : composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% (p/v) et 0,05 ml de la solution standard Diclofénac Sodique avec des concentrations variées (500, 1000, 1500, 2000 $\mu\text{g/ml}$).

Les solutions sont incubées à 37° pendant 20 min puis la température d'incubation est augmentée à 57° pendant 3 min. Après l'incubation 2,5ml du tampon phosphate saline (PBS) a été ajouté aux solutions. L'absorbance a été mesurée à 255 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible.

b) Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la protéine a été calculé par la formule suivante : Le pourcentage d'inhibition = $100 - \left[\left\{ \frac{At - Ac}{At} \right\} * 100 \right]$

At = Absorbance de solution d'essai (extrait testé).

Ac = Absorbance du contrôle.

3.2.6.2. La stabilisation de la membrane des globules rouges

*Préparation de la suspension des globules rouges

Le sang des volontaires (saines) c'est collecté sur des tubes héparines puis centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min et lavé 03 fois avec un volume égal de l'eau physiologique (0.9%). Le volume du culot après lavage est mesuré et reconstitué en suspension à 10 % dans l'eau physiologique (Sadique *et al.*, 1989).

a) Test d'hémolyse induit par la chaleur

Cette méthode basée sur la déstabilisation des membranes des globules rouges induite par la chaleur. Le milieu réactionnel contient 1ml d'extrait avec différentes concentrations (100 -600µg/ml) et 1ml de suspension des globules rouges préparé (Patel D. ; Desai S. ,2016).

Le contrôle négatif est préparé en parallèle en mélangeant 1ml de l'eau physiologique avec 1ml de la suspension des globules rouges. L'acide acétyle salicylique (Aspirine) est utilisé comme un standard avec différentes concentrations (Reshma *et al.*, 2014).

Après incubation pendant 30 min à 60°C (Patel D. ; Desai S. ,2016), les tubes sont centrifugés pendant 5min à 3000 rpm (Rathirse PR *et al.*, 2013). L'absorbance du surnageant est effectuée à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse = $\frac{(Ac-At)}{Ac} * 100$ (Patel D. ; Desai S. ,2016).

Ac: absorbance du contrôle négatif.

At: absorbance d'extrait testé.

b) Test d'hémolyse induit par une solution hypotonique

Cette méthode basée sur la déstabilisation des membranes des globules rouges induite par une solution hypotonique. Le mélange réactionnel est constitué de 1ml du tampon phosphate (ph=7,4, 0,15 M), 2ml de solution hypo saline (0,36%), 0,5ml de suspension des globules rouges préparé (10%) et 0,5ml d'extrait* avec différentes concentrations (100 - 500µg/ml). Le contrôle négatif est préparé de la même manière avec l'élimination d'extrait. L'acide acétyle salicylique (Aspirine) est utilisé comme un standard avec différentes concentrations (Labu ZK *et al.*, 2015). Les mélanges sont incubés à 37° pendant 30 min, puis

sont centrifugés pendant 20 min à 3000 rpm. À la fin l'absorbance du surnageant est effectuée par un spectrophotomètre à 560 nm (Jayasuriya *et al.*, 2017).

Le pourcentage de stabilisation de la membrane des globules rouges est calculé par la formule suivante:

$$\% \text{ de stabilisation} = 100 - (\text{Absorbance d'extrait} / \text{Absorbance du contrôle}) * 100.$$

Chapitre 4

Résultats et discussion

4.1. Le rendement d'extraction

Les extraits aqueux et méthanolique du mélange d'épices (Ras El Hanout) sont obtenus par la méthode de la décoction et la macération respectivement. Le rendement de ces extraits a été déterminé par rapport au matériel végétal sec. Il est illustré dans la figure N°3.

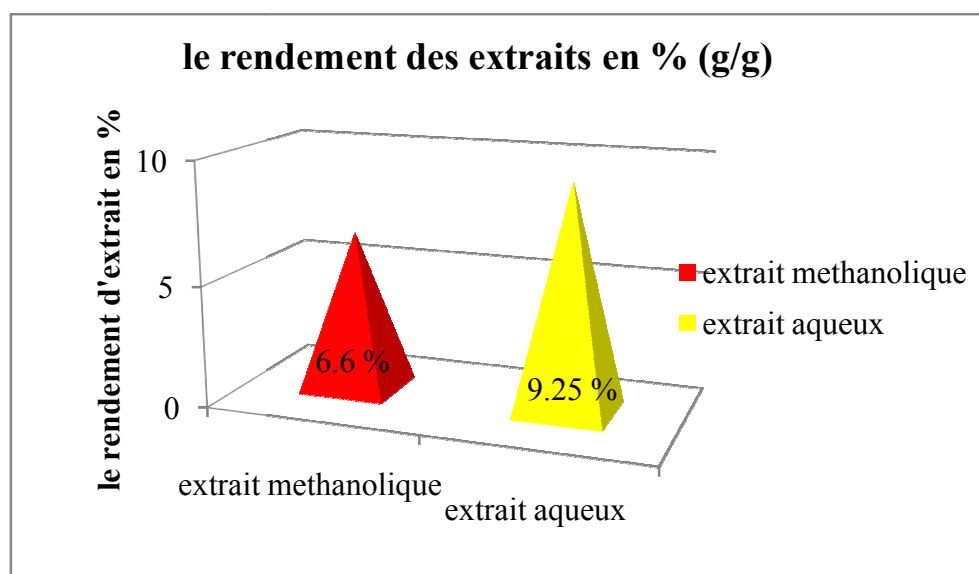


Figure 3. Le rendement d'extraction de Ras El Hanout.

L'extrait aqueux du mélange de Ras El Hanout a donné un rendement élevé 9,25%. Tandis que l'extrait méthanolique a donné un rendement moins que l'aqueux 6,6%. La différence du rendement entre les deux extraits revient aux différentes techniques d'extraction utilisées (Fiorucci, 2006).

Discussion

Dans une autre étude réalisée par (Atti, 2013) qui a travaillé sur un mélange d'épice (Ras El Hanout), l'extrait méthanolique donne un rendement de 10,47%. une autre étude de (Annou, 2017) qui a fait des travaux expérimentaux sur 2 types de mélange l'un a donné un rendement de 7,3% et l'autre a donné 5,86%, cela signifie que nos résultat restent proche à ces travaux.

D'une manière générale le rendement d'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, la richesse de chaque espèce en métabolites, aussi qu'il varie selon des facteurs environnementaux, des maladies, des conditions et la durée de stockage, la période de récolte et la méthode d'extraction appliquée, (Wojdulo *et al.* , 2009). En outre il dépend de type du solvant utilisé (Zhao *et al.* , 2006).

4.2. Screening phytochimique

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés pour le mélange d'épice sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3. Screening phytochimique du mélange étudié (Ras El Hanout).

M.S		Extrait aqueux	Extrait méthanolique
Alcaloïdes		-	-
Tanins	Condensés	++++	+++
	Hydrolysables	-	-
Stéroïdes		+++	+++
Flavonoïdes		+++++	+++++
Térpenoïdes		++++	++++
Glycosides cardiaques		++++	++++
Anthocyanes		-	-
Anthraquinones		++	++
Huiles volatiles		-	++

+++++ indique relativement une très forte présence.

++++ indique relativement une forte présence.

+++ indique relativement une présence moyenne.

++ indique relativement une présence faible.

+ indique relativement une présence très faible.

-indique relativement une présence nulle.

Discussion

Le screening phytochimique des extraits révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolite secondaire.

a) Les alcaloïdes

À partir du tableau, on constate que le mélange d'épices étudié (Ras El Hanout) est dépourvu en alcaloïdes dans les deux extraits. Ces résultats montrent une contradiction avec

les résultats de Boukri (2014) qui a jugé la présence de ces métabolites dans le mélange étudié.

b) Les tanins

Les tanins ont un effet anti diarrhéique; ils sont vasoconstricteurs et limitent la perte en fluides, ces propriétés, ajoutées par ailleurs à leur effet antiseptique, en font des molécules intéressantes pour la régénération des tissus en cas de blessures superficielles, et les rendent utilisables dans le traitement des diarrhées infectieuses (Bruneton, 1999). Les tanins possèdent une forte activité antioxydante, ce sont de très bons piègeurs des radicaux libres et inhibent la formation du radical superoxyde (Bediaga, 2011).

Notre étude montre l'existence des tanins condensés (catéchiques), et l'absence des tanins hydrolysables dans les deux extraits aqueux et méthanolique de Ras El Hanout. El-Haoud et al, (2018) indique la richesse de *mentha spicata* en ces métabolites.

D'autres résultats de Boukri 2014 qui a trouvé des teneurs moyennes en tanins condensés sont enregistrés dans les extraits de *Myristica fragrans* et *Pimpinella anisum*. Ces composés sont faiblement présents dans les extraits de *Foeniculum vulgare* et *Piper nigrum*, mais très faiblement dans l'extrait de *Coriandrum sativum*. Les extraits de *Curcuma longa*, *Zingiber officinale*, *Rosa damascena*, *Cinnamomum cassia*, *Cuminum cyminum* et le mélange d'épices ne renferment pas des tanins galliques.

c) Les stéroïdes

Les composés de type stéroïdes registrent une présence moyenne dans les deux types d'extrait du mélange étudié.

d) Les flavonoïdes

Cette sous classe des polyphénols est apparue fortement dans notre étude. Une étude réalisée par Hachani (2017) qui a approuvé la richesse du curcuma, du gingembre, et surtout le poivre noir en flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont reconnus par de nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie, aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels. Car les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman *et al.*, 1995).

e) les terpenoïdes

Le tableau N° laisse constater que les deux extraits du mélange renferment des Tèrpenoides. Selon les tests effectués par Boukri (2014) qui a trouvé que le *Curcuma longa* est le plus riche. Ainsi que la *Coriandrum sativum*, *Zingiber officinale*, *Cinnamomum cassia* avec des teneurs fortes. Les terpénoïdes semblent moyennement existents dans *Myristica fragrans*, *Piper nigrum* et *Pimpinella anisum*. Des faibles teneurs de *Foeniculum vulgare*, *Rosa damascena* et *Cuminum cyminum* en ces composés. L'épice la plus pauvre en terpénoïdes est le *Carum carvi*.

f) Les glycosides cardiaques

Les métabolites secondaires de type glycosides cardiaque témoignent leur forte présence dans les deux extraits de notre mélange. Une étude réalisée par El-Haoud *et al.* (2018) sur le *mentha spicata* qui a trouvé une forte existence de ces métabolites dans cet épice.

g) Les anthocyanes

Concernant ces molécules, une absence est enregistrée dans les deux types d'extrait du mélange étudié.

h) Les anthraquinones

Ce métabolite montre une faible présence dans les deux extraits du mélange traité.

Nos résultats sont identiques à celle de Boukri (2014).

i) les huiles volatiles

Ce type de métabolite montre une absence dans l'extrait aqueux, par contre une présence dans l'extrait méthanolique dans le mélange étudié. Une étude de Boukri (2014) a trouvé que les épices *Myristica fragrans* et *Cinnamomum cassia* représentent les épices les plus riches en ces composés, par contre que le mélange ne contient pas des composés volatiles.

4.3. Tests quantitatifs (Dosages)

4.3.1. Dosage des polyphénols

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des extraits de Ras El Hanout est faite par l'utilisation de réactif de Folin Ciocalteu selon la méthode de (Wong *et al.*, 2006). Et l'utilisation des différentes concentrations d'acide gallique comme standard (50 à 300 µg /ml). Les tests sont réalisés en triplicata. Les résultats obtenus sont montrés dans la figure(4)

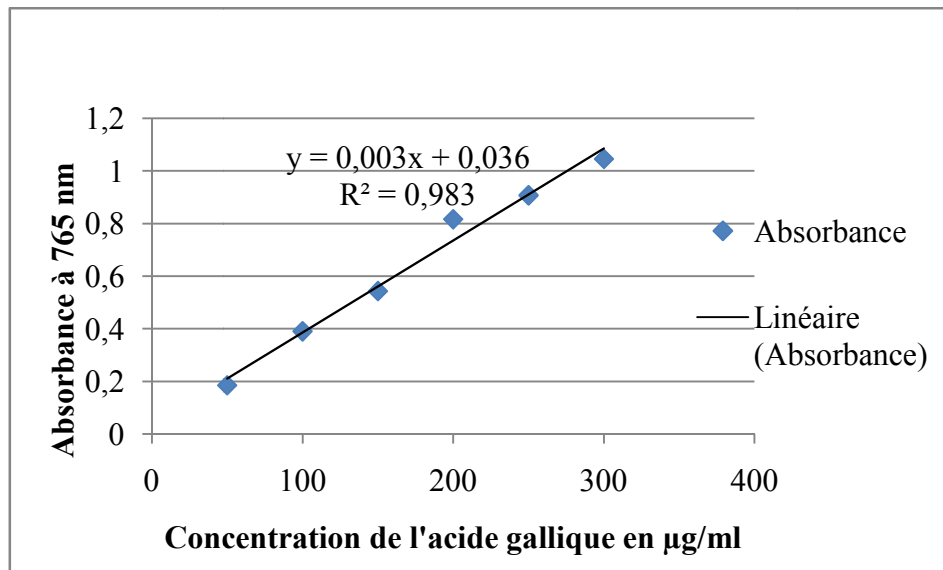


Figure 4. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

La quantité des polyphénols totaux dans les extraits est exprimée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure (5).

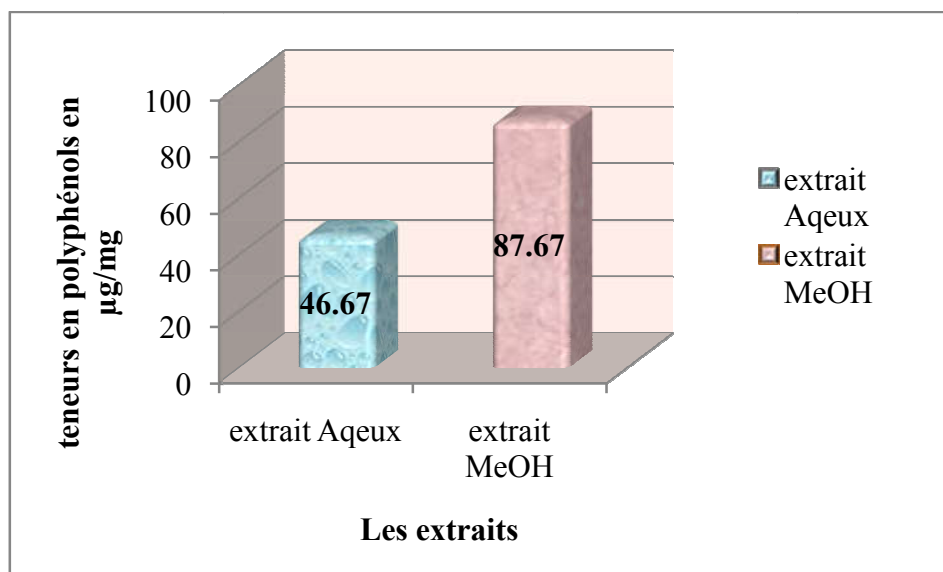


Figure 5. Histogramme des teneurs en polyphénols dans les extraits de Ras El Hanout en μg EAG/mg ES.

La figure (5) montre que l'extrait méthanolique contient une forte teneur en polyphénols $87.67 \pm 0.027 \mu\text{g}$ EAG/mg extrait sec par rapport à celle de l'extrait aqueux $46.67 \pm 0.015 \mu\text{g}$ EAG/mg d'extrait sec. D'après l'étude statistique (annexe 2) on constate que le solvant utilisé n'exerce aucun effet significatif sur les teneurs en polyphénols.

Discussion

Selon l'étude d'Annou (2017) qui a travaillé sur 2 types de mélange d'épices, le contenu phénolique du mélange 1 est de 23.27 ± 2.5 EAG/g ES, alors qu'il est de 43.04 ± 3.56 EAG/g ES pour le deuxième mélange. On déduit que notre mélange d'épices possède une forte richesse en polyphénols.

Le réactif du Folin ciocalteu est un réactif non spécifique est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres, protéines et mêmes des acides organiques (Ali *et al.*, 2014).

4.3.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination de la teneur en Flavonoïdes totaux des extraits est estimée par la méthode de trichlorure d'Aluminium selon le protocole de (Lamaison et carnet, 1990). La rutine considérée comme contrôle positif avec différentes concentrations (50-200 $\mu\text{g/ml}$), qui a permis de réaliser la courbe d'étalonnage (voir la figure ci-dessous).

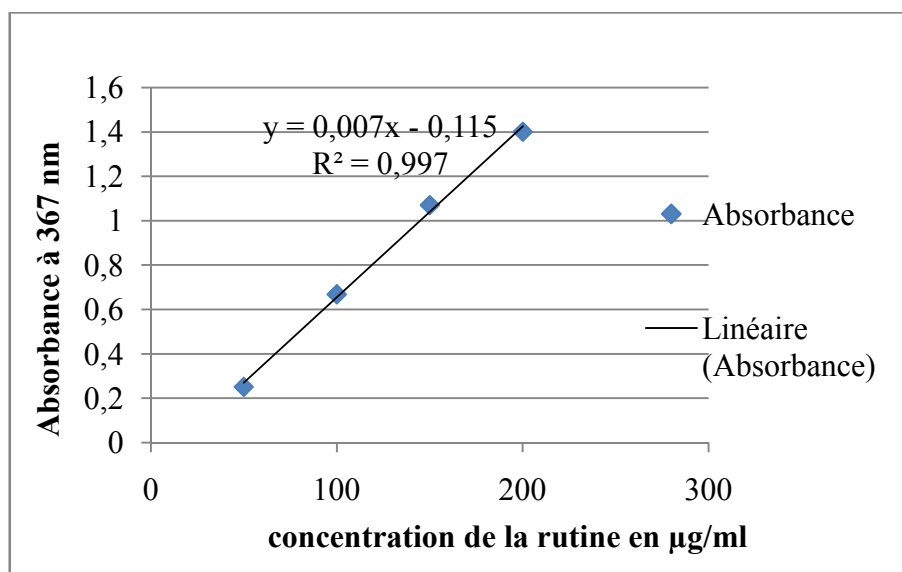


Figure 6. La courbe d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes.

Les résultats du dosage des flavonoïdes sont présentés dans la figure (7) via l'équation linéaire de la courbe d'étalonnage ($y = 0.007x - 0.115$) avec $R^2 = 0.997$. Ils sont exprimés en microgramme équivalent de la Rutine par un milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g ER/mg ES}$).

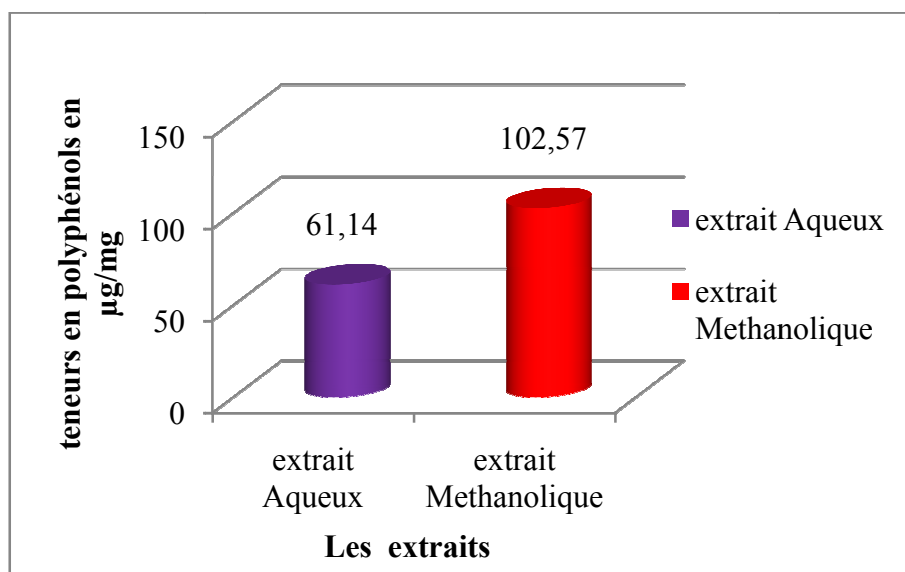


Figure 7. Histogramme des teneurs en flavonoïdes dans les extraits de Ras El Hanout en µg ER/mg ES.

La figure N°7 montre que les deux extraits du mélange étudié sont riches en flavonoïdes mais avec des quantités différentes ; l'extrait méthanolique possède la plus haute teneur en flavonoïdes $102.57 \pm 0.053 \mu\text{g ER/mg ES}$. Alors que l'extrait aqueux renferme $61.14 \pm 0.014 \mu\text{g ER/mg ES}$. L'étude statistique montre un effet hautement significatif ($p=0.001$) de la méthode d'extraction sur les teneurs des flavonoïdes.

Discussion

On suggère que la teneur élevée en flavonoïdes de l'extrait méthanolique peut être due au curcuma grâce à une étude de Mena (2015) avec une valeur de $89.07 \pm 0.9 \text{ mg ER/g ES}$.

4.3.3. Dosage des tanins condensés

Le dosage de ces molécules a été effectué par la méthode de vanilline décrite par (Julkunen-Titto, 1985). En utilisant la catéchine avec différentes concentrations.

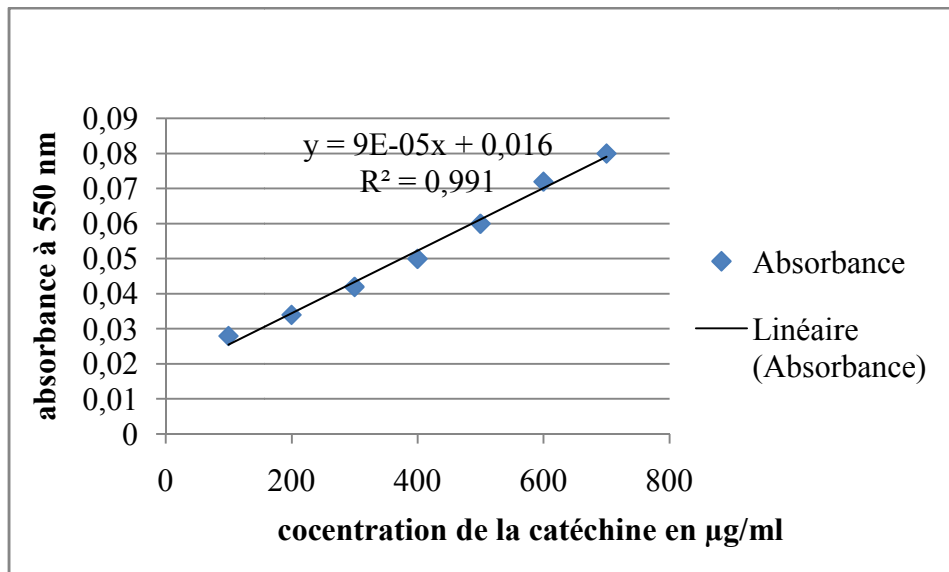


Figure 8. La courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

Les résultats du dosage des tanins condensés sont présentés dans la figure (9) via l'équation linéaire de la courbe d'étalonnage ($y=9E-05x + 0.016$) avec $R^2 = 0.991$. Ils sont exprimés en microgramme équivalent de la catéchine par un milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g EC/mg ES}$).

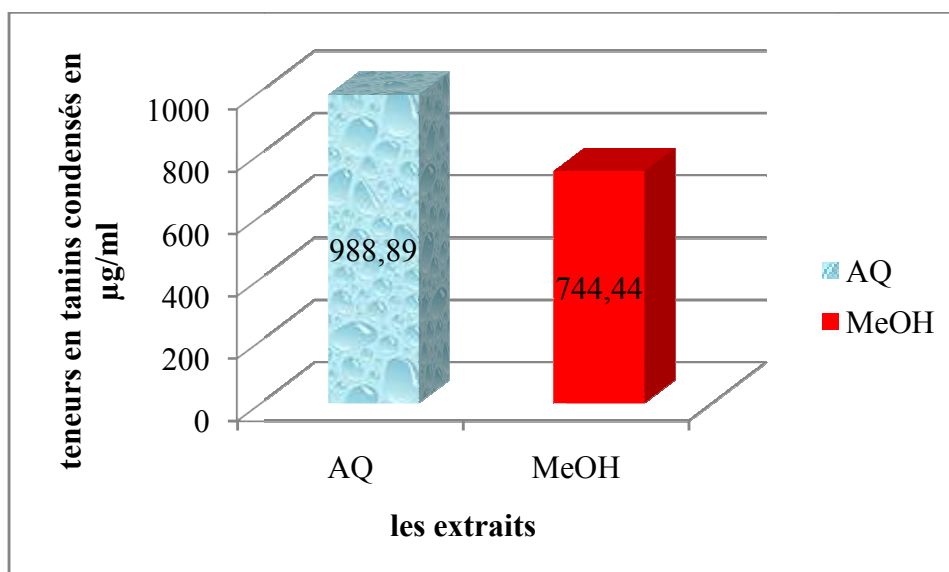


Figure 9. Histogramme des teneurs en tanins condensés dans les extraits de Ras El Hanout en $\mu\text{g EC/mg ES}$.

La figure (9) montre que les deux extraits sont riches en tanins condensés avec différentes concentrations; l'aqueux a donné $988.89\mu\text{g EC/mg ES}$, alors que le méthanolique a donné $744.44\mu\text{g EC/mg ES}$. On constate d'après l'étude qu'il n'y a pas d'effet significatif de l'extrait sur les teneurs des tanins de Ras El Hanout..

Discussion

D'après les travaux réalisés par Annou (2017), les meilleurs teneurs en tanins condensés sont celles de la noix de muscade (0.47 ± 0.03 mg EC/g ES). Les épices les plus dépourvues en ces métabolites sont le curcuma, la coriandre et le carvi dont les teneurs respectives sont de 0.08 ± 0.0 et 0.07 ± 0.01 et 0.18 ± 0.02 mg EC/g ES en tanins condensés. On pense que la richesse de notre extrait méthanolique en tanins due à la cannelle et cela confirmé par les résultats de Ahmada et al. (2013) et Mazimba et al. (2015).

4.3.4. Dosage des tritèrpenes

La détermination des teneurs en tri terpènes a été effectuée selon la méthode de (Chang, 2011) dont l'acide ursolique est utilisé comme standard avec différentes concentrations. Les triterpènes ne sont pas affectés par la méthode d'extraction ($p = 0,051$).

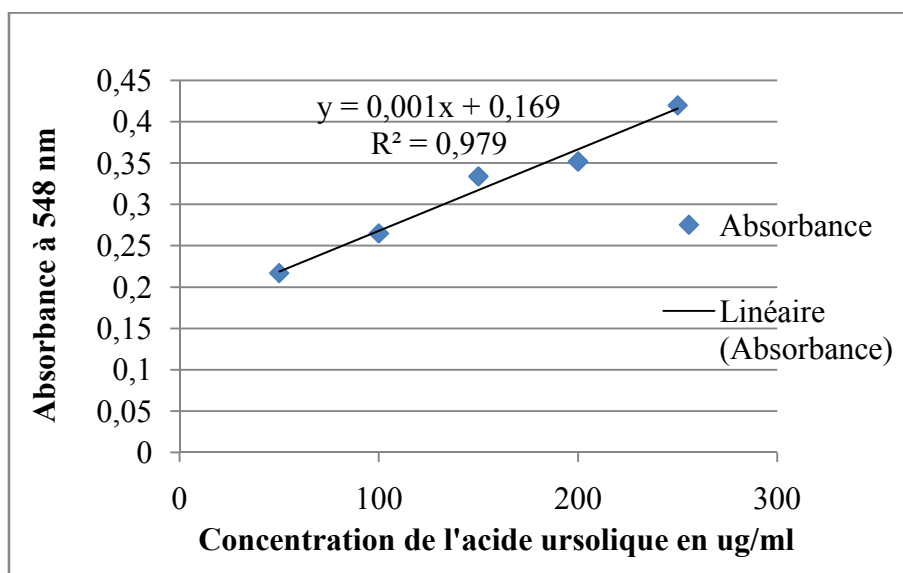


Figure 10. La courbe d'étalonnage de l'acide ursolique pour le dosage des triterpènes.

Les concentrations des triterpènes sont calculées à partir de l'équation ($y = 0,001X + 0,169$) avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,979$ et sont illustrées dans la figure N°(11).

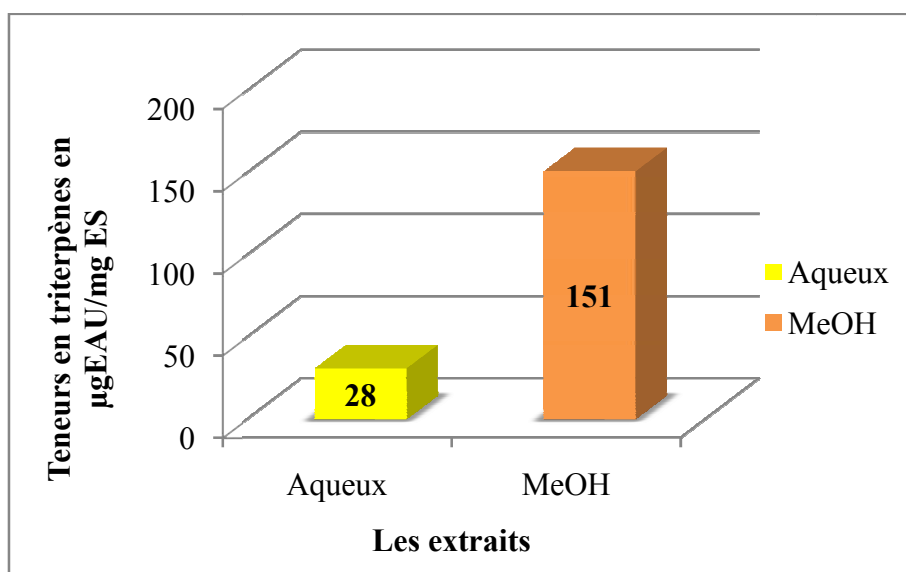


Figure 11. Histogramme des teneurs en triterpènes dans les extraits de Ras El Hanout en µg EAU/mg ES.

Les résultats de la figure (11) montrent que l'extrait méthanolique est très riche en triterpènes avec une teneur très forte $151 \pm 0,08 \mu\text{g EAU/mg ES}$, par contre l'extrait aqueux est moins riche en triterpènes avec une teneur qui ne dépasse pas $28 \pm 0,02 \mu\text{g EAU/mg ES}$.

Discussion

La faible solubilité dans l'eau et la haute liposolubilité sont des propriétés caractéristiques des triterpènes (Niego *et al.*, 2017). Ces caractéristiques expliquent la richesse de l'extrait méthanolique (solvant apolaire) en triterpènes.

4.4.évaluation de l'activité anti oxydante

4.4.1. Réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

L'évaluation de l'activité antioxydante par réduction du fer est une méthode facile et reproductible, pour cela elle est très utilisée pour distinguer les extraits les plus actifs (Li *et al.*, 2007).

Le pouvoir réducteur de deux extraits avec différentes concentrations (200-1000µg/ml) est estimé en appliquant la méthode de Yildirin *et al.* (2001). (figure 12)

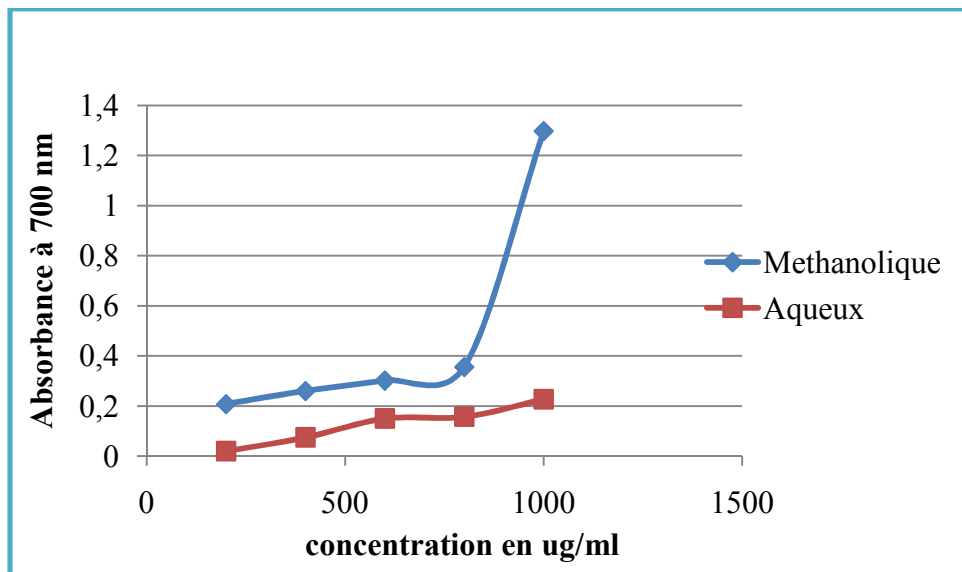


Figure 12. Le pouvoir réducteur des deux extraits aqueux et méthanolique.

La comparaison du pouvoir réducteur a été effectuée par l'extrapolation des absorbances des extraits sur la courbe d'étalonnage d'acide ascorbique qui a utilisé comme standard avec différentes concentrations (50 – 250 μ g/ml) figure (13).

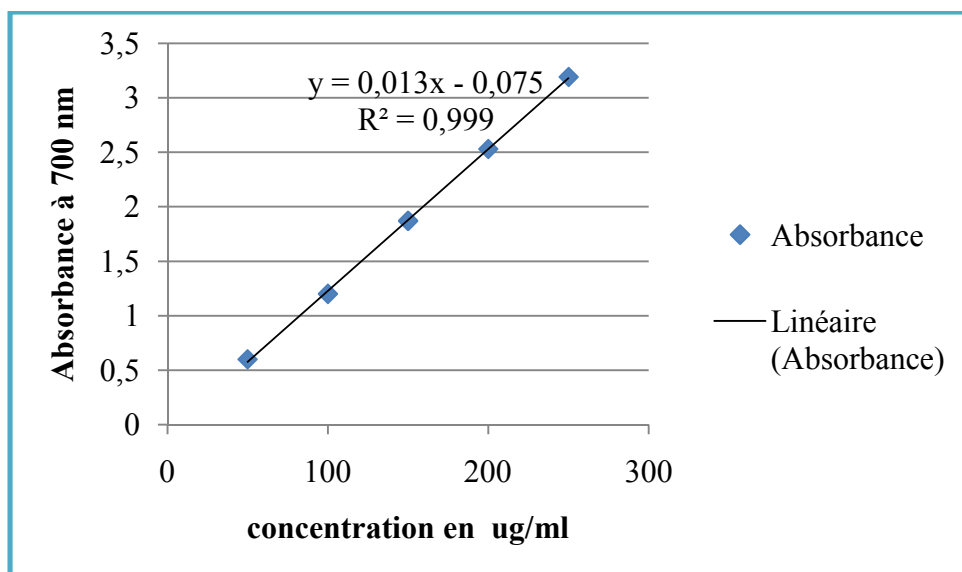


Figure 13. La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test pouvoir réducteur.

Pour une meilleure comparaison entre les deux extraits et le standard on a choisi une concentration commune 200 μ g/ml. Les résultats sont exprimés en μ g EAA/mg d'extrait et sont représentés sous forme d'un histogramme figure (14)

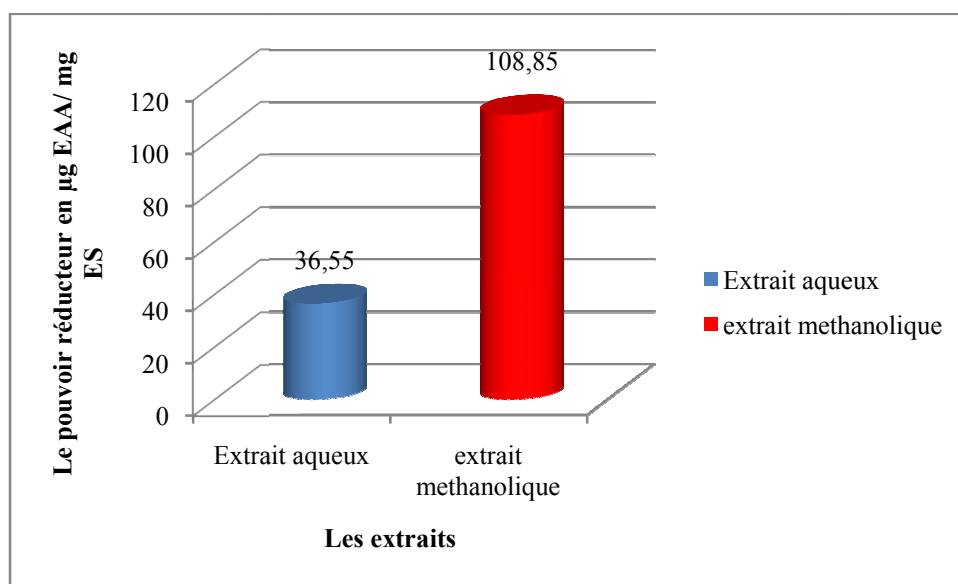


Figure 14. Le pouvoir réducteur de deux extraits.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique a un pouvoir réducteur =108,85µg EAA/mg ES à la concentration 1mg/ml, suivi par l'extrait aqueux avec un pouvoir réducteur =36,54µg EAA/mg ES à la même concentration.

Le pouvoir d'extrait méthanolique à réduire le fer est plus important que celle d'extrait aqueux, ces résultats pourraient être dus aux ses teneurs élevés en composés phénoliques (poly phénols, flavonoïdes, tannins...).

La capacité de don d'électron reflétant le pouvoir réducteur des composés phénoliques et des flavonoïdes constitue un indicateur significatif de son activité antioxydante (Pokorny *et al.*,2000).

4.4.2. Inhibition du radical cation ABTS+

Les résultats qui montrent l'inhibition du radical libre ABTS+ par les extraits et celle du standard sont représentés dans la figure (15).

Les résultats montrent que l'effet anti-radicalaire de nos extraits augmente en fonction de la concentration.

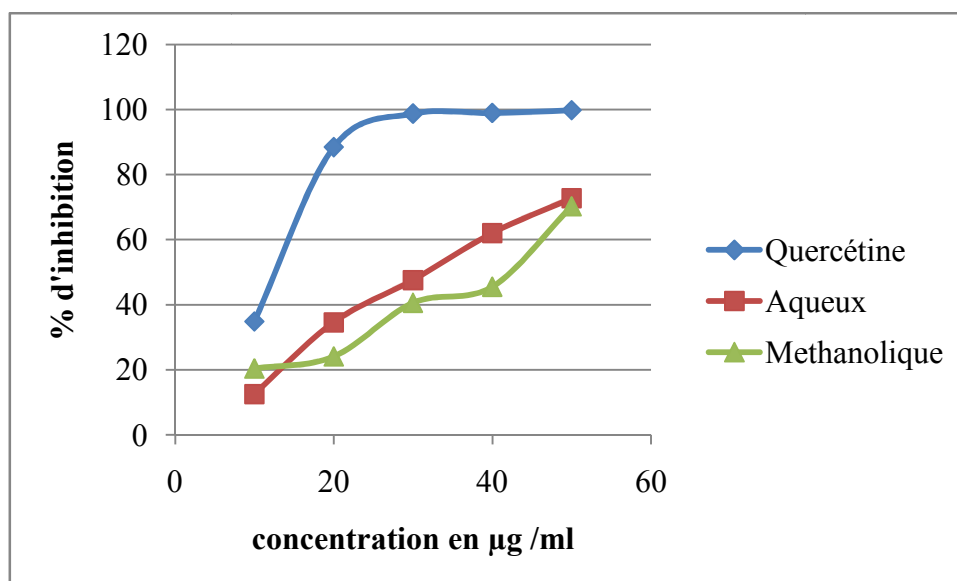


Figure 15. Les pourcentages d'inhibitions de l'ABTS+ par les deux extraits et le standard (la quercétine).

Pour une meilleure comparaison entre nos extraits ainsi que le standard utilisé, on a calculé les IC 50 à partir des graphes précédents. Les IC 50 obtenus sont illustrées dans la figure (16).

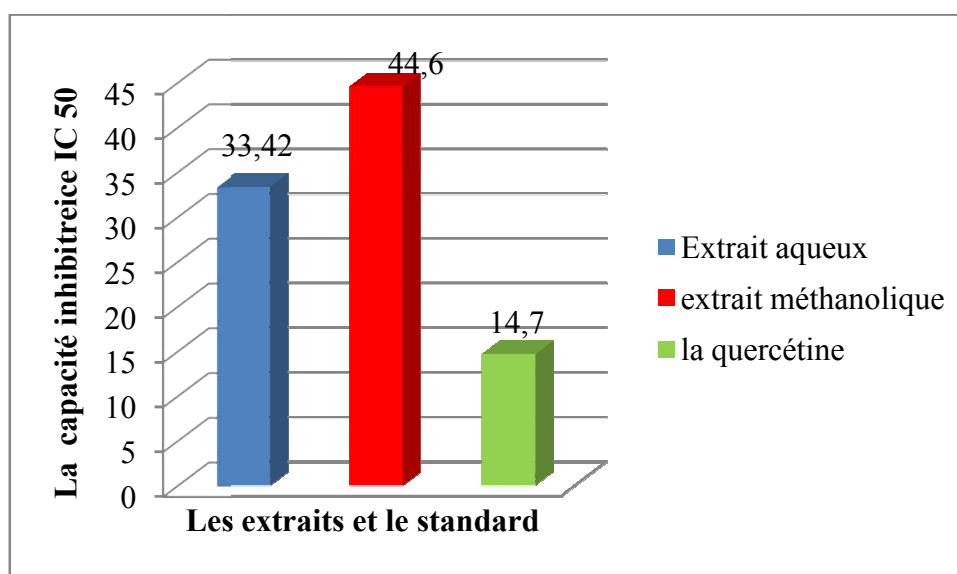


Figure 16. L'IC 50 des deux extraits et le standard (la quercétine).

Les résultats montrés dans la figure indiquent que le standard (la quercétine) possède l'IC 50 la plus petite 14.7µg/ml et pour cela elle détient le pouvoir antiradicalaire le plus puissant, ensuite l'extrait aqueux avec une IC 50 de 33.42µg/ml, enfin l'extrait méthanolique avec 44.6µg/ml. Donc le standard est plus actif que les extraits.

Les flavonoïdes avec des groupes hydroxyles libres agissent comme des piègeurs des radicaux libres, et les multiples groupes d'hydroxyles, en particulier dans le cycle B renforcent leur activité antioxydante (Pokorny *et al.*, 2000).

4.4.3. TAC (La capacité antioxydante totale)

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode de L'acide ascorbique est utilisé comme standard avec différente concentration (50-300 μ g/ml).

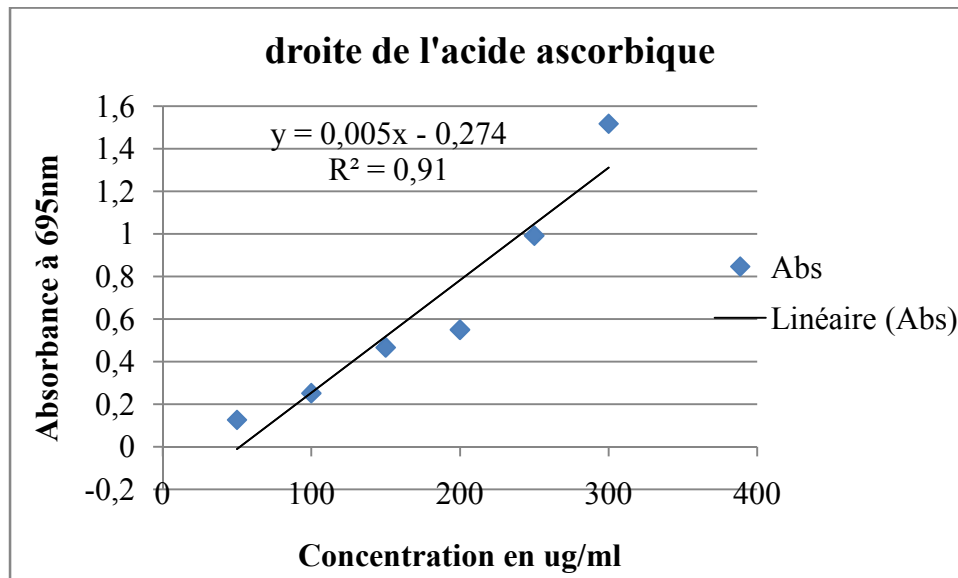


Figure 17. La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour test de TAC.

Les résultats sont représentés en μ g équivalent d'acide ascorbique par mg d'extrait sec par extrapolation des absorbances des deux extraits à la concentration (1mg/ml) sur la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

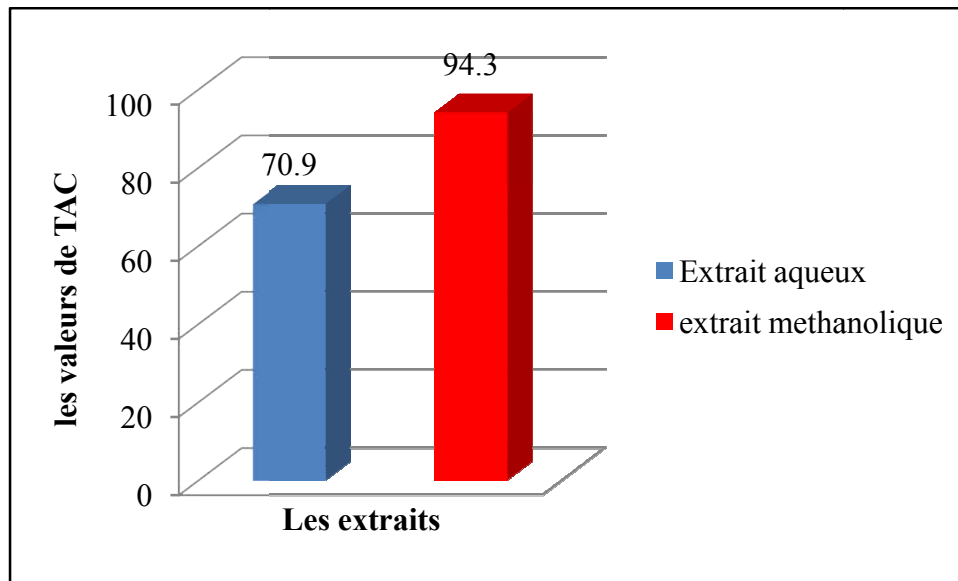


Figure 18. Les TAC des deux extraits aqueux et méthanolique.

D'après les résultats obtenus les deux extraits donnent une activité anti oxydante, mais la valeur d'extrait méthanolique (94,3 μg EAA/mg ES) est plus élevée que celle d'extrait aqueux (70,9 μg EAA/mg ES).

4.5. L'activité anti inflammatoire

4.5.1. Inhibition de la dénaturation des protéines

Selon Rathisre *et al.*, (2013), la méthode de la dénaturation protéique est la plus convenable pour l'évaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro.

L'activité anti inflammatoire de deux extraits par l'inhibition de la dénaturation de la BSA est effectuée selon la méthode de Rahman *et al.* (2012).

Les résultats d'inhibition de la dénaturation de BSA par les deux extraits et le standard sont représentés dans la figure (19).

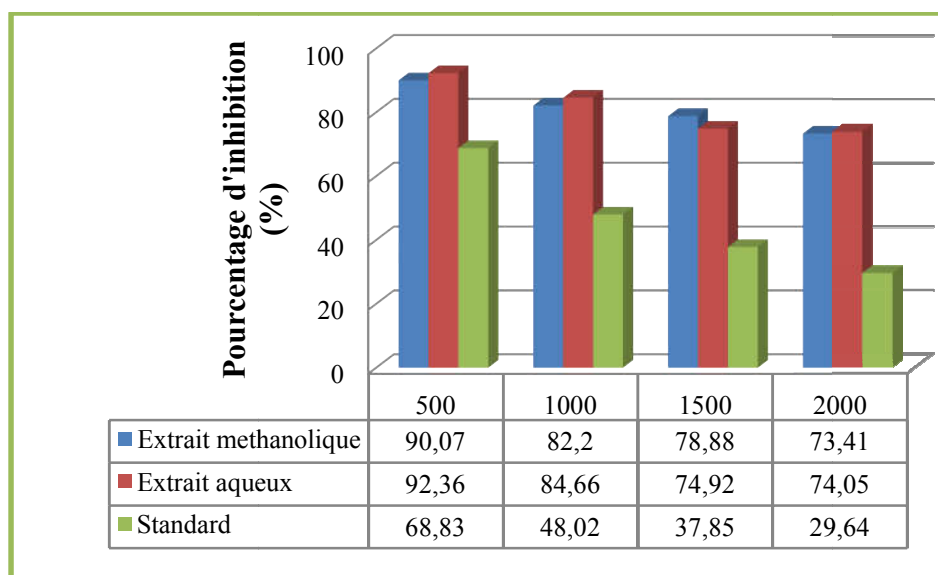


Figure 19. Les pourcentages d'inhibitions de la dénaturation de BSA par les extraits et le standard (Diclofénac sodique).

Selon les résultats obtenus, d'une part on observe que les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de BSA par les deux extraits sont plus élevés que le standard utilisé le Diclofénac sodique (75mg/3ml) avec les différentes concentrations, par exemple à 500µg/ml les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de BSA par l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique et le standard sont respectivement 92,36% ; 90,07 ; et 68,83. Donc l'activité d'inhibition de la dénaturation de deux extraits est mieux que celle du standard utilisé.

D'autre part on constate que l'effet anti dénaturant de deux extraits est inversement proportionnel à la concentration. Le pourcentage d'inhibition le plus élevé pour l'extrait aqueux (92,36%) est obtenu avec la concentration la plus faible (500µg/ml).

Ces résultats coïncident avec les résultats de Williams *et al.*, (2008), selon lesquels l'activité anti dénaturante, des composés naturels isolés à partir des plantes, est plus importante lorsque la concentration est faible (Williams *et al.*, 2008).

La dénaturation protéique est un phénomène durant lequel la protéine perd sa structure tridimensionnelle ou secondaire, suite à son exposition à la chaleur, à un agent infectieux ou chimique (Adarsh *et al.*, 2011) induisant l'exposition de certains sites qui vont devenir des auto-antigènes (Lanneau, 2010).

La dénaturation des protéines est l'une des causes de plusieurs maladies inflammatoires. En effet, la dénaturation des protéines tissulaires est l'une des causes des maladies auto-immunes telles que l'arthrite ou la production d'antigènes auto-immune peut être due à cette dénaturation (Umopathy *et al.*, 2010).

L'activité anti dénaturante des extraits pourrait être due à l'interaction de certains composants avec deux sites (présents au niveau de certaines protéines exemple : l'albumine) de liaisons riches en tyrosine, thréonine, lysine (Williams *et al.*, 2002).

4.5.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges

a) Test d'hémolyse induit par la chaleur

Les valeurs des absorbances obtenues sont converties en pourcentage de stabilisation de la membrane des érythrocytes par l'application de la formule décrite dans la méthodologie.

Une concentration unique est utilisée (100µg/ml) pour les extraits et le contrôle positif (L'Aspirine).

Les pourcentages de stabilisation de la membrane des globules rouges sont présentés dans la figure(20).

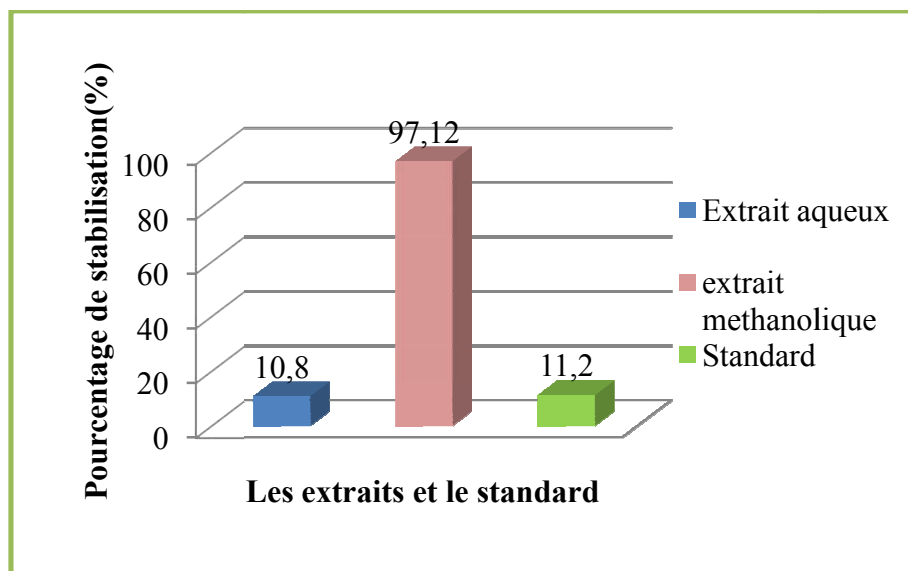


Figure 20. Le pourcentage de stabilisation de la membrane des érythrocytes contre la chaleur par les extraits et le standard (Aspirine).

Selon les résultats obtenus on observe que l'extrait methanolique a un effet sur la stabilisation de la membrane des globules rouges contre l'agent dénaturant (la chaleur) avec un pourcentage de stabilisation très important=97,12%, au contraire de l'extrait aqueux qui a un effet faible sur la stabilisation de la membrane des érythrocytes par 10,8%. Pour le standard utilisé (Aspirine), on observe que son pourcentage de stabilisation ne dépasse pas 11,2%.

les tannins et les flavonoïdes possèdent une action inhibitrice sur l'inflammation (Banerjee *et al.*, 2014).

b) Test d'hémolyse induit par une solution hypotonique

Les valeurs des absorbances obtenues sont converties en pourcentage d'inhibition de l'hémolyse (stabilisation de la membrane) par l'application de la formule décrite dans la méthodologie. Plus le pourcentage de stabilisation de la membrane est grand, plus le surnageant a une couleur rouge claire et plus l'extrait a une forte activité anti-inflammatoire. Une concentration unique est utilisée (100 μ g/ml) pour les extraits et le contrôle positif (L'Aspirine).

Les pourcentages de stabilisation de la membrane des globules rouges sont présentés dans la figure (21) :

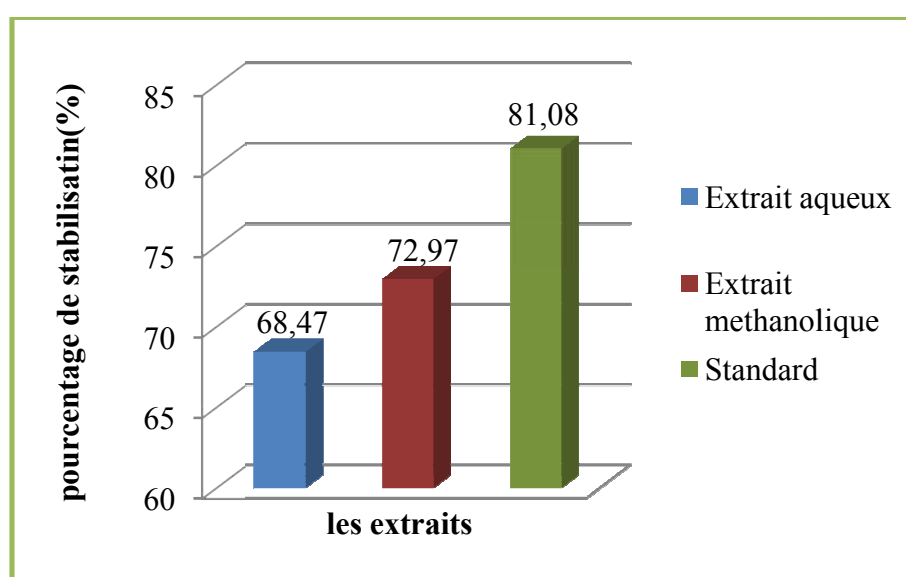


Figure 21. Les pourcentages de stabilisation de la membrane des érythrocytes contre la solution hypotonique par les extraits et le standard (Aspirine).

D'après les résultats obtenus, on observe que les deux extraits du mélange étudié exercent un effet anti inflammatoire par la stabilisation de la membrane des globules rouges contre l'effet de la solution hypotonique avec des pourcentages de stabilisation élevés à une concentration unique =100 μ g/ml ; l'extrait méthanolique a un effet mieux que l'extrait aqueux avec un pourcentage de stabilisation = 72,97%, alors que le standard utilisé stabilise la membrane des globules rouges avec un pourcentage de 81,08%.

L'étude de l'activité anti inflammatoire du mélange *in vitro* par l'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes par un milieu hypotonique et thermiquement montre que les deux extraits ont un effet anti hémolytique.

Dans les résultats obtenus par les deux méthodes, l'extrait méthanolique reste toujours le plus efficace que l'extrait aqueux.

Selon Oyedapo (2010) et Yogannadam *et al.* (2010), le test de la protection de la membranaire des érythrocytes contre la lyse est utilisé pour l'étude préliminaire de l'activité anti-inflammatoire in vitro, étant donné que la membrane des globules rouge et la membrane des lysosomes sont de structure similaire. L'exposition des érythrocytes aux substances nocives telles que le milieu hypotonique conduit à la lyse de la membrane, accompagnée par l'oxydation et la dégradation de l'hémoglobine (Mohamed Saleem *et al.*, 2011).

Conclusion

Conclusion

Depuis l'antiquité les plantes font partie de la vie de l'homme ; dans leur nourriture ou leur utilisation thérapeutique. Les plantes médicinales constituent une source très importante des molécules qu'ayant des activités biologiques intéressantes.

Dans les dernières années des études approfondies ont été réalisées sur les composés d'origines végétales, qui présentent des intérêts particuliers sur le plan pharmacologique et cosmétique...

Dans ce travail, un mélange d'épices (Ras El Hannout) a été choisi afin de déterminer ses bienfaits dans le domaine thérapeutique.

L'extraction qui a été faite par deux solvants permettant l'obtention de deux rendements différents dont le plus élevé est celui de l'extrait aqueux (9,25 %), suivi par l'extrait méthanolique (6,6%).

L'extrait méthanolique, malgré son faible rendement il présente une grande richesse en poly phénols ($87,67 \pm 0,027 \mu\text{g EAG/mgES}$), flavonoïdes ($102,57 \pm 0,053 \mu\text{g ER/ mgES}$), et en triterpènes ($151 \pm 0,08 \mu\text{g EAU/ mgES}$). Tandis que l'extrait aqueux est moins riche en ces composés mais il est riche en tannins condensés ($988,89 \mu\text{g EC/mgES}$).

Dans deux tests soit FRAP ou TAC, que nous avons utilisé pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante du mélange de Ras El Hannout, l'extrait méthanolique présente une activité plus puissante, par contre l'extrait aqueux a montré un effet anti-oxydant plus puissant montré par le pouvoir d'inhibition de l'ABTS+.

Les résultats des tests de l'évaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro* montrent que les deux extraits exercent presque la même efficacité d'inhiber la dénaturation des protéines, mais dans la stabilisation de la membrane des globules rouges l'extrait méthanolique qui exerce une activité plus importante même dépasse celle du standard "Diclofinac".

À partir des résultats de cette étude on conclue que le mélange d'épices "Ras El Hannout" qui est largement utilisé dans la cuisine Algérienne constitue une très bonne source naturelle des agents antioxydants et anti inflammatoires.

Ce travail peut être complété par d'autres travaux, afin d'évaluer certaines activités thérapeutiques telles que l'activité analgésique, antalgique, anti-inflammatoire *in vivo*.

Évaluer d'autres activités *in vitro*, comme l'effet antibactérien, antifongique.

Références

Références

A

Adarsh V.M, Ajay K.P, Kavitha D, Anurag K.B. (2011). Antidenaturation and antioxidant activities of *Annona cherimola* in vitro. *Int J Pharm Biol Sci* 2: 1–6.

Agrahari P., Singh D.K., 2014. A review on the pharmacological aspects of *Carum carvi* Journal of Biology Earth Sciences 4:1-13.

Ahmada S. I., Capoorb M. and Khatoona F., 2013. Phytochemical analysis and growth inhibiting effects of *Cinnamomum cassia* bark on some pathogenic fungal isolates. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 5(3):25-32.

Ali N.A.A., Julish W.D., Kusunick C., Lindesquist U. 2001. Screening of yamani medicinal plant for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of Ethnopharmacology*. 74:173-179.

Annou G.2017. Activités biologiques des épices constitutives d'un mélange « Ras el hanout » utilisé par les habitants de Ouargla. Thèse de doctorat en biologie, université Kasdi Merbah, Ouargla, 170p.

APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105-121.

Atamer A.2008. The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis 36:771-776.

Atti I. 2013. Evaluation des activités antioxydantes et antiradicalaires d'un mélange d'épices « Ras El Hanout ». Mémoire de master, université Kasdi Merbah, Ouargla, 91p.

B

Bahorun T.1997. Substances naturelles actives. La flore Mauricienne. une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council, Réduit, Mauritius, Université de Maurice, pp 83-94.

Banerjee S., Chanda A., Adhikari A., Das A.K., Biswas S. 2014. Evaluation of phytochemical screening and anti inflammatory activity of leaves and stem. of *Mikania scandens* (L.) wild. *Annals of Medical and Health Sciences Research*, 4(4): 532-536.

Bediaga M., 2011. etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat, université de Bamako, P.10.

Bellakhdar J. 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. p 397.

Benhammou N., Atik Bekkara F., Coustard J.M., 2009. Antioxidant activity of methanolic and water extracts from *Marrubium deserti de Noë* and *Thymelaea microphylla* from Algerian Sahara. *Advance in Food Science* 31 (4): 194-201.

- Bensaha W., Guitton R. 2015. Effet synergique des épices constitutives de mélange « ras el hanout » sur les activités antiinflammatoire et antioxydante. Mémoire de master, université Kasdi Merbah, Ouargla, 87p.
- Bernard A. 2012. Les épices c'est malin, cannelle clou de girofle, poivre... leurs bienfaits et toutes leurs utilisations méconnues pour la santé, la beauté et la maison, p.16.
- Bijoy M., Jayati S., Prabir K.S. 2008. Antioxidant activities of soybean as affected by Bacillus-fermentation to kinema. *Food Research International* 41 : 586–593.
- Blétry O., Kahn J-E., Somogyi A. 2006. Immunopathologie, réaction inflammatoire. Édition de Masson. 2e Édition. Paris, p.18-20.
- Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J. 2003. Radicaux libres et antioxydants. En : Delattre J., Durand G., Jardillier J-C. Biochimie pathologique. Flammarion, Paris, 317 p.
- Botting R.M., Botting J.H. 2000. Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: An overview. *Clinical Drug Investigation* 19(2): 1-7.
- Bouakaz I. 2006. Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.
- Boualem M. 1988. Situation actuelle des plantes condimentaires en Algérie. I.N.R.A. p.584.
- Bouderdara N. 2013. Séparation et détermination de structures des métabolites secondaires de *Cachrylibanotis L.* Thèse de doctorat en sciences, université Mentouri, Constantine, p.7-8.
- Boukri N. 2014. Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Mémoire de master, université Kasdi Merbah, Ouargla, 99p.
- Brudieux V. 2007. Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure/activité à la dermocosmétique. Thèse doctorat, université de Limoges.
- Brunet S. 2008. Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. En vue de l'obtention du Doctorat, spécialité : Pathologie et Nutrition. Université De Toulouse, p.246.
- Bruneton J. 1999. *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. 3ème Ed Tec & Doc, Paris, pp. 101-120.
- Bruneton J. 2009. *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales*, 4e éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales. p 128.

C

- Carlo C., 1997. Le poivre, moteur de l'histoire: Du rôle des épices, et du poivre en particulier, dans le développement économique du Moyen âge, L'Esprit frappeur, p. 98.
- Chang H. He and Fan J. P. 2006. "Simultaneous quantification of three major bioactive triterpene acids in the leaves of *Diospyros kaki* by high-performance liquid chromatography method". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41(3) : 950–956.

Chaouch A., 2001. Etude des alcaloïdes dans le coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées). Mémoire de magister, Université d'Ouargla, P 44.

Chiolero A., Würzner G., Burnier M. (2000). Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2: moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classique. *Néphrologie*, 21 : 425-430.

Craig C., J. D., Gregory et Hausmann W., 1950. *Versatile laboratory concentration device* , *Anal. Chem* vol. 22, p. 1462 .

D

Dacosta Y. 2003 .Les phyto nutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris, p.317.

Dialla D., 2000. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Azoaceae), *Diospyros abyssinica* (Eblanceae), *entada Africana* (Méliacée), thèse de doctorat de Recherche, université de Lausanne, Suisse.

Droniou-cassaro M. 2012. Les épices, les symposiarques. p. 2.

E

EL-Haoud D., Boufellous M., Berrani A., Tazougart H., Bengueddeur R. 2018. Phytochemical screening of a medicinal plant: *Mentha Spicata*. *American Journal of innovative Research and applied Sciences* 7(4):226-233.

F

Farrell K. T. 1990. Spices, condiments, and seasonings, 2nd. New York: Van Nostrand Reinhold.

Faure S. 2009. Anti-inflammatoires stéroïdiens. *Pharmacothérapie pratique* 48:51-56.

Fauve R., Hevin M. 1998. Réaction inflammatoire et réactions immunitaires. In: inflammation. Russo-Marie F., Peltier A., Polla B.S. Eds, John Libbey Eurotext (France), pp. 10-19.

Favier A. 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*. pp. 108-117.

Fiorucci S. 2006. Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat université de Nice, p 211.

Flandrin J. L. 1996. Alimentation et médecine. Histoire de l'alimentation occidentale : Diététique ancienne, cuisine et formation du goût. Épices, aromates et condiments. 3P

Fuhrman. B., Lavy A., and Aviram M. (1995). Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr* 61:549-554.

G

Ghazi, F., Sahraoui, S. 2005. Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de datte communes Tantbouchtet Hamraia, mémoire d'ingénieur en agronomie, El Harrach.

Girre, L. 2001. Les plantes et les médicaments : l'origine végétale de nos médicaments. *Food Chemistry* 111: 925-929.

Goto M., Ueda K., Hashimoto T., Fujiwara S., Matsuyama K., Kometani T., Kanazawa K. 2008. A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-déoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine* 45: 1318-1325.

Gülçin L., Oktay M E., Kireççi E & Küfrevioğlu Ö İ. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry* 83: 371.

H

Hachani M.A.R., 2017. Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et l'effet synergique de *Curcuma longa*, *Piper nigrum*, *Zingiber officinale roscoe*. Mémoire de master, université de Mohamed Khider, Biskra, 71p.

Hajjaj G. 2017. Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Matricaria chamomilla* et de *Ormenis mixta*. (Asteraceae). Thèse de doctorat en Sciences du Médicament. Université Mohammed V Rabat, 167p.

Halliwell, B., 2006. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of Neurochemistry*. Department of Biochemistry, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore, Singapore.

Harborne J.B., 1973. *Phytochemical methods*, Chapman and Hall, LTD, London. pp. 49-188.

Harborne J.B., 1998. *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of Plants analysis*. Third Edition. pp : 203-214.

Heers J. 2008. Rôle historique des épices et des aromates. *Terre et vie* N°96.

J

Jean M. P. 2006. *La culture des plantes aromatiques*. 93p.

Jiri P. 2003. Triterpènes pentacycliques biologiquement actives et leur médecine actuelle, université de Bohême du Sud, Ceské Budejovice, République Tchèque.

Julie S. Jurenka, MT(ASCP), 2009- Anti-inflammatory Properties of Curcumin, a Major Constituent of *Curcuma longa*: A Review of Preclinical and Clinical Research. *Alternative Medicine Review* Volume 14p 141-153).

Julkunen-Titto R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, p. 213.

K

Kanoun K. 2011. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus Communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de Magister en Biologie, Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen, 118p.

L

Labu, ZK et al. 2015. Membrane stabilization as a mechanism of anti-inflammatory and thrombolytic activities of ethanolic extract of arial parts of *Spondiasis pinanata* (Family: Anacardiaceae). *Pharmacologyonline* 2: 44-51.

Lamison J.L.C. et Carnet A. 1990. Teneurs en principaux flavonoids des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D.C) en fonction de la vegetation. *Pharm.Acta.Helv* 65 :315-320.

Lanneau, D. (2010). Rôle des protéines de choc thermique HSP90 et HSP70 dans la différenciation macrophagique. Thèse de Doctorat medecine. Université de Bourgogne

Lendvaib, Zelles T., ROZSA B, Vizies. 2002. Vinca alkaloid exchanges morphological dynamics of dentric neocortical Layer 2/3 pyramidal cells. *Brain Research Bulletin*, 59 (4): 257-260.

Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F. ET Jiang Y. 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry* 102: 771-776.

Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L. and Ming-Jiuan W. 2003. Antioxydant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifeca Gertn*), *J. Food. Drug. Anal* 11(1): 60-66.

Loft, S., Møller, P., Cooke, M.S., Rozalski, R. & Olinski, R. 2008. Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker (2):19- 28.

Lugasi A., Hovari J., Sagi K. V., Biro L. 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica Szegedientsis. pp.* 1-4.125-119.

Lumbu S; Kahumba B; Kahambwe T; Mbayo T; Kalonda M; Mwamba M; Penge O., 2005. Contribution à l'étude de quelques plantes médicinales anti diarrhéiques en usage dans la ville de Lubumbashi et ses environs, *Annales de Pharmacie*, 3 (1) : 75-86.

Lutge U ; Kluge M, Bauer G. (2002). Botanique 3eme Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris. p211.

M

Macheix J., Fleuriet A., Jay C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires. *Collection Biologie*, pp.1-11.

Maurice N. 1997- L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Lavoisier, Paris, p. 12-14.

Mazimba O., Wale K., Kwape T.E., Mihigo S. O., Kokengo B. M., 2015. Cinnamomum verum: Ethylacetate and methanol extracts antioxidant and antimicrobial activity. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 3(3): 28-32.

Menna H.2017. Activités anticoagulante et phagocytaire de quelques épices (curcuma, gingembre et poivre noir). Mémoire de Master en biologie, université de Kasdi Merbah, Ouargla, 76p.

Meziti H. 2009. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malva Parviflora L.* Mémoire de Magister, université Ferhat Abbas, Sétif, 91P.

Mohamed Saleem T.K, Azeem A.K, delip C, Sankar C, Prasanth N.V, Duraisami R. 2011. Anti-inflammatory activity of the leaf extracts of *Gendarussa vulgaris* Nees. *Asian Pac J Tropic Biomed*, pp.147-149.

Mohammedi Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse pour l'obtention du diplôme de magister en Biologie, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, 155p.

Mojab F; Kamalinejad M; Ghaderi N; Vanidipour H.R., 2003. Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*.(3): 77-82.

Mustafa T., 1990. Ginger (*Zingiber officinale*) in Migraine Head ache, *Journal of Ethnopharmacology*, 29 : 267–273.

N

Ndiaye M., S.Y, Gy, Dièye AM. Touré M.T, et Faye B.2006. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'*Annona reticulata* (annonaceae) sur l'œdème aigue de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharm. Méd.* 17: 179-186.

Niege A. J. C. F., Pirson L., Edelberg H., Miranda L.M., Loira-Pastoriza C., Preat V., Larondelle Y., and André C.M. 2017. Pentacyclic triterpene bioavailability : an overview of in vitro and in vivo studies. *Molécules* 2-24.

O

Odebiyi O., Sofowora E., 1978. Phytochemical screening. Nigeria medicinal plants. *L.Loydia*. 41:41- 234.

Oyedapo .O. 2010. Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. *Int J Plant Physiol Biochem.* 2:46–51.

P

Patel D., Desai S.2016. Phytochemical screening, in vitro anti-microbial and anti-inflammatory activity of methanolic extract of *aster lanceolatus* willd leaves. *International Journal of Medicine Research*, 1(1): 26-30.

Peter M., Pamela W., Konemann. 1987. La bible des herbes, p. 64.

Peter Y., Wong Y., David D., Kitts, 2006. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chemistry*, 97: 505-515.

Pham, J, 2007. *Piper nigrum* L. : aspects botanique, chimique et pharmacologique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Nantes. P13.

Phaniendra A., Jestadi D.B., Periyasany L. 2015. Free radicals: properties, sources, Targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 30 (1):11-26.

Picchi A. 2006. Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. *Circ. Res*, 99: 69-77 p.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O. 2002. Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16: 233-239.

Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. 2000. Antioxidants in food Practical applications, p. 48,160.

Prieto P., Pineda A M., Agular M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphor molybdenum complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269: 337- 341.

Puziah H et al. 2011. Composition triterpène et Bioactive de *Central l'asiatisa*, ISSN 1420-3049.

R

Rankin J.A. 2004. Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clinical Issues* 15(1): 3-17.

Rahman, H., C.M. Eswaraiah, K. Vakati and P. Madhavi, 2012. In-Vitro Studies Suggest Probable Mechanism Of Eucalyptus Oil For Anti-Inflammatory And Anti-Arthritic Activity. *International Journal of Phytopharmacy*, 2(3): 81-85.

Rathisre, P. R., Mohan, R et Murugesan, K. 2013. In-vitro Anti-Inflammatory Activity of Methanolic Root Extract of *Erythrina Indica* Lam. *International Journal of Research in Chemistry and Environment*, 3(4): 48-51.

Ribéreau-Garyon.P, 1968 : Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod Paris, p 254.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggebnte, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Sci. Inc*. 26, 1231–1237.

Redhead J., 1990. utilisation des aliments tropicaux: sucres, épices et stimulants, organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, pp :19-20-21-22-23-46.

Reshma et al. 2014. *In vitro* anti-inflammatory, antioxidant and nephroprotective studies on leaves of *Aegle marmelos* and *Ocimum sanctum*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(4): 121-129.

Risser A., Donovan D., Heintzman J., et Page T. 2009. NSAID prescribing precautions. *American family physician*, 80(12): 1371-8.

Russo-Marie F., Peliera S., Polla B. 1998. L'inflammation. Edition John Libbey Eurotext. Paris, pp. 172-192.

S

Sadique J., AL-Rqobahs W.A., Bughaith EI-gindi A.R. 1989. The bioactivity of certain medicinal plants on the stabilization of RBS membrane system. *Fitoterapia*, 60:525-532. P 45.

Sanni S., Thilza I.B., Ahmed M. T., Sanni F.S., Talle .M and Okworg. O. 2010. The effect of aqueous leaves extract of henna (*Lawsonia inermis*) in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in swiss albino mice. *Academia arena*, 2(6).

Sarveswaran R., Jayasuriya W. J. A. B. N., Suresh T.S., 2017. In vitro assays to investigate the anti inflammatory activity of herbal extracts. *World journal of pharmaceutical research* 6(17):131-141.

Shiva Rani S. K., Neeti Saxena, Udaysree. 2013. Antimicrobial Activity of Black Pepper (*Piper nigrum* L.). *Global Journal of Pharmacology* 7 (1): 87-90, 2013.

U

Umaphathy E, Ndebia E.J, Meeme A, Adam B, Menziura P, Nkeh-Chungag B.N, Iputo J.E. 2010. An experimental evaluation of *Albuca setosa* aqueous extract on membrane stabilization, protein denaturation and white blood cell migration during acute inflammation. *J Med Plant Res*, 4 (5), 789-795.

United States Department of Agriculture (USDA). Classification for Kingdom Plantae Down to Species *Carum carvi* L. Naturellere sources conservation service.

W

Wichtel M., Anton R. 2003. *Plantes thérapeutiques*. 2^{ème} édition, paris, p. 692.

Williams D.G. 1996. *The chemistry of essential oils. An Introduction for Aromatherapists, Beauticians, Retailers and Students*, Micell Press, Weymoth (UK).

Williams L.A.D. *et al*, 2002 in Duganath, N., Rubesh Kumar, S., Kumanan, R et Jayaveera, K.N. (2010). Evaluation Of Anti-Denaturation Property And Anti-Oxidant Activity Of Traditionally Used Medicinal Plants. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(2): 1-7.

Williams, L.A.D., Connar A. O., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J.A., Conrad, J., Vogler, B., Rosner, H et Kraus, W. (2008). The in vitro Anti-denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumin is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-inflammatory Compounds, without the use of Animals, in the Early Stages of the Drug Discovery Process. *West Indian Med J*, 57 (4): 327- 331.

Wojdylo A., Oszmian'ski J, Czemerzys R. 2007. Antioxidant activity and phenolic Compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105 : 940-949.

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

Y

Yildirim A., Mavi A and Kara AA. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 9: 4083-4089.

Yogannadam G.P, Ilango K, Suchitra D. (2010). Evaluation of anti-inflammatory and membrane stabilizing properties of various extracts of *Punica granatum* L. (Lythraceae), *Int J PharmTech Res*, **2(2)**, 1260-1263.

Z

Zhao H., Dong J., Lu J., Chen J., Li Y., shan L., Lin Y., Fan W., and Gu G.2006. Effects of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and Selectivity for free phenolic compounds in barley *Hordeum vulgare* L. *J. Agric. Food Chemistry* 54 : 7277–7286.

Zette G., 2009. Les secrets de la cuisine en terre marocaine. Nouvelles édition de l'université Dominique AUZIAS associés 14, Paris.

Sites web**Site web 1**





https://www.myrtea-formations.com/modules/aromatheque/Fichiers_pdf/HE-Rosa_damascena-170904-web.pdf.

Annexes

Annexes

Annexe 1. La classification des épices de Ras El Hanout.

Epices	Classification botanique	Epices	Classification botanique
 <p>Anis vert</p>	<p>Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Apiales Famille : Apiaceae (ombellifère) Genre : Pimpinella Espèce : <i>Pimpinella anisum</i> L (Bouderdara, 2013).</p>	 <p>Le gingembre</p>	<p>Règne : Plantae Classe : Liliopsida Ordre : Zingiberales Famille : Zingibéraceae Genre : Zingiber Espèce : <i>Zingiber officinale</i> L (Mustafa, 1990).</p>
 <p>Le carvi</p>	<p>Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Apiales Famille: Apiaceae Genre Carum Espèce <i>Carum carvi</i> L. (Agrahari et Singh, 2014).</p>	 <p>La menthe verte</p>	<p>Règne : plantae Classe : Angiosperme Ordre : Lamiales Famille : Lamiacées Genre : Mentha Espèce : <i>Mentha spicata</i> L. Nom commun : Menthe verte APG III, 2009</p>
 <p>La cannelle</p>	<p>Règne : Plantae Classe : Dicotyledonae Ordre : Magnoliales Famille : Lauraceae Genre : Cinnamomum Espèce : <i>Cinnamomum cassia</i> L (Girre, 2001).</p>	 <p>Noix de muscade</p>	<p>Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Magnoliale Famille : Myristicaceae Genre : Myristica Espèce : <i>Myristica fragrans</i> L (Bellakhdar, 1997).</p>
 <p>La coriandre</p>	<p>Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Apiales Famille : Apiaceae Genre : Coriandrum Espèce : <i>Coriandrum sativum</i> L (Peter <i>et al.</i>, 2006).</p>	 <p>Le poivre noir</p>	<p>Règne : Plantae Classe: Magnoliopsida Ordre : Pipérales Famille : Pipéracées Genre : Piper Espèce : <i>Piper nigrum</i> L (Carlo, 1997).</p>

 <p>Le curcuma</p>	<p>Règne : Plantae Classe : Liliopsida (monocotylédone) Ordre : Zingiberales Famille : Zingibéracées Genre : Curcuma Espèce : <i>Curcuma longa</i> (Wichtl et Anton, 2003)</p>	 <p>Le pyrèthre d'Afrique</p>	<p>Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Asterales Famille : Asteraceae Genre : Anacyclus Nom binomial : <i>Anacyclus perythrum</i> (L.) Link, 1822.</p>
 <p>Le cubèbe</p>	<p>Règne : Plantae Sous règne : Tracheobionta Division : Magnoliophyta Sous classe : Magnoliidaie Ordre : Piperales Famille : piperaceae Genre : Piper Nom binomial : <i>Piper cubeba</i> L.f., 1782</p>	 <p>Rosie de Damas</p>	<p>Règne : plantae Sous règne : tracheobionta Division : magnoliophyta Classe : magnoliopsida Sous classe : rosidae Ordre : rosales Famille : rosaceae Genre : rosa (Site web 1).</p>

Annexe 2. Etude statistique.**ANOVA à un facteur contrôlé : polyphénols en fonction d'extrait**

Analyse de variance pour poly

Source	DL	SC	CM	F	P
EXTRAIT	1	368,3	368,3	6,72	0,061
Erreur	4	219,4	54,8		
Total	5	587,7			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	Ecart Type	IC
E1	3	48,777	5,091	(-----*-----)
E2	3	64,447	9,153	(-----*-----)

Ecart-type groupé = 7,406

48 60 72

ANOVA à un facteur contrôlé : flavonoïdes en fonction d'extrait

Analyse de variance pour flavonoïdes

Source	DL	SC	CM	F	P
EXTRAIT	1	2580,5	2580,5	83,21	0,001
Erreur	4	124,0	31,0		
Total	5	2704,5			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	Ecart Type	IC
E1	3	61,19	1,94	(----*----)
E2	3	102,67	7,63	(---*---)

Ecart-type groupé = 5,57

60 80 100 120

ANOVA à un facteur contrôlé : triterpènes en fonction d'extrait

Analyse de variance pour ter

Source	DL	SC	CM	F	P
EXTRAIT	1	22694	22694	7,57	0,051
Erreur	4	11987	2997		
Total	5	34681			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	Ecart Type	IC
E1	3	30,67	18,01	(-----*-----)
E2	3	153,67	75,29	(-----*-----)

Ecart-type groupé = 54,74

0 100 200 300

ANOVA à un facteur contrôlé : Tanins en fonction d'extrait

Analyse de variance pour Tanins

Source	DL	SC	CM	F	P
EXTRAIT	1	92365	92365	1,03	0,367
Erreur	4	357369	89342		
Total	5	449734			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	Ecart Type	IC
E1	3	992,6	151,7	(-----*-----)
E2	3	744,4	394,6	(-----*-----)

Ecart-type groupé = 298,9

350 700 1050 1400

Résumés

Résumés

المخلص

يتركز هذا العمل على دراسة و تقييم النشاطات البيولوجية لخليط من التوابل " رأس الحانوت " المستعمل لدى سكان ولاية بسكرة في الأطباق التقليدية والمتكون من اثني عشر تابلا. حيث اثبت الفحص الكيميائي للخليط وجود العفصيات المكثفة, الستيرويدات, الفلافونويدات, التربينويدات, جليكوسيدات القلب, انتراكينونات في كل من المستخلصين الكحولي والمائي. أما الزيوت الطيارة فوجدت في المستخلص الكحولي فقط. كما بين التحليل الكمي أن المستخلص الكحولي غني بعديدات الفينول و الفلافونويدات والتريترينويدات , أما المستخلص المائي فهو غني بالعفصيات المكثفة. من ناحية أخرى أكدت دراسة النشاط المضاد للأكسدة لهذا الخليط وذلك بتقدير ABTS, و FRAP التي أعطت أفضل قيمة في المستخلص الكحولي 108.85 ميكروغرام على الملتر. كما اثبت النشاط المضاد للالتهاب للخليط المدروس أن المستخلص المائي قام بتثبيط هدم البروتين الزلالي بنسبة 92.36%. فيم يخص ثبات عشاء الكريات الحمراء وذلك من خلال اختبار الانحلال بواسطة الحرارة , أعطى المستخلص الكحولي نسبة مثيرة للاهتمام 97.12%, إلا انه في اختبار وسط قليل التركيز حافظ المستخلص الكحولي على ثبات عشاء الكريات الحمراء بنسبة 72.97% مقارنة بالأسبرين 81.08%.

الكلمات المفتاحية: رأس الحانوت, التحليل الكيميائي, النشاطات البيولوجية, FRAP, اختبار الانحلال.

Le résumé

Ce travail se concentre sur l'étude et l'évaluation des activités biologiques d'un mélange d'épices " Ras El Hanout" fréquemment utilisable chez les habitants de la wilaya de Biskra au niveau des plats traditionnels, constitue de douze épices.

Le test de screening phytochimique a approuvé la présence de : tanins condensés, stéroïdes, flavonoïdes, terpènes, glycosides cardiaques, anthraquinones dans les deux extraits, tandis que les huiles volatils existent seulement dans l'extrait méthanolique.

L'analyse quantitative a montré que l'extrait méthanolique est riche en polyphénols, flavonoïdes, triterpènes, alors que l'extrait aqueux riche en tanins condensés.

D'autre part, l'évaluation de l'activité antioxydant de ce mélange a confirmé par les tests d'ABTS, et FRAP qui a donné une meilleure valeur 108.85µg/ml dans l'extrait méthanolique.

L'activité anti-inflammatoire du mélange étudié a approuvé que l'extrait aqueux inhibe la dénaturation de l'albumine avec un taux de 92.36%. Concernant la stabilisation de la membrane des globules rouges lors du test d'hémolyse induit par la chaleur, l'extrait méthanolique a donné un pourcentage très intéressant 97.12%, alors que le test effectué par la solution hypotonique a montré que l'extrait méthanolique stabilise la membrane des globules rouges avec un taux de 72.97% contre 81.08% pour l'aspirine.

Les mots clés : Ras El Hanout, Screening phytochimique, Les activités biologiques, FRAP, Test d'hémolyse.

Abstract

This work focuses on the study and the evaluation of biological activities of mixture of spices "Ras El Hanout" frequently used by the inhabitants of Biskra in traditional dishes, consisting of twenty spices.

The phytochemical screening test approved the presence of: condensed tannins, steroids, flavonoids, terpenes, cardiac glycosides, and anthraquinones in both extracts, while volatile oils only in the methanolic extract.

The quantitative analysis showed that the methanolic extract is rich in polyphenols, flavonoides, triterpenes, while aqueous extract is rich in condensed tannins.

On the other side, the evaluation of antioxidant activity of this mixture confirmed by tests of: ABTS, and FRAP which gave a better value of 108.85µg/ml in the methanolic extract.

The anti-inflammatory activity of the test mixture approved that the aqueous extract inhibited the denaturation of albumin with a level of 92.36%. The stabilization of the membrane of red blood cells in the heat induced hemolysis assay, the methanolic extract gave a very interesting percentage 97.12%, whereas the test carried out by the hypotonic solution showed that the methanolic extract stabilizes the membrane of red blood cells with a rate of 72.97% against 81.08% for aspirin.

Key words: Ras El Hanout, Phytochemical screening, Biological activities, Frap, Hemolysis assay.