

N° Ref :.....

## Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF - Mila

Institut des Sciences et de la Technologie Département des Sciences de la Nature et de la Vie

### Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la

Vie Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

### Thème :

*Effets des substances bioactives des clous du girofle sur  
quelques paramètres biochimiques chez les lapins diabétiques*

### Présenté par :

FERHAT ABD ELHAK

MERAKCHA MOUFIDA

SADAoui NESMA

### Devant le jury composé de:

M Bendjeddou Mouna

MCB

Présidente

Mr Kellab Rabah

MAA

Promoteur

Mr Bouhali Imad Eddin

MCB

Examineur

Année universitaire : 2021/2022

# **REMERCIEMENTS**

## **SALAM SUR SON PROPHETE MOHAMMED**

*" الحمد لله الذي هدانا لهذا وما كنا لنهتدي لولا أن هدانا الله "*

*Nous tenons à remercier Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour achever ce travail, et tous eux qui ont contribué à la*

*réalisation de ce travail en particulier à:*

*Notre encadreur **Monsieur Mr. Kellab Rabah** maître assistant à l'université de Mila, pour avoir accepté de nous encadrer, et qui a proposé le thème de ce mémoire,*

*et pour ses conseils qui ont amélioré la réalisation de ce mémoire.*

*Nous remercions également messieurs les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance,*

*tout particulièrement :*

***Madame Bendjadou Mona**, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de  
Ce mémoire.*

*. **Monsieur Bouhali Imad Eddin**, qui a bien voulu examiner ce travail.*

*Nous voudrions ensuite adresser un remerciement particulier à :*

***M me Bouaroudj Samah** docteur vétérinaire pour son aide au cours de l'expérimentation.*

*Enfin nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de*

*Loin pour l'élaboration de ce travail.*



## *Dédicace*

Je remercie ALLAH de m'avoir illuminé le  
chemin de savoir et de m'avoir  
donné le foie et le courage pour arriver jusque-là.

Je dédie ce présent travail premièrement et avant tout aux deux êtres  
les plus chers sur cette terre, mes parents qui n'ont jamais  
cessé de me soutenir tout au long de mes études.

A mon chers frère Youcef, pour son soutien inconditionnel, sa patience  
illimitée et ses encouragements incessants jusqu'à l'achèvement de ce travail.

A mon responsable de travail et ma considération durant les années d'étude

A mes sœurs Rima, Khadija et Iman  
et leur famille.

A mes frères Sliman, Yassin et Fayçal et leurs épouses et leurs  
enfants

A mes chères wassila , Keltoum

A mes chers Professeur

A toute la famille Sadaoui.

A ceux que j'aime du fond de cœur



**NESMA**



## *Dédicace*

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce modeste travail .

A l 'âme pure de mon frère Mourad, rahimahou Allah, que  
Son âme repose en paix et le place aux plus hauts rangs du paradis

\*\*\*\*

A mes chers parents pour leur amour et leur support continu,

Je vous dois tous mes succès, tous mes bonheurs et toutes mes joies.

Je suis très heureuse et fière de votre présence à mes côtés.

\*\*\*\*

A mes très chères sœurs et à mes très chers frères et leurs enfants

\*\*\*\*

A mon cher mari pour son soutien et sa présence à mes côtés

\*\*\*\*

A toute ma famille A tous mes ami(e)s

Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde reconnaissance pour  
tout ce que vous avez fait pour moi

Que Dieu le tout puissant vous procure continuellement santé, bonheur et  
tranquillité.



**MOUFIDA**



## Dédicace

A ceux qui m'ont donné sans rien en retour,  
A ceux qui m'ont encouragée et soutenue dans mes moments les plus difficiles,  
Et ceux à qui je dois tant

\*\*\*

A mes chers parents pour leur amour et leur support continu,  
Je vous dois tous mes sucées, tous mes bonheurs et toutes mes joies.

\*\*\*

A mes très chères sœurs et à mes très chers frères et leurs enfants

\*\*\*

A toute ma famille

\*\*\*

A tous mes ami(e)s

\*\*\*

Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde reconnaissance  
pour

Tout ce que vous avez fait pour moi

Que Dieu le tout puissant vous procure continuellement santé, bonheur et tranquillité.

**ABD ELHAK**



# *Sommaire*

# Sommaire

Résumé (Français)	
Résumé (Arabe)	
Résumé (Anglais)	
Liste des abréviations	
Liste des unités	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>Introduction</b>	

## *Synthèse bibliographique*

### *Chapitre I: Le diabète*

<b>Introduction</b> .....	<b>3</b>
<b>I. Le pancréas</b> .....	<b>3</b>
I. 1. Anatomie et histologie du pancréas.....	3
<b>II. Insuline</b> .....	<b>4</b>
II.1. Définition.....	4
II.2. Mécanisme d'action.....	4
<b>III. Diabète</b> .....	<b>5</b>
III.1. Définition.....	5
III.2. Classification.....	6
III.2.1. Le diabète de type 1(anciennement insulino dépendante DID) .....	6
III.2.2. Le diabète de type2 (Diabète non insulino dépendant) .....	6
III.2.3. Le diabète gestationnel.....	7
III.2.4. Autre types spécifiques de diabète.....	7
III.3. Facteurs de risques.....	8

## *Chapitre II: La phytothérapie*

<b>Introduction.....</b>	<b>12</b>
<b>I. Les plantes médicinales.....</b>	<b>12</b>
<b>II. La phytothérapie.....</b>	<b>12</b>
II.1.Définition.....	12
II.2. Différent types de la phytothérapie.....	12
II.2 .1.Aromathérapie.....	13
II.2.2.Gemmothérapie.....	13
II.2.3.Herboristerie.....	13
II.2. 4.Homéopathie.....	13
II.2.5. phytothérapie pharmaceutique.....	13
II.3. Les avantages de la phytothérapie.....	13
II.4. Effets indésirables.....	14
II.5. phytothérapie antidiabétique.....	14
II.6. La phytochimie.....	14
II.6. 1. Définition.....	14
II.6. 2. Le principe actif.....	14
II.6. 3. Les principes actifs antidiabétiques.....	15
II.6. 3.1. Les composés phénoliques.....	15
Flavonoïdes.....	15
Tanins.....	15
II.6. 3.2.Les saponosides.....	15
II.6. 3.3. Les alcaloïdes.....	15
II.6. 3.4. Les terpenoïdes.....	15

## *Chapitre III : Aperçu général sur le clou de girofle*

<b>Introduction.....</b>	<b>20</b>
<b>I. Aspect historique.....</b>	<b>20</b>
<b>II. Origine et distributio.....</b>	<b>21</b>
<b>III. Etude botanique de la plante.....</b>	<b>21</b>
III.1. Classification.....	21
III.2. Description botanique.....	22



<b>IV.</b>	<b>Culture et récolte du girofle.....</b>	<b>25</b>
	IV.1.Agro – écologie.....	25
	IV.2.La récolte.....	25

***Chapitre IV : Caractérisation pharmacologique de la spéculiation étudiée***

<b>I.</b>	<b>La valeur nutritive de clou de girofle.....</b>	<b>30</b>
<b>II.</b>	<b>Substances biologiquement actives dans les clous girofle.....</b>	<b>30</b>
<b>III.</b>	<b>Composition chimique de clou de girofle.....</b>	<b>30</b>
<b>IV.</b>	<b>Propriétés thérapeutiques des clous de girofle.....</b>	<b>30</b>
	IV.1.Bonne digestion.....	30
	IV.2.Propriétés antibactériennes.....	31
	IV.3.Propriété de protection chimique.....	31
	IV.4.Protection du foie.....	31
	IV.5.Prise en charge du diabète.....	31
	IV.6.Préservation des OS.....	32
	IV.7.propriétés anti mutagènes.....	32
	IV.8.Propriétés anti inflammatoires.....	32
	IV.9.Santés bucco-dentaires.....	32
<b>V.</b>	<b>Toxicologie.....</b>	<b>33</b>

***Partie expérimentale***

***Matériel et Méthode***

	<b>Objectif scientifique.....</b>	<b>37</b>
<b>I.</b>	<b>Matériel méthode.....</b>	<b>37</b>
	I.1.Matériel végétal.....	37
	I.1.1. 1. Girofle.....	37
<b>II.</b>	<b>Méthodes d'extraction et d'analyse.....</b>	<b>38</b>
	II.1.Extraction par macération .....	39
	II. 1.1.Macération.....	39
	II.1.2.Mode opératoire.....	39
	II.1.3.Préparation des extraits.....	40

II.2.Méthodes d'analyse de la composition de la plante.....	40
II.2.1.Etude phytochimique.....	41
II. 2.1.1.phytochimie qualitative.....	41
Tanins.....	41
Saponoside .....	41
Flavonoïdes.....	41
Glucosides cardiotoniques.....	41
Coumarines.....	42
Anthracénosides.....	42
Alcaloïde.....	42
Amidon.....	42
Anthraquinones.....	42
Mucilage.....	42
Acide aminé.....	43
Stérols tri –terpènes.....	43
II. 2.1.2.phytochimie quantitative.....	43
Humidité.....	43
Mode Opérateur.....	43
Expression des résultats.....	43
<b>III. Dosage des polyphénols .....</b>	<b>44</b>
III.1. Mode opératoire.....	44
III.2. Expression des résultats.....	44
<b>IV. Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de trichlorure d'Aluminium.44</b>	
IV.1.Mode d'opérateur.....	45
<b>V. Evaluation de l'activité antioxydante.....</b>	<b>45</b>
<b>VI. L'activité antibactérienne.....</b>	<b>46</b>
VI.1. Les souches bactériennes testées.....	46
VI. 2. Les milieux de culture.....	46
VI.3. Revivification microbiologique des souches bactérienne.....	47
VI.4. Vérification de la pureté des souches bactériennes.....	47
VI.5. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de Syzygium aromaticum...47	
Pré-enrichissement des souches bactériennes.....	47

Préparation des suspensions bactériennes.....	47
Evaluation de l' activité	
antibactérienne.....	48
<b>VI. Matériel animal.....</b>	<b>50</b>
VI.1.Matériel animal.....	50
VI.2.Local de travail.....	50
VI.3.Les animaux d'expérimentation.....	50
<b>VII. Produit médical.....</b>	<b>51</b>
VII.1. Définition de l'alloxane.....	51
VII.2. Mécanisme d'action.....	51
<b>VIII. Méthode d'évaluatio d'activité anti-hyperglycémiant d'extraits de clous de girofle</b>	<b>52</b>
.....	
VIII.1 Induction chimique du diabète.....	52
VIII.1.1. Mesure de la glycémie.....	52
VIII.1.2. Réparation des animaux.....	53
VIII.1.3. Gavage des extraits végétaux.....	53
VIII.1.4. Evolution du poids corporel.....	56
VIII.1.5. Prélèvement sanguin.....	56
VIII.2. Abattage et prélèvement sanguin.....	56
<b>IX. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du sang.....</b>	<b>56</b>
IX.1. Dosage du glucose.....	56
IX.2. Dosage de la cholestérolémie .....	58
IX.3. Dosage de la triglycéridémie .....	60

### ***Résultats et Interprétation***

<b>I. Caractérisation physico-chimiques.....</b>	<b>65</b>
I.1. Tests qualitatifs.....	65
I.2. Tests quantitatifs.....	66
I.3. Le taux de l'humidité et de la matière sèche.....	66
I.4. Le rendement.....	67

I.5. Dosage des polyphénols.....	68
I.6. Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de trichlorure d'Aluminium.....	69
I.7. Activité anti oxydante.....	71
<b>II. Résultats des tests microbiologique.....</b>	<b>73</b>
VI. 1. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits.....	74
VI.2. Pouvoir antibactérien d'extraits de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	74
<b>VII. Résultats des différents paramètres avant et après induction.....</b>	<b>75</b>
VII.1. Variation du poids corporel de lot témoin durant 35 jours.....	76
VII.2. Variation du poids corporel du lot MNT durant 35 jours.....	76
VII.3. Variation du poids corporel durant 35 jours du lot traité par E.A.B .....	77
VII.4. Variation du poids corporel du lot traité par E.Ethn durant 35 jour.....	77
VII.5. Variation du poids corporel durant 35 jour du lot traité par E.Méthn.....	78
VII.6. Comparaison de la glycémie de lot témoin et lot du MNT.....	79
VII.7. Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits (EAB ,E.Ethn,E.Méthn).....	80
VII.8. Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits et le lot témoin .....	81
VII.9. Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits et lot MNT.....	82
VII.10.Différents paramètres biochimiques après abattage des lapins.....	83

## **Conclusion**

## **Annexes**

## Résumé

L'objectif de cette étude porte sur l'effet de divers extraits des clous de girofle sur quelques paramètres biochimiques, et l'effet pondéral chez les lapins de souche locale, *Oryctolagus cuniculus domesticus*, rendus diabétiques par injection de l'Alloxane, substance diabétoène.

Actuellement, les plantes médicinales sont la base de toutes les recherches afin de pouvoir extraire des substances bioactives à caractère préventif et curatif, pour différentes maladies, chroniques ou aiguës. Cependant, les troubles d'origine endocrinienne ont pris une ampleur de haut degré de façon à ce qu'ils sont devenus plus fréquents, cas du diabète qui occupe la première place de ces maladies, sont soulagés ou guéris par des principes actifs à activité antidiabétique. A cet effet, les clous de girofle ont toutes les caractéristiques pour être utilisés comme phytomédicaments afin de traiter ou de prévenir ce trouble endocrinien qui prend de l'ampleur à travers le monde. A cet effet, il nous parut plus qu'utile de mener une expérimentation pour connaître leurs effets sur les paramètres métaboliques chez les lapins rendus diabétiques.

Ainsi, les différents extraits (aqueux, éthanolique, méthanolique), employés Comme traitement ont donné des résultats satisfaisants pour tous les paramètres étudiés en plus ont entraîné un effet significatif sur la diminution des taux du cholestérol, de triglycérides par contre elles entraînent une diminution des autres paramètres biochimiques en particulier la glycémie

**Les mots clés :** Alloxane, clou de girofle, glycémie, Triglycérides, cholestérol, transaminases, phosphatase alcaline.

## Summary

The objective of this study concerns the effect of various extracts of cloves on some biochemical parameters, and the weight effect in rabbits of local strain, *Oryctolagus cuniculus domesticus*, made diabetic by injection of Alloxane, a diabetogenic substance. Currently, medicinal plants are the basis of all research in order to be able to extract bioactive substances with a preventive and curative character, for different diseases, chronic or acute. However, the disorders of endocrine origin have taken on a high degree of magnitude so that they have become more frequent, the case of diabetes, which occupies the first place of these diseases, are relieved or cured by active ingredients with activity antidiabetic. To this end, cloves have all the characteristics to be used as phytomedicines to treat or prevent this endocrine disorder which is gaining momentum throughout the world. To this end, it seemed more than useful to us to carry out an experiment to know their effects on the metabolic parameters in rabbits made diabetic. Thus, the different extracts (aqueous, ethanolic, methanolic), used as treatment gave satisfactory results for all the parameters studied in addition to having a significant effect on the reduction of cholesterol levels, triglycerides on the other hand they lead to a reduction of other biochemical parameters in particular blood sugar

Key words: Alloxane, clove, blood sugar, Triglycerides, cholesterol, transaminases, alkaline phosphatase.

هدفت هذه الدراسة إلى تأثير مستخلصات القرنفل المختلفة على بعض المتغيرات البيوكيميائية وتأثير الوزن في أرناب السلالة المحلية *cuniculus localus* المصابة بداء السكري بحقن مادة Alloxane المسببة لمرض السكر. تعتبر النباتات الطبية حاليًا أساس جميع الأبحاث لتتمكن من استخلاص المواد النشطة بيولوجيًا ذات الطابع الوقائي والعلاجي للأمراض المختلفة، المزمنة أو الحادة. ومع ذلك، فقد اكتسبت اضطرابات الغدد الصماء درجة عالية من الحجم بحيث أصبحت أكثر تكرارًا، وحالة مرض السكري الذي يحتل المركز الأول من هذه الأمراض، يتم تخفيفها أو معالجتها بمكونات نشطة ذات نشاط مضاد لمرض السكر. تحقيقًا لهذه الغاية، يتمتع القرنفل بجميع الخصائص التي يمكن استخدامها كعلاج للنباتات لعلاج أو منع اضطراب الغدد الصماء الذي يكتسب زخمًا في جميع أنحاء العالم. تحقيقًا لهذه الغاية، بدأ أنه من المفيد لنا إجراء تجربة لمعرفة تأثيرها على معايير التمثيل الغذائي في الأرناب المصابة بداء السكري. وهكذا، فإن المستخلصات المختلفة (المائية، الإيثانولية، الميثانولية) المستخدمة كعلاج أعطت نتائج مرضية لجميع العوامل المدروسة بالإضافة إلى تأثيرها المعنوي على خفض مستويات الكوليسترول، ومن ناحية أخرى تؤدي الدهون الثلاثية إلى تقليل مستويات أخرى. المعايير البيوكيميائية وخاصة نسبة السكر في الدم.

**الكلمات المفتاحية:** الألوكسان، القرنفل، سكر الدم، الدهون الثلاثية، الكوليسترول، الفوسفاتيز القلوي.

## Liste des abréviations

**Abs : absorbance**

**ADP : adénosine di-phosphate**

**ATP : adénosine triphosphate**

**AlCl<sub>3</sub> : trichlorure d'aluminium**

**4-AF : phénol4-aminophénazone**

**CHE : cholestérol estérase**

**CHOD : cholestérol oxydase**

**DAP : dihydroxyacétone**

**DO : densité optique**

**DOD : densité optique de dosage**

**DPPH : 1.1 diphényl picryl-hydrazyle**

**EAB : extrait aqueux brut**

**E ETH : extrait éthanolique**

**EGA : équivalent d'acide gallique**

**E METH : extrait méthanolique**

**FeCl<sub>3</sub> : chlorure ferrique**

**FCR : folin ciocalteu**

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène**

**H<sub>2</sub>so<sub>4</sub> : acide sulfurique**

**HgCl<sub>2</sub> : chlorure de mercure**

**I<sub>2</sub> : diode**

**GLUT 2 : glucose transporteur**

**GK: glycérol kinase**

**GOD: glucose oxydase**

**GPO : glycérophosphate déshydrogénase**

**KI : iodure de potassium**

**LPL : lipoprotéine lipase**

**Mg<sup>++</sup> : magnésium**

**MNT : malade non traité**

**MS : matière sèche**

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> : carbonate de sodium**

**OMS : organisation mondiale de la santé**

**POD : peroxydase**

**PP : poly phénol**



**T : témoin**

**TG : triglycérides**

**IC : capacité inhibitrice**

**DID : Diabète Insulino Dépendant**

**H : Humidité**

**AVK: Anticoagulant Vitamine K**

**HDL: High-density lipoprotein**

**LDL: Low density lipoprotein**

**HTA: Hyper Tension Arterial**

**ATCC: American Type Culture Collecte**

**BN: Bouillon Nutritif**

**GN: Gellose Nutritive**

**MH: Mueller Hinton**

**DMSO: le diméthylsulfoxyde**

**G+: gramme positif**

**G-: gramme négatif**

**HPLC : chromatographie à haute performance**

## Liste des unités

**% : pour cent**

**°C : Degré Celsius**

**µg/ml : Microgramme par millilitre.**

**Cm : centimètre**

**mm : millimètre**

**Mg : milligramme**

**Mg/ml : milligramme par millilitre**

**Mg/dl : milligramme par décilitre**

**ml/kg : millilitre par kilogramme**

**g/l : gramme par litre**

**h : heure**

**mn : minute**

**ml : millilitre**

**nm : nanomètre**

**mmol/l : millimol par litre**

**µg/ml : microgramme par millilitre**

**µl : microlitre**

**g : gramme**

**ug EAG /mg : microgramme equivalent en acide galique par milligramme**

**ug EAQ/mg : microgramme equivalent en acide Quercitine par milligramm**

**DA :dalton**

## Liste des figures

N°	Titre	Page
<b>Figure 01</b>	Anatomie générale du Pancréas.	03
<b>Figure 02</b>	Mécanismes d'action de l'insuline sur les tissus ciblent.	05
<b>Figure 03</b>	.Schéma des mécanismes du diabète de type 1 et 2.	07
<b>Figure 04</b>	Physiopathologie de la forme commune du diabète de type 2.	08
<b>Figure 05</b>	Le clou de girofle ( <i>Syzygium aromaticum</i> ).	20
<b>Figure 06</b>	Pierre poivre (1719-1786).	21
<b>Figure 07</b>	Allure d'un giroflier de Madagascar	23
<b>Figure 08</b>	feuilles jeunes de couleur rose et feuilles matures de couleur verte du giroflier.	23
<b>Figure 09</b>	Branche de giroflier portant les clous en inflorescence terminale	24
<b>Figure 10</b>	Boutons floraux et fleurs de giroflier	24
<b>Figure 11</b>	<i>Syzygium aromaticum</i> , pousse florifère (bouton floral. a droite et fruit a gauche surmonté des restes du calice	25
<b>Figure 12</b>	Clous rose récoltés avant l'épanouissement de la fleur	25
<b>Figure 13</b>	l'eugénol (Composé majeur de l'huile essentielle des clous de girofle).	30
<b>Figure 14</b>	girofle ( <i>Syzygium aromaticum</i> )	37
<b>Figure 15</b>	Diagramme représentant les différentes étapes de la préparation de la matière première	38
<b>Figure 16</b>	Evaporateur rotatif C.U.Mila	39
<b>Figure 17</b>	Diagramme représentant les différentes étapes de la préparation de la matière première	40
<b>Figure 18</b>	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH+ entre l'espèce radicalaire DPPH+ et un antioxydant	45

N°	Titre	Page
<b>Figure 19</b>	Spectrophotomètre	46
<b>Figure 20</b>	Préparation des suspensions bactériennes p74	48
<b>Figure 21</b>	Principe de la méthode de diffusion par disques	48
<b>Figure 22</b>	préparation des disques dans les boites de géloses MH	49
<b>Figure 23</b>	Lapins au niveau de l'animalerie	50
<b>Figure 24</b>	L'alloxane	51
<b>Figure 25</b>	Induction du diabète	52
<b>Figure 26</b>	Pesé le poids et mesuré les glycémies des lapins	53
<b>Figure 27</b>	Différents lots	54
<b>Figure 28</b>	Gavage des lapins	55
<b>Figure 29</b>	Abattage des lapins	56
<b>Figure 30</b>	Dosage des paramètres biochimiques	60
<b>Figure 31</b>	Teneur en eau et le taux de matière sèche des clous de girofle P91	68
<b>Figure 32</b>	Les rendements de différents extraits de clous de girofle	69
<b>Figure 33</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	70
<b>Figure 34</b>	Dosage des polyphénols	71
<b>Figure 35</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine	72
<b>Figure 36</b>	Teneur en flavonoïdes totaux de trois extraits des clous de girofle	72
<b>Figure 37</b>	Activité anti oxydante d'EAB	73
<b>Figure 38</b>	Activité anti oxydante d'E.Méthn	73
<b>Figure 39</b>	Activité anti oxydante d'E.Ethn	74

<b>Figure 40</b>	Variation du poids corporels de lot témoin durant 35 jours	78
<b>Figure 41</b>	Variation du poids corporels du lot malade non traité (MNT) durant 35 jours	78
<b>Figure 42</b>	Variation du poids corporels du lot traité par E.A.B durant 35 jours	79
<b>Figure43</b>	Variation du poids corporels du lot traité par E.Ethn durant 35 jours	79
<b>Figure44</b>	Variation du poids corporels du lot traité par E.Méthn durant 35 jours	80
<b>Figure45</b>	Comparaison de la glycémie de lot témoin et lot du MNT	81
<b>Figure46</b>	Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits	82
<b>Figure 47</b>	Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits et le lot témoin	83
<b>Figure 48</b>	Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits et le lot MNT	84

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>Tableau01</b>	Situation botanique de l'espèce <i>Syzygium aromaticum</i>	21
<b>Tableau 02</b>	Dénomination internationales de <i>Syzygium aromaticum</i>	22
<b>Tableau03</b>	Tableau descriptif des différentes souches bactériennes testées	46
<b>Tableau 04</b>	Tableau descriptif des milieux de culture utilisés	47
<b>Tableau 05</b>	Propriétés chimiques d'alloxane	51
<b>Tableau 06</b>	Doses administrées aux différents lots	55
<b>Tableau 07</b>	Profil phytochimique clous de girofles	66
<b>Tableau 08</b>	Absorbance des différentes concentrations en acide gallique	69
<b>Tableau 09</b>	Résultats du dosage des polyphénols de clou de girofle	69
<b>Tableau 10</b>	Résultats du dosage des flavonoïdes de clou de girofle	70
<b>Tableau 11</b>	Photographie des boites du test de l'activité antibactérienne	74
<b>Tableau 12</b>	Degrés de sensibilités des souches testés vis-à-vis des extraits obtenus.	75
<b>Tableau 13</b>	les paramètres biochimiques après abattage ou sacrifice des lapins (après 5 semaines traitement)	84



# *Introduction*

### **INTRODUCTION**

Les herbes et les plantes constituent une classe importante de plantes phytothérapeutiques qui intervient dans un rôle majeur, aussi bien, chez les humains que les animaux en constituant une source alimentaire bien équilibrée. Cependant, en plus, elles leur servent, comme source de substances bioactives pour se soigner, prévenir ou guérir certaines maladies, sans le savoir, du fait qu'elles sont consommées quotidiennement. Ainsi, ces plantes renferment une multitude de métabolites secondaires responsables d'activités biologiques aussi nécessaires qu'indispensables telles que les activités antioxydants, antidiabétique et antimicrobienne. A cet effet, plusieurs recherches ont mis en évidence certaines substances bioactives d'une valeur exceptionnelle comme les poly phénols, flavonoïdes...etc., dont l'étude de leur structure moléculaire a permis d'améliorer leur utilisation et de développer de nouvelles voies de leurs usages, ou tout simplement utilisées comme remèdes ou phytomédicaments préventifs ou curatifs pour lutter contre certaines maladies.

Ainsi, il faut noter que pour le giroflier (*Syzygium aromaticum*) deux « organes » sont essentiellement collectés à savoir les clous et les feuilles d'où deux produits majeurs sont commercialisés soit les clous séchés et les huiles essentielles, extraites des clous, des feuilles et des griffes. Les études ont permis de maîtriser les facteurs de variabilités du rendement et de la composition chimique des de ces substances du giroflier. A, cet effet, Il est possible d'utiliser la teneur en composants majoritaires pour pouvoir différencier l'origine de leur extraction soit les clous, les feuilles et les griffes du giroflier. Cependant, le meilleur moment où les clous de girofle ont une forte concentration en substances bioactives reste le stade de bourgeon final (clous en pleine maturité) pour obtenir un meilleur rendement et une haute teneur en ces molécules naturelles car il convient de les extraire après une semaine de séchage à l'ombre des clous.

Il faut noter, cependant, que la phytothérapie a pris de l'ampleur depuis quelques décennies, en particulier pour les maladies singulières avant de se propager à d'autres plus compliquées, comme le diabète avec ses différents types, où sa réputation est devenue irréprochable.

Le diabète, deuxième maladie endocrinienne après le goitre est réputée par ses répercussions sur la santé du diabétique en induisant des effets néfastes importants comme la cécité, l'insuffisance rénale, l'infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux et l'amputation des membres inférieurs. Ainsi, entre 2000 et 2016, la mortalité prématurée attribuable au diabète a augmenté de 5 %, où 1,5 million de décès sont directement provoqués par le diabète en 2019, tandis que 2,2 millions de décès dus à l'hyperglycémie en 2012.

Pour diminuer ces conséquences il faut suivre une phytothérapie à base de plantes



antidiabétiques en infusion, décoction ou autres moyens. En plus il est nécessaire de suivre une alimentation saine, une activité physique régulière, un poids normal et éviter la consommation de tabac, prendre des médicaments, un dépistage régulier et le traitement des complications permettent de traiter le diabète et d'éviter ou de retarder les conséquences qu'il peut y en avoir.

C'est dans ce cadre que s'articule cette recherche intitulée « Effets des substances bioactives des clous de girofle sur quelques paramètres biochimiques chez le lapin diabétique ».

A cet effet, il nous parut nécessaire de scinder ce travail en

- ✓ Aperçu général sur le diabète.
- ✓ Phytothérapie
- ✓ Aperçu général sur les clous de girofle
- ✓ Caractérisation pharmacologique de la spéculation étudiée

Et pour terminer une discussion générale suivie d'une conclusion et perspectives.

# *Synthèse bibliographique*



# *Chapitre I*

## *Le diabète*

## Introduction

Le glucose est un Substrat énergétique essentiel pour l'organisme humain. Ainsi, son transport est facilité dans les cellules grâce à une famille de protéines transmembranaires, les GLUT. Il faut signaler que de nombreuses pathologies sont associées à des anomalies de son transport comme les maladies neuro-dégénératives, cancers et diabète (19). Le diabète est une maladie métabolique qui se traduit par une hyperglycémie chronique (2). Ce dernier produit des dommages à long terme avec plusieurs complications. La dérégulation de l'homéostasie du glucose peut résulter d'altérations de l'insu lino-sécrétion, de l'action de l'insuline ou des deux. Les mécanismes physiopathologiques pouvant conduire aux différentes formes de diabète qui sont multiples Métabolisme et contrôle de la glycémie (7).

## I. Le Pancréas

### I.1. Anatomie et histologie du pancréas

Le pancréas est un organe abdominal profond situé en arrière de l'estomac. Il est composé de trois parties distinctes à savoir la tête qui s'insère dans le cadre du duodénum, le corps et la queue qui se prolongent jusqu'au bord de la rate. Il est une glande mixte (amphicrine) dont le tissu exocrine contribue à la fonction digestive libérant le suc pancréatique riche en pro-enzymes alors que le tissu endocrine sécrète dans la circulation systémique des hormones nécessaires aux métabolismes cellulaires et notamment celui des glucides (15). A cet effet, on distingue quatre types cellulaires ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ) qui ne sont pas représentés de manière uniforme, dont les cellules  $\beta$ , sont majoritaires avec 75%. Notons que ces cellules des îlots de Langerhans sont à l'origine de la sécrétion de nombreuses hormones telles que l'insuline, le glucagon, la somatostatine et le polypeptide pancréatique (10).

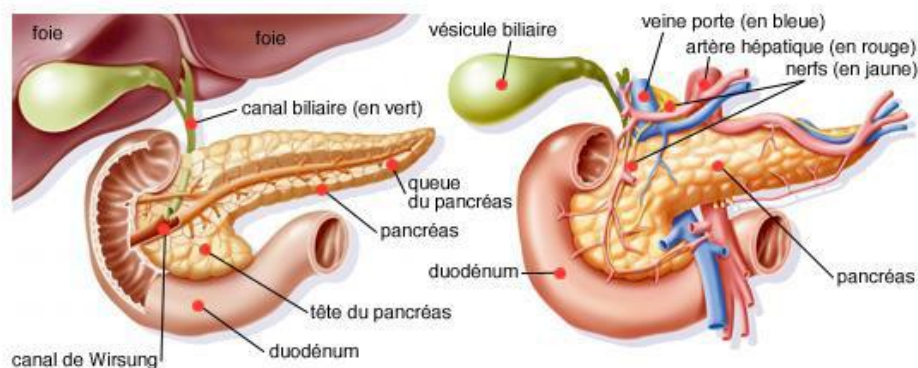


Figure 0 1 : Anatomie générale du Pancréas (3)

## II. Insuline

### II. 1. Définition

L'insuline est sécrétée par les cellules endocrines du pancréas (les cellules  $\beta$  des ilots de Langerhans) (9). Elle est sécrétée en réponse à une augmentation de la glycémie et aussi stimulée par différentes hormones digestives. Elle est synthétisée sous forme d'une pro hormone, la pro- insuline, sera clivée puis sécrétée sous forme d'insuline et de peptide C (12)

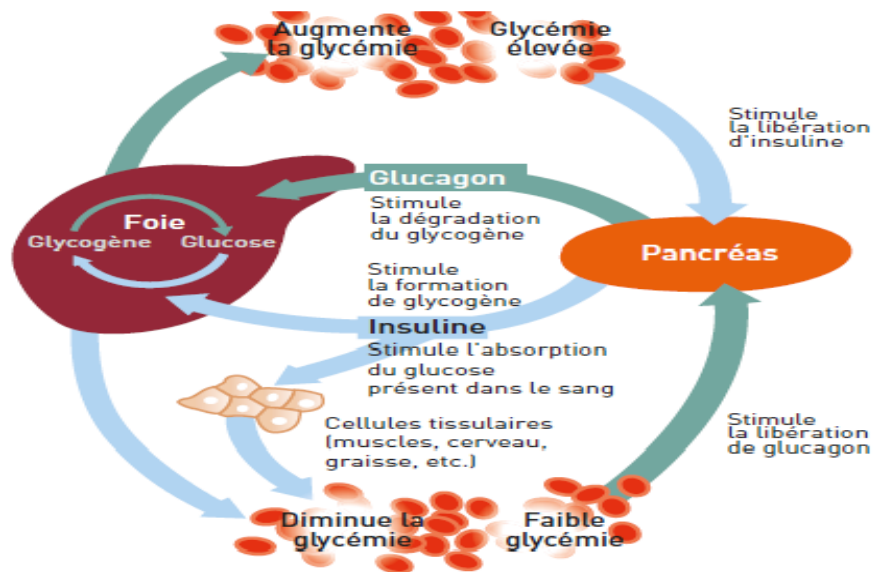
Le glucose entre dans les cellules  $\beta$  via des transporteurs GLUT2 où il sera phosphorylé par la glucokinase puis métabolisé en pyruvate dans le cytoplasme. Le pyruvate passe, ensuite, dans les mitochondries où il est métabolisé en  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$  via le cycle de l'acide citrique, ce qui entraîne la formation d'ATP par phosphorylation oxydative (6), (22).

Elle a un rôle majeur dans la régulation de l'homéostasie du glucose et agit au niveau de trois cibles organiques : le foie, le muscle et le tissu adipeux. Elle stimule l'entrée du glucose dans les tissus cibles, son stockage sous forme de glycogène et de triglycérides et son oxydation via la glycolyse mais, aussi, stimulée par différentes hormones digestives (Site web1).

### II. 2. Mécanisme d'action

L'insuline agit sur les tissus cibles en se fixant sur des récepteurs membranaires spécifiques appartenant à la classe des tyrosines kinases (**fig2**). Pendant cette étape le complexe « insuline – récepteur » ; stimule l'activité intrinsèque de la tyrosine kinase, aboutissant à l'autophosphorylation du récepteur et à l'adhésion des molécules intracellulaires. Ces molécules activent une série de

Processus en cascade au niveau intracellulaire de réaction de phosphorylation et de déphosphorylation entraînant l'effet biologique (stimulation du transport de glucose, effets mitogènes, etc.) (17)



**Figure 02** : Mécanismes d'action de l'insuline sur les tissus ciblés (13)

L'insuline est une hormone anabolisante par excellence, permet la captation de glucose, depuis le compartiment sanguin par stimulation de la translocation des transporteurs de glucose insulino-sensibles GLUT4 du cytoplasme vers les membranes cellulaires, et permet par la suite son entrée dans la cellule.

Cependant, elle fait baisser la concentration d'acides aminés dans le sang et stimule la synthèse des protéines tout en favorisant le transport actif d'acides aminés du sang vers les cellules musculaires et vers d'autres tissus. Elle stimule, aussi, la synthèse des protéines à partir des acides aminés, par contre elle inhibe le catabolisme protéique, d'où il en résulte la diminution de la synthèse d'urée et de la gluconéogenèse à partir d'acides aminés glucoformateurs (18).

### III. diabète

#### III. 1 Définition

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par une élévation anormale chronique du taux de sucre dans le sang. Cette augmentation de la glycémie est causée par un dysfonctionnement de la sécrétion ou de l'action de l'insuline, une hormone fabriquée par le pancréas. (1)

Il peut être, aussi, défini comme un trouble de l'assimilation, ainsi que du stockage et de l'utilisation des sucres dans l'alimentation. Elle se manifeste par un taux de glucose sanguin trop élevé ou hyperglycémie, une affection métabolique caractérisée par une déficience soit de l'action de l'insuline (insulino résistance), soit de la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  du pancréas, soit des deux (Site web1).

L'hyperglycémie chronique est associée à terme à des complications organiques spécifiques

touchant le cœur et les vaisseaux (21).

### **III.2. Classifications**

Le diabète est une maladie qui empêche le corps d'utiliser correctement l'énergie fournie par les aliments ingérés. Par ailleurs, la maladie survient lorsque le pancréas ne sécrète plus d'insuline ou lorsque le corps devient résistant à l'insuline produite (1) La physiopathologie à l'origine de cette carence insulinaire, gestationnel. Outre les facteurs génétiques et environnementaux, les travaux de recherche révèlent désormais l'importance de l'épigénétique, de la fonction intestinale et du microbiote comme des facteurs clés dans le développement des différents types de diabète (5).

Il existe 3 principaux types de diabète :

#### **III.2 .1. Le diabète de type 1 (anciennement insulino-dépendant DID)**

Ce type de diabète, maladie auto-immune, apparaît généralement chez les personnes de moins de 20 ans et touche environ 10 % des personnes vivant avec le diabète (8).

Le système immunitaire va détruire les îlots de Langerhans du pancréas en raison de Facteurs génétiques et/ou d'une infection virale (rubéole par exemple (1).

#### **III. 2 .2. Le diabète de type 2(diabète non insulino-dépendant)**

Le diabète de type 2 est la forme la plus fréquente de diabète, avec 90 % des cas (touche toutes les tranches d'âge). (8) Il est caractérisé par une insuffisance de sécrétion d'insuline, une sécrétion de glucagon inappropriée, hormones intestinales stimulant la sécrétion post -prandiale de l'insuline, Il reste, une maladie, très longtemps silencieuse et pouvant évoluer pendant des années sans provoquer aucune manifestation (14). La majorité des diabétiques de type 2 ne ressent aucune gêne pendant de nombreuses années, donc, il ne se voit pas (1)

Dans le diabète de type 2, deux phénomènes sont généralement présents (8)

- ✓ Une résistance du corps à l'action de l'insuline,
- ✓ Une diminution de la production d'insuline.

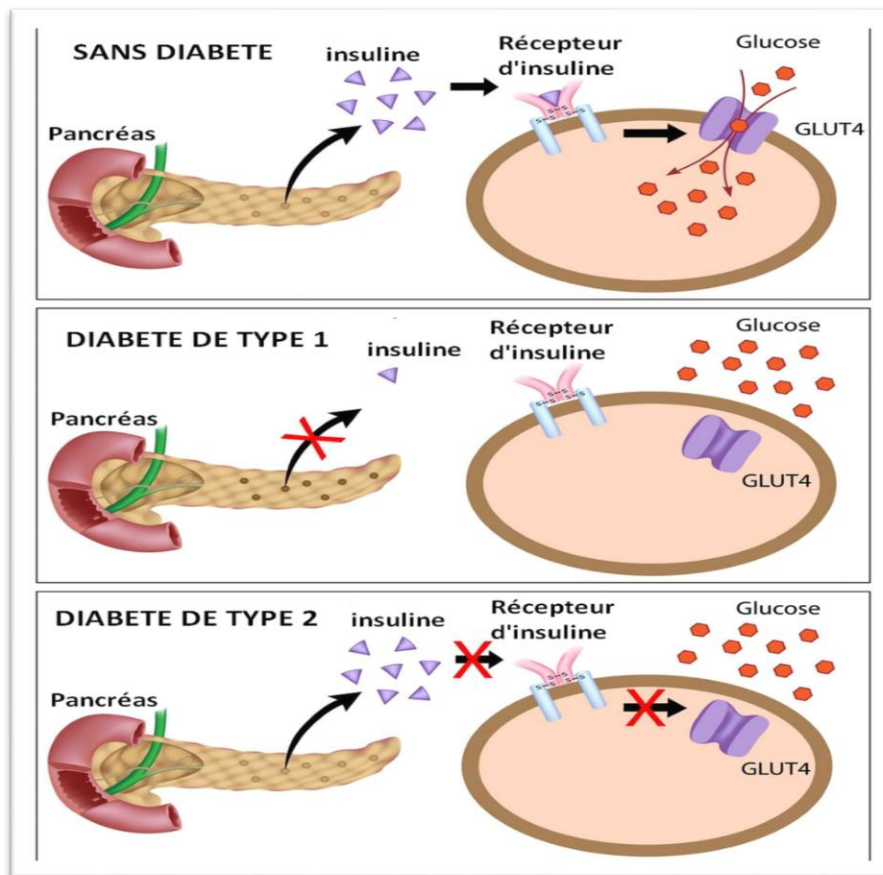


Figure 03 : Schéma des mécanismes du diabète de type 1 et 2

### III. 2. 3. Le diabète gestationnel

Il touche 3 à 20 % des femmes enceintes et se produit pendant la grossesse n'ayant pas de diabète auparavant mais risque de développer le diabète de type 2 dans les années qui suivent (15).

### III.2.4 Autres types spécifiques de diabète

Ils sont peu fréquents et comprennent les diabètes iatrogènes (corticoïdes, Immunosuppresseurs, etc.), les diabètes par atteinte du pancréas endocrine (hémochromatose, mucoviscidose, etc.), le diabète génétique monogénique, le diabète du glucagon me (rarissime), le diabète par inhibition fonctionnelle de l'insulino sécrétion (hypokaliémie, somatostinome), le diabète par insulino résistance secondaire (hypercorticisme, acromégalie, hyperthyroïdie) et le diabète par défaut génétique de l'action de l'insuline (4).



III.3. Facteurs de risques

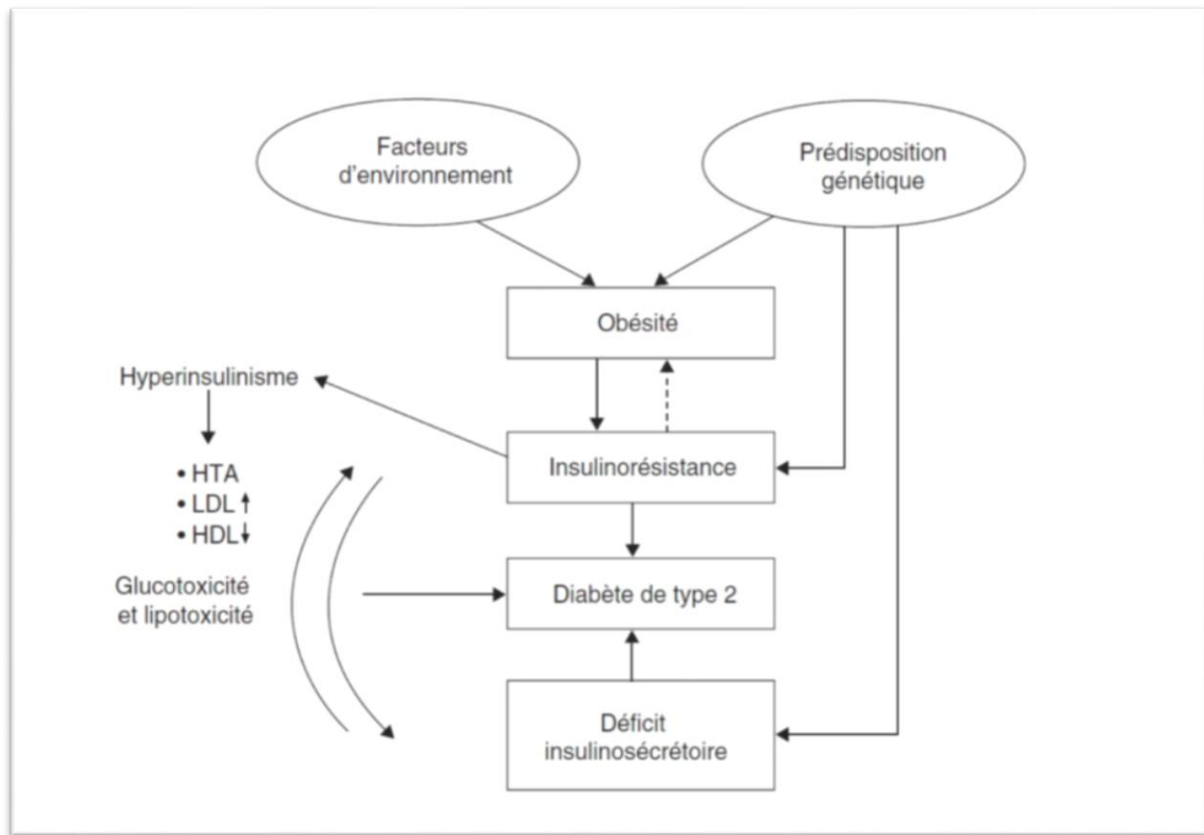


Figure 04: Physiopathologie de la forme commune du diabète de type 2. (20)

**-A-**

- (1) **Anne-Christine Della Valle 2021**, journal des femmes. Disponible su <http://www.journal> ,(site consulté 2022).
- (2) **Annick M., Lecok q. et Jourdain-Menninger D., 2012**. Evaluation de la prise en charge du diabète. Inspection générale des affaires sociales, Tom I Rapport, 033p.
- (3) **Arcady-gynéco, 2009**, anatomie de pancréas disponible.

**-B-**

- (4) **Baudry Valentin, 2014**, Evaluation des pratiques des patients diabétiques pendant le jeûne du Ramadan dans les dispensaires sud de Mayotte. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en médecine. Université de Bordeaux 2 Victoir Segalen France. 2014.

**-C-**

- (5) **Copyright © 2018 Elsevier Masson SAS** (site consulté 2022)

**-D-**

- (6) **Devos, P., & Preiser, J. C. (2002)**. Prise en charge de la glycémie du patient en état critique.
- (7) **Diatloff-Zito C. et Marquis E. (2002)**. Diabète néonatal et diabète du nourrisson insulino-dépendants : aspects génétiques et physiopathologiques, implications. *Pathol Biol*, 50, 233-242.
- (8) © **Diabète Québec – Novembre 2021** Équipe des professionnelles de la santé de Diabète , (Site consulté 2022)

**-G-**

- (9) **Ganong et jobi, 2005**, Physiologie médicale. 2ème Ed, De Boeck Université. Bruxelles, p 327

**-K-**

- (10) **Klein M, (2009)**. Relations entre le diabète sucré de type 2 et l'amyloïdes chez le rat insulino-résistant. *C.R. Biologie*, 325, 529-546 Thèse d'état en vitrine .Uni de Toulouse, France.

**-L-**

- (11) **Lacaine F, Sauvanet, A., & Delpero, J. (2009)**. Chirurgie du pancréas et de la rate. *EdMasson Elsevier. Paris. P: 14/147*

**-M-**

(12) **M Wang et al 2019**, Associations between stressful life events and diabetes, Journal of diabetes investigation.

(13) **Mann, E., & Bellin, M. D. (2016)**. Secretion of insulin in response to diet and hormones.

**-O-**

(14) **O. Braillard, 2017**, Diabète de type 2, Service de médecine de premier recours – DMCPRU- HUG

(15) **OMS (Organisation Mondiale de la Santé)**, Diabète 13 avril 2021

**-R-**

(16) **Rodier, M. (2001)**. Le diabète de type 1. Médecine Nucléaire – Imagerie fonctionnelle et métabolique.

**-S-**

(17) **Saltiel, A.R. and Kahn, C.R. (2001)** Insulin Signaling and the Regulation of Glucose and Lipid Metabolism. Nature, 414, 799-806. <http://dx.doi.org/10.1038/414799a>

(18) **Sherwood L, Lockhart A, (2006)**, Physiologie Humaine, 2ème édition. Paris

(19) **Slimani et all, 2002**, Modélisation multi compartimentale et stratégies expérimentales pour l'étude du transport du glucose chez le rat insulino-résistant.

(20) **Société Française d'Endocrinologie, 2016**. Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte Complications Disponible en ligne : <http://www.s fendocrino.org> (cité le 21/01/2021).

**-T-**

(21) **Taoufik, 2018**, Diabète sucré critères diagnostiques, classification et aspect clinique

(22) **Tokarz, V. L., MacDonald, P. E., & Klip, A. (2018)**. The cell biology of systemic insulin function. *J Cell Biol*, 217(7), 2273-2289.

**Site web**

**Site web1:** <https://www.naturaforce.com/se-desintoxiquer-du-sucre/reduire-diabete/>, Haute autorité de santé octobre 2014 Prévention et dépistage du diabète de type 2 et des maladies liées au diabète (Site consulté 2022).

**Site web2:** <https://www.who.int/fr>, (site consulté 2022)

# *Chapitre II*

## *La phytothérapie*

**Introduction**

La nature cache une multitude de merveilles auxquelles, trop souvent, aucune attention n'est portée. En effet, le monde végétal, très vaste, offre depuis des milliers d'années des substances bioactives nécessaires à la survie des espèces humaine et animale. Il leur fournit des ressources essentielles à leur alimentation, à leur hygiène et surtout, leur santé.

**I. Les plantes médicinales**

Les plantes médicinales contiennent des drogues végétales les quelles au minimum une portion énergumène possède des propriétés médicamenteuses (14). Elles peuvent être soit des plantes entières soit des parties de plantes (feuilles pédoncules bourgeons fleurs racines tubercules). Elles incluent les herbes simples, les préparations traditionnelles, le méli-mélo d'herbes différentes et l'association d'un pour ces trois types.

La phytothérapie est dite "médecine douce", terme impropre pouvant mettre le doute dans l'esprit du public "douce" s'apparente à "sans danger", alors que ce n'est pas le cas, elle peut être dangereuse suivant les plantes et les doses administrées (7).

**II. la phytothérapie****II. 1. Définition.**

Le mot phytothérapie provient deux mots (phyton =plante et therapein =traitement) qui signifient essentiellement « les plantes et traitement ». Elle désigne à traiter les troubles fonctionnels au moyen de plantes, de parties de plantes et de préparations à base de plantes (4).

On distingue trois types de pratiques (16) :

- ❖ Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement.
- ❖ Une pratique basée sur les avancées et les preuves scientifiques, qui recherchent des principes actifs extraits des plantes.
- ❖ Une pratique de prophylaxie, déjà utilisée dans l'antiquité. Nous sommes tous phytothérapeutes sans le savoir : c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage d'Ail, du Thym, du Gingembre ou simplement du Thé vert ... Une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique.

**II. 2. Différents types de la Phytothérapie**

On peut distinguer différents types de thérapies par les plants :

**II .2.1. Aromathérapie**

Est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

**II .2.2. Gemmothérapie**

Elle est fondée sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicelles.

**II .2.3. Herboristerie**

Elle correspond à la méthode de la phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.

**II.2.4. Homéopathie**

Elle a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.

**II.2.5. Phytothérapie pharmaceutique**

Elle utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés Co forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats. (18).

**II .3. Les avantages de la phytothérapie.**

Cependant, les énormes développements réalisés dans la thérapeutique ultramoderne la phytothérapie est proposée pour de multiples avantages. Notons que de tout temps, à l'exception du dernier siècle être humain n'a eu que les plantes pour se soigner, soit qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou autres plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus ses ont peu à peu adaptés aux médicaments

et leur résistent de plus en plus. La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (11).

#### **II .4. EFFETS INDÉSIRABLES**

Ils sont rares et en général bénins. Lorsqu'un herboriste prescrit un traitement à base de plantes qui peuvent être toxiques, telles que la digitale ou la belladone. Il importe que le patient ne dépasse pas les doses indiquées pour que les troubles soient aussi négligeables que possible car ils sont souvent liés à une utilisation abusive et trop prolongée de la plante médicinale. On a signalé des néphropathies et des interactions avec des médicaments (site wib1).

#### **II .5. Phytothérapies antidiabétiques**

La médecine traditionnelle reste encore un principal recours pour la majeure partie de la population mondiale face à la maladie pour des raisons d'ordre socioculturel, socioéconomique et sanitaire.

La phytothérapie antidiabétique connaît à ce jour un essor important du fait de la découverte de plus en plus croissante d'extraits de plantes efficaces. Ainsi, plusieurs familles possèdent des plantes dont l'activité antidiabétique a été prouvée, comme la famille des Cucurbitacées avec *Momordica charantia* qui a fait l'objet de plusieurs études ; des Liliacées (*Allium cepa*) dont l'étude a été très poussée (3).

D'autres études ont permis de découvrir un certain nombre de plantes agissant dès le tube digestif sur l'absorption du sucre au niveau de la barrière intestinale (1), (9).

L'évaluation de cette source naturelle des composés hypoglycémiant, constitue une voie de recherche pour le développement de nouveaux antidiabétiques (10).

#### **II.6. La Phytochimie**

##### **II.6.1. Définition**

Elle est la science qui étudie la structure, le métabolisme et les fonctions, ainsi que les méthodes d'analyses, de purification et d'extraction des substances naturelles issues des plantes. Elle est indissociable des autres disciplines telles que la pharmacognosie. (Site web2)

##### **II.6.2. Principes actifs**

Le principe actif est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de cette dernière et utilisé pour la fabrication des médicaments, (15).

Cette molécule présente un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal.

Elle est issue de plantes fraîches ou séchées, dont on utilise les racines, écorces, sommités

fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (6), donc les principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. Cependant, tous les principes actifs d'une même plante n'ont pas les mêmes propriétés (18).

### **II.6.3.les principes actifs à effets antidiabétique**

Les plantes médicinales sont renfermées une ou plusieurs substances secondaires physiologiquement actives et possèdent des propriétés curatives (8), parmi lesquelles citons :

#### **II .6.3.1. Les composés phénoliques**

##### **❖ Flavonoïdes**

Ils sont les principaux métabolites secondaires végétaux (17).

Les flavonoïdes représentent la plus grande famille des composés phénoliques qui sont présents dans la plupart des plantes. (Site wib3).

Ils sont des pigments universels des végétaux responsables de la coloration des fruits, des fleurs et souvent des feuilles (12)

##### **❖ Les tanins**

Ils sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da, se caractérisent par leur facilité à lier aux Protéines (13).

#### **II.6.3.2. Les saponosides**

Ils constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives. Ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes. La plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques. (5).

#### **II .6.3.3. Les alcaloïdes**

Ils sont des substances organiques d'origine naturelle, le plus souvent végétales, azotés, basiques, doués, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées.

#### **II. 6.3.4. Les terpénoides**

Les terpènes forment sont des composants organiques aromatiques dérivés de l'isoprène (hydrocarbure 5atomes de carbone) qui se trouvent dans tout type de végétation et sont importants dans de nombreuses interactions biotiques (site web4)



(A)

- (1) . **Ali, H; Houghton, P.J; Soumyanath, A. (2006)**. Amylase inhibitory of some laysian Plants used to treat diabetes; with particular reference to phyllanthus amarus. *Jornal of Ethnopharmacologie*. P: 449-455.
- (2). **Allain p, (2008)**. Les médicaments, 3éme édition. N°123.
- (3) . **Amara fatsah** , Benghanem zoubir.2012. Effet antidiabétique des plantes Médicinales, Memoir
- (4). **Anne –Sophie Limonier .2018**. La phytothérapie de domaine : les plantes médicinales au coeur de la pharmacie, thèse de doctorat, Faculté de pharmacie Aix Marseille Université, Marseille ,20 :
- (5) .**AZZI Rachid .2013**, Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen, p ; 27

(B)

- (6). **Benghanou M. 2012**. La phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire
- (7). **Bensalak F , (2018)** : thèse de doctorat .Utilisation des plantes medicinales dans le traitement de colon nerveux dans le milieu Magribienne.

(G)

- (8). **Georges Dillemann (1961)** Plantes médicinales et principes actifs. La notion de race chimique, *Bulletin de la Société Botanique de France*, 108:sup1, 30-38
- (9). **Goetz, P.(2007)**; symposium international d'aromathérapie et plantes médicinales, *Gazasse,phytothérapie*, 1 :41-47.

(H)

- (10). **Houcher, Z; Boudiaf, K; Benboubetra, M; Houcher, B. (2007)**. Effects of MethanoliExtract and Commercial Oil of *Nigella sativa* L. on Blood Glucose and Antioxydant Capacityin Alloxan-Diabetc Rats. *Pteridines*; 18.P: 8-18.

(I)

- (11). **Iserin P., MassoN M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage DE Meux A., MoulardF., Zha E., De LA Roque R., De La roque O., Vican P., Deelesalle -Feat T., BiaujeaudM.,**

**Ringuet J., Bloth J et Botrel A., 2001.** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2<sup>ème</sup> édition de VUEF, Hong Kong : p. 335

(J)

**(12). Jean Pierre KONE.2017,** Etude de 5 plantes utilisées par les TRADIPRACIENS de sante BWA de la commune I du district de BAMAKO pour le traitement traditionnel du diabète. Thèse de Pharmacie, Faculté de pharmacie (FAPH) 52 ; 121

(K)

**(13). KHIREDDINE Hamida.2013,** Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actif de quelques plantes médicinales d'Algérie. Mémoire de Magister. Faculté des sciences de l'Ingénieur p : 33-

(N)

**(14). N.R. Farnsworth, O. Akerele, A.S. Bingel, D.D. Soejarto, Z. Guo.** Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin of the World Health Organization, 64 (1986).

(P)

**(15). Pelt J. M., 1980.** Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris : p 221.

(R)

**(16). R.-P. Clément.** Aux racines de la phytothérapie: entre tradition et modernité (1<sup>re</sup> partie),  
Phytothérapie, 3 (2005). plants used to treat diabetes; with particular reference to phyllanthus amarus. Journal of professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA Alger, p. 56.

**(17). Ralston, L., Subramanian, S., Matsuno, M. & Yu O. 2005.** Partial Reconstruction of Flavonoid and Isoflavonoid Biosynthesis in Yeast Using Soybean Type II Chalcone Isomerases and I. Plant Physiology, 137(4), 1375-1388-

(S)

**(18). Sebai et al., 2012.** Thèse de doctorat: Ethnobotanique/Anthropologie, l'université de Toulouse. p379 .

**(19). Strang C. (2006).** Larousse médicale. Larousse. P. 1144. 59-Valadeau C. (2010). De l'ethnobotanique à l'articulation du soin: une approche anthropologique du système nosologique chez les yanesha de Haute Amazonie péruvienne.

## *Références bibliographiques*

---

Thèse de doctorat: Ethnobotanique/Anthropologie, l'université de Toulouse. p379.

### **Sit web**

Sit web1:

<https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/phytoth%C3%A9rapie/15365>.(consulté le 04/2022)

sit web2: <https://www.svt.ac-orleans-trous.fr/fileadmin.../defence>. (Consulté le : 04/2022).

Sit3:<https://www.kalapa-clinic.com>(consulté le 08/04/2022).

Sit4:<https://www.creapharma.ch>-(consulté le 08/04 /2022).



# *Chapitre III*

*Aperçu général sur*

*Le clou de girofle*

**Introduction**

Le Clou de Girofle (**Syzyguim aromaticum**) est le fruit d'un arbre (le Giroflier) à feuilles effilées de couleur vert foncé, originaire des régions tropicales. Il est caractérisé par des boutons floraux dont la couleur varie de crème au rouge, cependant, ses baies sont pourpres. Notons que les clous sont séchés au soleil pour être utilisés comme épice dans de nombreux aliments et le café arabe, (17).



**Figure 5:** Le clou de girofle (*Syzyguim aromaticum*)

**I. Historique**

Le girofle est une épice connue depuis des lustres. Il est d'abord enregistré à la période des Han chinois (220 avant (JC)-206 après Jésus Christ (JC) (8).

Le nom clou de girofle est dérivé du mot français clou et clavo espagnol, les deux signifient « Clou », en raison de sa ressemblance avec la forme d'un clou (13). Autour du 16ème siècle, les Portugais ont brisé l'arabe monopole du commerce des épices en mer (10). Au début du 17ème siècle, la direction hollandaise enlève des girofliers de toutes les îles sauf Amboinaanterne, afin d'en augmenter le prix (7). Alors qu'au 18ème siècle le contrôle sur la production était encore plus drastique pour maintenir artificiellement les prix (21).

Cependant, la Compagnie Française des Indes missionna-t-elle Pierre Poivre (**fig6**) pour aller chercher ce fameux clou de girofle. Lors d'un premier voyage, il transporta clandestinement quelques plants de muscadier de Timor à l'île de France, mais sans résultat (20). Alors qu'en 1773, il réussit à obtenir quelques plants des épices séquestrées par les hollandais qui furent plantés dans l'île de La Réunion (15).

De nos jours, les clous de girofle sont disponibles dans toutes les grandes surfaces, à des prix accessibles, après avoir bouleversé des hommes.



Figure 06 : Pierre poivre (1719-1786) (6).

## II. Origine et distribution

Le Giroflier appartient à la grande famille des Myrtacées, originaire d’Indonésie, de la partie Sud des Philippines et des Iles de Moluques, d’Afrique(Madagascar) et d’Amérique du Sud, principalement dans des pays tropicaux (site web1). Il est largement cultivé au Brésil, à Haïti, au Kenya, à la Malaisie, aux îles Maurice, au Mexique, aux îles Seychelles (14), en particulier à Zanzibar, à Madagascar, aux Philippines, en Inde, au Sri Lanka, en Tanzanie (7).

## III. Etude botanique de la plante

### III.1. Classification

Tableau 01 : Situation botanique de l’espèce *Syzygium aromaticum*(11)

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta (= phane)
Sous-embranchement	Magnoliophytina (= angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (= dicotylédones)

<b>Ordre</b>	<b>Myrtales</b>
<b>Famille</b>	<b>Myrtaceae</b>
<b>Genre</b>	<b>Syzygium</b>
<b>Espèce</b>	<b>S. aromaticum</b>

**Tableau 02:** Dénomination internationales de *Syzygium aromaticum*

<b>Nom Commun</b>	<b>Giroflier, Laung</b>
<b>Nom Français</b>	<b>Clou de girofle, arbre au clou</b>
<b>Nom Anglais</b>	<b>Clove, buds</b>
<b>Nom Arabe</b>	<b>Kourounfoul (القرنفل)</b>

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum*(9)(18)(1):

- *Caryophyllus aromaticus* L. (1753)
- *Eugenia caryophyllata* Thunb. (1788)
- *Eugenia caryophyllus* Spreng. (1825)
- *Eugenia aromatica* (L.) Baill. (1876)
- *Jambosa caryophyllus* (Thunb.) Nied. (1893)
- *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, (1939)

Actuellement, les noms *Syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tous les deux employés.

### III.2.Description botanique

Le giroflier, (nom donné par Pline, du grec *plyllonou* feuille et *karyonou* noyau, noix) est un bel arbre tropical petit à moyen, de 12 à 15 m de haut, (il peut atteindre jusqu'à vingt mètres) (2) à port pyramidal et au tronc gris clair ridé (**fig7**). (3).

De nos jours, il ressemble souvent à un arbuste car il est régulièrement taillé pour faciliter la cueillette.



**Figure7:** Allure d'un giroflier de Madagascar. (3)

Les feuilles sont ovales persistantes, bien opposées, pétiolées et aux limbes lancéolés. Elles sont de 8 à 10 cm de longueur avec une face supérieure vert- rougeâtre et une face inférieure de couleur vert- sombre (**fig8**). Elles sont aromatiques et dégagent une forte odeur de clou de girofle au froissement. (3).



**Figure8:** feuilles jeunes de couleur rose et feuilles matures de couleur verte du giroflier. (3)

L'inflorescence comprend de petites cymes (4–5 cm) compactes et ramifiées, regroupées en panicules de trois à cinq petites fleurs parfumées, avec un calice tubulaire blanc cassé, puis rouge (quatre sépales rouges charnus et persistants) et à la corolle blanc rosé (quatre dialypétales blancs) (**Fig9**) , (3).





**Figure9:** Branche de giroflier portant les clous en inflorescence terminale. (3)

Quant aux « griffes de girofles », ou pédicelles se terminant par une série de petites bractées en forme de griffe (**fig10**), sont moins estimées, du fait que les pédicelles floraux. sont nommés « griffes », (3).



**Figure 10 :** Boutons floraux et fleurs de giroflier.(3).

Les fruits ou « antofles » dans le commerce, sont de petites baies elliptiques avec environ 2,5cm de long pour 1cm de large (**fig11**). Ils sont de couleur pourpre, généralement uniloculaire et ont une ou parfois deux graines à enveloppe rouge, (5)(12)(19).



**Figure11:** *Syzygium aromaticum*, pousse florifère (bouton floral. à droite et fruit à gauche surmonté des restes du calice) (5).

#### IV. Culture et récolte du giroflier

##### IV.1. Agro- écologie

Le giroflier, comme beaucoup d'autres plantes de la famille des Myrtacées, est habitué aux climats tropicaux. Il a également besoin d'humidité, de chaleur et une basse altitude, ne dépassant pas 300 mètres (14). Les climats marins semblent favoriser son développement

Le giroflier a besoin d'un sol volcanique (ou sédimentaire), au bord de mer, avec une forte pluviométrie bien répartie sur l'année, et un ensoleillement plus marqué à l'apparition des inflorescences (4) (20)(site web2) (6)(19)

##### IV.2. La récolte

Elle s'effectue, une fois la couleur du clou de girofle, devient rose (**fig12**). Le giroflier donne des clous à partir de la 5ème année et sont récoltés une à deux fois par an (15



**Figure12:** Clous rose récoltés avant l'épanouissement de la fleur(8)

**(A)**

**(1).AMSHOFF GJH.** Myrtacées. Paris : MNHN ; 1966. p. 3-4 ; 1

**(2).Auzis, (2007),** Madagascar, eds petit ; page : 694

**(B)**

**(3).BARBELET S. 2015,** le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. (Mémoire de fin d'étude pour obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie) université de lorraine,

**(4).BOIS D.** Les plantes alimentaires chez tous les peuples et à travers les âges : histoire utilisation, culture. Volume 3 : plantes à épices, à aromates, à condiments. Paris : Ed. CME; 1999. p. 1-11.

**(5).BOULLARD B.** Plantes médicinales du monde : croyances et réalités. Paris : Ed. ESTEM ; 2001. p. 511-512

**(6).Breazeale, K. (2009).** MEMOIRS OF PIERRE POIVRE: THE THAI PORT OF MERGUI IN 1745. Journal of the Siam Society, 97.

**(C)**

**(7).Charles, D. J. (2013).** Antioxidant properties of spices, herbs and other sources: Springer Science & Business Media.

**(D)**

**(8).Danthu, P., Penot, E., Ranoarison, K. M., Rakotondravelo, J. C., Michel-Dounias, I., Michels, T., . Jahiel, M. (2014).** Le giroflier à Madagascar: une «success story»... à l'avenir incertain. Boi et forêts des tropiques, 35.

**(F)**

**(9).FAUCON M.** Traité d'aromathérapie scientifique et médicale : fondements & aide à la

prescription : monographies : huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques. Paris : Ed. Sang de la Terre ; 2012. 879 p

**(10).François, E. (1936).** Giroflier et Girofle. Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, 16(180), 589-608.

**(G)**

**(11).Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2010).** *Syzygium aromaticum* (L.)Merr.& Perry

(Myrtaceae) Giroflier.Phytothérapie,

**(H)**

**(12). HEYWOOD VH.** Les plantes à fleurs : 306 familles de la flore mondiale. Paris : Ed. Nathan ; 1996. p. 11 ; 13-15.8(1), 37-43.

**(K)**

**(13).Kumar, P., Jaiswal, P., Singh, V. K., Singh, D. K., & Singh, D. (2011).** Medical, therapeutic ad pharmacological effects of *syzygium aromaticum* (LAU G).

**(L)**

**(14).Lim, T. K. (2014).** *Syzygium aromaticum* Edible Medicinal and Non Medicinal Plants (pp. 460-482): Springer.

**(M)**

**(15).Mazerolles, C. (2008).** Giroflier.

**(16).Ministère de l'agriculture de la république de Madagascar. giroflier** (en ligne). (consulté2022). Disponible sur :

<http://www.agriculture.gov.mg/wpcontent/uploads/2014/pdf/Giroflier.pdf>

**(17).Morigane, livre** de Grimoire des Plantes Ce livre est publié sous la licence libre Créative Commons BYNCND <http://creativecommons.org/licenses/byncnd/2.0/be/>

**(P)**

**(18).PERRIER DE LA BÂTHIE H.** flore de madagascar et des comores, 152ème famille, myrtacées. paris : firmin-didot et cie ; 1953. p. 1-2.

**(R)**

**(19).RAMARIJAONA RABARY BC. Le giroflier de Madagascar:** conditions de production et différentes utilisations. thèse de chirurgie dentaire. université de nancy i ; 1985, 110 f.

**(20).Ranoarisoa, K. M. (2012).** Evolution historique et état des lieux de la filière girofle à Madagascar.

**(21).Razafimamonjison, G., jahiel, m., duclos, t., ramanoelina, p., fawbush, f., & danthu, p. (2014).**bud, leaf and stem essential oil composition of syzygium aromaticum from madagascar, Indonesia and zanzibar. International journal of basic and applied sciences, 3(3), 224

**Site web1**

<https://www.aujardin.info/plantes/syzygium.aromaticum.php#bdhjwyxbwpmDalqc.99>.  
(consulté 2022)

**Siteweb2**

[http://afs4food.cirad.fr/content/download/4421/33648/version/2/file/ranoarisoa\\_historique\\_filiere\\_girofle\\_2012.pdf](http://afs4food.cirad.fr/content/download/4421/33648/version/2/file/ranoarisoa_historique_filiere_girofle_2012.pdf).(consulté 2022).

# *Chapitre IV*

*Caractérisation*

*pharmacologique*

*De la spéculation étudiée*

### I. La valeur nutritive de clou de girofle

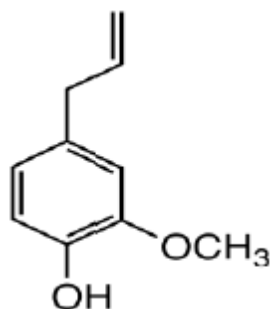
Selon la National Nutrient Database, les nutriments trouvés dans les clous de girofle comprennent les glucides, les protéines, l'énergie et les fibres alimentaires. Ainsi que, les minéraux dans les œillets dont le Potassium, le Calcium, le sodium et le magnésium. Alors que les vitamines sont représentées par la vitamine E, le folate, la niacine. La vitamine C, la thiamine, la riboflavine et les vitamines A et K, comme il contient, également, du phosphore, du fer et du Zinc. (1).

### II. Substances biologiquement actives dans les clous de girofle

Selon les résultats des recherches du professeur Tom Mabry de l'Université du Texas à Austin, certains composés bioactifs isolés à partir d'extraits de clou de girofle comprennent des flavonoïdes, d'hexane, du chlorure de méthylène, de l'éthanol, le thymol, l'eugénol et le benzène qui possèdent diverses propriétés, notamment des activités antioxydantes, protectrices du foie, antimicrobiennes : et anti-inflammatoires. (1)

### III. Composition chimique de clou de girofle

Le clou de girofle renferme une quantité importante d'huile essentielle 15 à 20%, 16% d'huile, des tanins, un peu d'amidon et des matières fibreuses cellulose. Le pédoncule floral (griffes) renferme 5 à 6% d'huile, dans les feuilles la quantité d'huile est de 3 à 4%. L'huile de girofle est très riche en eugénol de 70 à 85%. On trouve aussi d'autres composés terpéniques (dont environ 10 % caryophyllène), aliphatiques, aromatiques et Hétérocycliques. (2)



**Figure13:** l'eugénol (Composé majeur de l'huile essentielle des clous de girofle). (4)

### IV. Propriétés thérapeutiques des clous de girofle

#### IV.1. Bonne digestion

Le clou de girofle améliore la digestion en stimulant la sécrétion d'enzymes digestives comme

il est également utile pour réduire les flatulences et les irritations de l'estomac, l'Indigestion et nausée. Dans son livre « Les herbes médicinales: des remèdes naturels pour une bonne santé, Expert primé en Physiothérapie » le docteur. Bakhru écrit :

« Cette herbe est également un remède efficace pour la diarrhée chronique et la dysenterie. (1)

Cette épice aromatique possède des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et digestives. La recherche a confirmé que le clou de girofle améliore la sensibilité à l'insuline, donc, il est un excellent remède naturel contre le diabète et abaisse les niveaux du mauvais cholestérol et des triglycérides.

(Site web)

### **IV.2. Propriétés antibactériennes**

Le clou de girofle est prescrit pour ses propriétés antibactériennes contre un certain nombre d'agents pathogènes humains. Alors que ses extraits étaient suffisamment puissants pour tuer ces agents pathogènes et sont également efficaces contre les bactéries spécifiques qui propagent le choléra.

### **IV. 3.Propriétés de protection chimique**

Les clous de girofle intéressent la communauté médicale en raison de leurs propriétés protectrices chimiques ou anticancéreuses. Une étude publiée dans l'Oxford Journal Carcinogénèses a révélé qu'elle pourrait être bénéfique pour contrôler le cancer du poumon à un stade précoce. La recherche indique que l'acide oléinoléique dans les clous de girofle fournit une activité anti-tumorale, tandis qu'une autre étude montre que l'eugénol dans les clous de girofle a un potentiel anticancéreux contre le cancer du col de l'utérus.

### **IV.4.Protection du foie**

Les clous de girofle contiennent de grandes quantités d'antioxydants, qui sont idéales pour protéger les membres contre les effets des radicaux libres, en particulier Foie. Le métabolisme, à long terme, augmente la production de radicaux libres et de graisses, tout en réduisant les antioxydants car les extraits de clou de girofle sont un ingrédient utile pour contrer ces effets avec leurs propriétés hépatiques.

### **IV.5.Prise en charge du diabète**

Les clous de girofle ont été utilisés dans les anciennes pratiques médicales pour un certain nombre de maladies, parmi lesquelles le diabète. Chez les patients diabétiques,



la quantité d'insuline produite par l'organisme est soit insuffisante, soit pas du tout produite. Le clou de girofle facilite la sécrétion de l'insuline et aide à contrôler le taux de sucre sanguin. Il faut mentionner qu'une étude publiée dans le magazine(1) a trouvé Ethnopharmacologie Les clous de girofle peuvent avoir un effet bénéfique sur Diabète Dans le cadre d'un régime végétarien.

### **IV.6. Préservation des os**

Les extraits aqueux et alcoolisés de clous de girofle comprennent des composés phénoliques, tels que l'eugénol et ses dérivés, tels que les flavones, les isoflavones et les flavonoïdes. Des études ont suggéré que ces extraits peuvent être utiles pour maintenir la densité osseuse et la teneur en minéraux des os, ainsi que pour augmenter la résistance à la traction dans l'os Dans le cas d'ostéoporose. (1)

### **IV.7. Propriétés antimutagènes**

Les mutagènes sont des produits chimiques qui modifient la constitution génétique de l'ADN en provoquant des mutations. Les composés biochimiques trouvés dans les clous de girofle, tels que les phénylpropanoïdes, ont des propriétés antimutagènes, selon une étude référencée dans le Journal of Agricultural and Food Chemistry. Ces cellules ont été administrées à des cellules qui ont été traitées avec des mutations et ont pu contrôler les effets mutagènes à un taux significatif. (1)

### **IV.8. Propriétés anti-inflammatoires**

Les clous de girofle ont des propriétés anti-inflammatoires et anti-douloureuses. Des études menées sur des extraits de clou de girofle chez des souris de laboratoire indiquent que la présence d'eugénol réduit l'inflammation causée par Œdème II mais Egalement il a été confirmé que l'eugénol pouvait soulager la douleur en stimulant les récepteurs de la douleur. (1)

### **IV.9. Santé bucco-dentaire**

Il peut être utilisé pour les douleurs dentaires en raison de ses propriétés analgésiques, à cet effet, prendre des clous de girofle pour réduire la maladie des gencives comme l'inflammation et le gonflement de celles-ci. Selon une étude publiée dans le Journal of Natural Product, les extraits de clou de girofle contrôlent de manière significative la croissance des agents pathogènes oraux, responsables de diverses maladies bucco-dentaires. (1)

### **V. Toxicologie**

Des troubles gastro-intestinaux légers, tels que des vomissements, des nausées ou des diarrhées, peuvent être causés par un surdosage de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*(3).

Il faut signaler, aussi, que cette huile reste dermocaustique et irritante pour les voies respiratoires ce qui incite l'utilisateur à la diluer avant l'application sur la peau. Il faut l'utiliser, donc, pendant, de courtes durées mais un avis médical s'avère aussi nécessaire

qu'indispensable. Elle ne peut être utilisée avec des médicaments anticoagulants (A.V.K.) donc faire très attention et enfin, elle contient plus de 80% d'eugénol, composant allergène. Les personnes hypertendues doivent l'utiliser avec la plus grande prudence car elle est hypertensive.(5)

**(B)**

**(1) Benefits of clove:** [www.organicfacts.net](http://www.organicfacts.net), Disponible sur: <https://www.a71a-home.com/fr/health-benefits-of-cloves>,

**(C)**

**(2) CHAGRA Khouloud 2019 :** Etude les propriétés physico-chimiques et biologique de clou du girofle (*Syzygium aromaticum*) memoir

**(D)**

**(3) DUPONT F, GUIGNARD JL.** Botanique : les familles des plantes. 15e éd. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson ; 2012. p. 16

**(I)**

**(4) ISO. ISO 3141:1997(fr) 2004:** huile essentielle de feuilles de giroflier [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry, syn. *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Bullock et S. Harrison] [en ligne]. [consulté 2022]. Disponible sur : <https://www.iso.org/obp/ui/fr/#iso:std:iso:3141:ed-3:v1>

**(W)**

**(5) WERNER M, VON BRAUNSCHWEIG R.** L'aromathérapie : principes, indications, utilisations Paris : Ed. Vigot ; 2008. 334 p.

**Site web :**

<https://excelsiormag.com/voici-comment-utiliser-le-clous-de-girofle-un-excellent-remede-naturel-contre-le-diabete> .(Consulte le : 05-02-2021)

# *Partie expérimentale*



# *Matériel et méthodes*



### Objectif scientifique

Cette étude porte sur la recherche de l'effet de quelques substances bioactives extraites à partir des clous de girofle, sur quelques paramètres biochimiques chez les lapins de souche locale "Oryctolagus cuniculus domesticussur" rendus diabétiques par injection d'une substance diabétoène, l'alloxane.

Les extraits aqueux bruts, méthanolique et éthanolique de l'échantillon sont soumis à une macération. Ainsi, les extraits aqueux, éthanolique et méthanolique obtenus sont utilisés pour vérifier leurs effets pharmacologiques sur les paramètres biochimiques et pondéraux des lapins diabétiques.

Cependant, l'étude phytochimique est réalisée sur tous les extraits de la plante concernée. Enfin, à partir des tests biologiques, nous signalerons l'extrait le plus efficace qui a montré une bonne activité anti-hyperglycémique, cholesterolemique, tiglyceidemique, antibactérienne et anti oxydante.

## I. Matériel et Méthodes

### I.1. Matériel végétal

#### I.1.1. Le choix de la plante

##### I.1.1. 1. Girofle

Le matériel ou l'organe végétal choisi dans la présente étude est représenté par les clous sècs du girofle (*Syzygium aromaticum*).

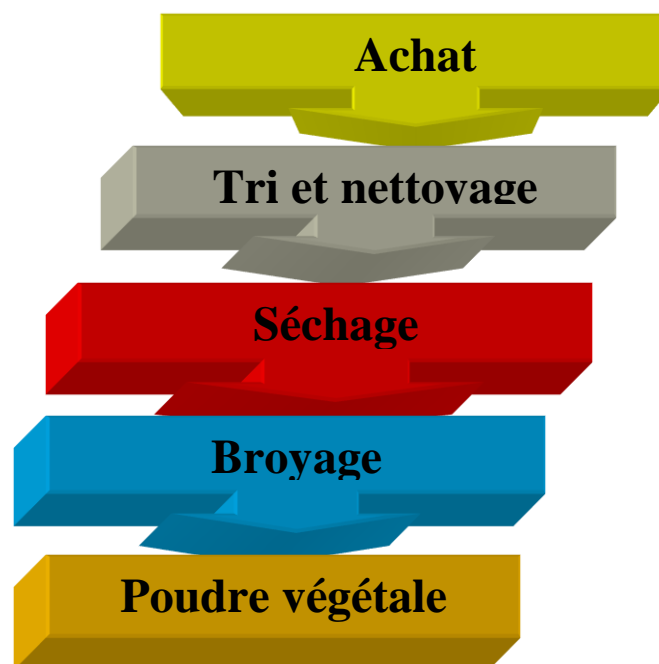


**Figure14:** girofle (*Syzygium aromaticum*).

Les clous de girofle sont achetés, sous forme séchée, chez un arboriste au niveau du Marché couvert de Mila. Ils sont récupérés dans un sachet sec et propre pour servir ultérieurement à l'extraction.

Les clous de girofle placés sur un journal pour sécher à l'air libre mais à l'abri de la lumière directe du soleil, et à température ambiante, pendant plusieurs jours. Pour s'assurer que le séchage des échantillons est total, il s'est avéré nécessaire de les sécher une deuxième fois dans une étuve à 80c° pendant 96h, afin que les clous de girofle soit totalement sec. Ensuite, ils sont broyés à l'aide d'un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène pour que l'extraction soit fiable (la préparation des différents extraits et tests phytochimiques et biologiques...etc.)

Les différentes étapes de la préparation de la matière première sont représentées comme suit :



**Figure 15:** Diagramme représentant les différentes étapes de la préparation de la matière première

### II. Méthodes d'extraction et d'analyse

L'extraction solide-liquide est une opération de transfert de matière entre une phase qui contient la matière à extraire «solide», et un solvant d'extraction «liquide». Le but de cette opération est d'extraire et de séparer un ou plusieurs composants mélangés à un solide dans un solvant, Plusieurs méthodes d'extraction ont été mises au point pour la distillation des molécules terpéniques des plantes à parfum Cependant les composés volatiles sont connus comme étant thermosensibles et vulnérables aux réactions chimiques. La perte de certains constituants, la dégradation de quelques composés insaturés par effet thermique ou par hydrolyse, ainsi que la présence de résidus de solvants organiques plus ou moins toxiques peuvent être engendrés par ces techniques d'extraction.

## **II.1.Extraction par macération**

### **II.1.1 Macération**

L'eau reste comme meilleur solvant pour l'extraction sans oublier le méthanol et l'éthanol

### **II.1.2.Mode opératoire**

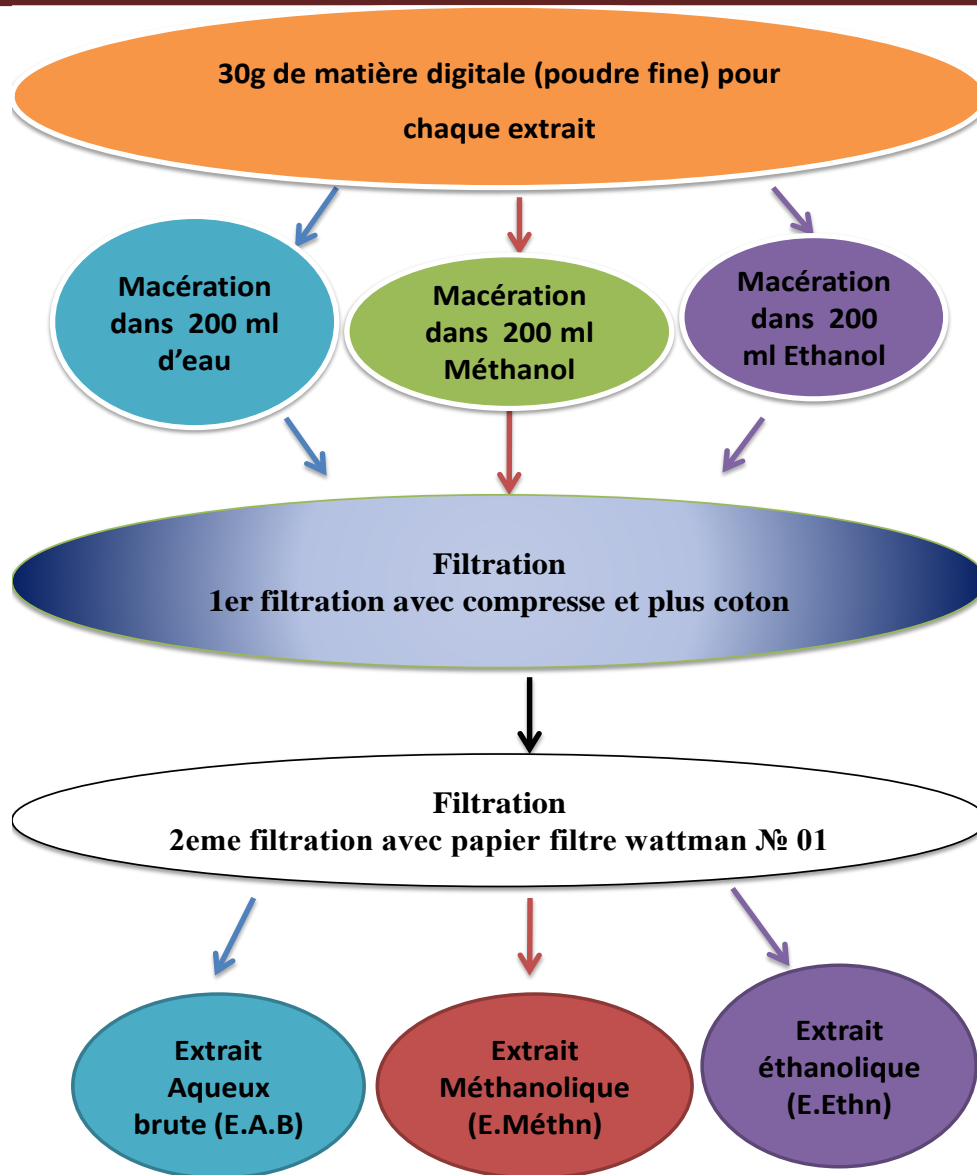
Pour chaque extrait 30g de poudre végétale sont mis dans 200ml de solvant (eau, éthanol, méthanol) dans des erlenmeyers de 500ml enrobés par un papier aluminium puis laissés agités à l'aide d'un agitateur pendant 5 jours à température ambiante et à l'abri de la lumière.

- a- Filtration : 1ere filtration avec compresse plus coton 2éme filtration avec papier wattman N° 01
- b- Concentration (évaporation) par rota-vapeur a 60°C
- c- Les extraits concentrés sont mis à sécher dans l'étuve à 45°C jusqu'à séchage complet
- d- Grattage de chaque extrait sec est mis dans les tubes ependorfs et conservé à une température de +4°C afin d'être utilisé plus tard.



**Figure16** : Evaporateur rotatif C.U.Mila





**Figure 17 :** Diagramme représentant les différentes étapes de la préparation de la matière première.

## II.2.Méthodes d'analyse de la composition de la plante

### II.2.1.Etude phytochimique

Une recherche phytochimique est effectuée parallèlement aux différents tests biologiques.

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante par des réactions de précipitation ou décoloration en utilisant des réactifs spécifiques à chaque famille de composés.

La phytochimie de la plante est réalisée en utilisant trois solvants de polarités différentes à savoir, le méthanol, l'éthanol et l'eau. Les extraits bruts (méthanolique éthanolique et aqueux) sont préparés par macération de 05 g de la poudre végétale dans 100ml de solvant.

### **II.2.1.1. Phytochimie qualitative**

La phytochimie qualitative consiste en la mise en évidence des différentes familles de composés par la réalisation de réactions chimiques caractéristiques.

#### **➤ Tanins**

A 2 ml de la solution à tester ajouter 2 à 3 gouttes de solution de  $\text{FeCl}_3$  à 2%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire et un précipité (laisser reposer quelques minutes) (9)

#### **➤ Saponosides**

- **Test 1** : 5 ml de la solution à tester sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 mn. La formation d'une mousse persistante après 15 mn confirme la présence des saponosides (9)

- **Test 2** : Evaporer 10 ml d'extrait éthanolique. Traiter le résidu obtenu avec 10 ml de chloroforme anhydre. Mélanger 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydride acétique. Ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter puis laisser reposer. L'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert confirme la présence des hétérosides stéroïdiques (9)

- **Test 3** : 5 ml de la solution à tester sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des tri terpènes hétérosidiques (6)

#### **➤ Flavonoïdes**

Traiter 5 ml de chaque extrait avec quelques gouttes de HCl concentré. Ajouter une quantité de tournures de magnésium (Laisser agir). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange (6)

#### **➤ Glucosides cardiotoniques**

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani. A 1 ml de chaque extrait ajouter 5 ml d'acide acétique contenant des traces de  $\text{FeCl}_3$  et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces

de  $\text{FeCl}_3$ . La présence des glucosides cardiotoniques est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique) (4)

### ➤ Coumarines

Placer 1g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et le placer dans un bain marie pendant quelques minutes. Ajouter 0,5 ml de NH<sub>4</sub>OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (3)

### ➤ Anthracénosides

Ce test est réalisé sur l'extrait éthanolique. En premier lieu, prendre 25 ml de l'extrait éthanolique, ajouter 15 ml d'HCl 10%, porter à reflux pendant 30 mn, refroidir la solution et l'extraire 3 fois avec 15 ml d'éther diéthylique afin d'obtenir deux phases, aqueuse et étherique.

Le test de la présence des anthracénosides est basé sur la réaction de Borntrager. Evaporer 8 ml de la phase étherique, récupérer le résidu avec 2 ml d'eau chaude, ajouter quelques gouttes d'NH<sub>4</sub>OH à 10%. Le test est positif par l'apparition d'une coloration rouge orangée.

### ➤ Alcaloïdes

Deux réactifs sont utilisés : réactif de Mayer et réactif de Wagner qui sont préparés comme suit :

#### \* Réac

\* *tif de Mayer*: 5 g de KI et 1,358 g de HgCl<sub>2</sub> solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.

\* *Réactif de Wagner*: 2 g de KI et 1,27g d'I<sub>2</sub> solubilisé dans 100 ml d'eau distillée.

Ce test se fait par ajout de quelques gouttes de chaque réactif, séparément, aux différents extraits étudiés. L'apparition d'un précipité confirme la présence des alcaloïdes(4)

### ➤ Amidon

Traiter l'extrait aqueux avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une coloration bleue violacée indique la présence d'amidon (3)

\* *Réactif d'amidon*: 1,2 g d'I<sub>2</sub> et 2,5 g de KI solubilisés dans 500 ml d'eau distillée. Le test est positif par l'apparition d'une coloration rouge orangée

### ➤ Anthraquinones

Bouillir 1 g de la plante pendant quelques minutes en présence de 10 ml de KOH 0,5 N et 1ml d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 5%. Refroidir le mélange, filtrer puis acidifier le filtrat avec l'acide acétique.

Extraire la solution acide obtenue avec 10 ml de benzène. Agiter l'extrait benzénique en présence de 5 ml de NH<sub>4</sub>OH. Une réaction positive est révélée par la formation d'une couleur rouge au niveau de la couche alcaline (3)

### ➤ Mucilages

Mélanger 1 ml d'extrait aqueux et 5 ml d'alcool absolu. Un test positif est révélé par l'apparition d'un précipité floconneux.

### ➤ Acides aminés

Ce test est basé sur la réaction des acides aminés avec la ninhydrine. A 1ml de la solution à tester (solubilisée dans l'eau distillée) ajouter 1ml de solution de ninhydrine préparée dans l'acétone (ou éthanol) dont la concentration est de 1%. Chauffer dans le bain marie et observer le changement de couleur. La présence des aminoacides est confirmée par l'apparition d'une couleur violette (8).

### ➤ Stérois et tri-terpènes

Une macération, pendant 24h d'un (01) g de poudre dans 20 ml d'éther di-éthylique ,suivie d'une filtration de ce mélange et complétéà20ml d'éther di-éthylique.

La réaction de Libermann-Buchard consiste à évaporer à sec 10 ml de l'extrait au bain marie .Le résidu sera repris avec un(01) ml d'anhydride acétique et un(01) ml de chloroforme, puis recueillir la solution dans un tube à essai. Ajouter, à l'aide d'une pipette,

1 à 2ml d'acide sulfurique concentré au fond du tube à essai sans agiter. La formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet indique la présence de stérois et de tri terpènes. (12)

## II.2.1.2.Phytochimie quantitative

### II.2.1.2.1.Humidité

Cette méthode analytique est basée sur le séchage complet du matériel végétal frais à une température de 80°C jusqu'à l'obtention d'un poids stable. L'humidité est le pourcentage en eau perdue après séchage par rapport à la matière fraîche. (8)

#### a. Mode opératoire

Après l'emballage de cinquante (50) grammes d'échantillon dans le papier d'aluminium pesé au paravent. Ce dernier est placé dans l'étuve à 80°C jusqu'à séchage total, ensuite, l'échantillon est retiré et mis à température ambiante, puis pesé avec la même balance analytique.

#### b. Expression des résultats

La formule suivante exprime le taux d'humidité en(%)

$$H(\%)= [(M2-M3)/(M2-M1)]\times 100.$$

**M1:**La masse du papier aluminium sans échantillon en gramme;

**M2:** La masse du papier aluminium avec la prise d'essai avant le séchage

**M3:** La masse du papier aluminium avec clous de girofle après séchage

**H:** Humidité.

Ainsi, pour l'élimination totale de l'humidité, nous avons mis 50 g de la plante étudiée (*Syzygium aromaticum*) dans l'étuve à 40°C, trois fois successives après séchage total le poids, de *Syzygium aromaticum* est devenu 48.8 g.

### **III. Dosage des polyphénols**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique folin-ciocalteu selon la méthode décrite par (20)

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotomètre selon la méthode de folin ciocalteu ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif folin-ciocalteu en un complexe ayant la couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés.

#### **III.1. Mode d'opérateur**

Dans un tube à essai mélanger **100 µl** d'extraits plus **500 µl** du réactif de folin ciocalteu à 10 % (v/v) le mélange est incubé pendant 4 min. on ajout ensuite **400 µl** de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (carbonate de sodium) à **7.5 % (v/v)** puis le mélange est soumis à une autre incubation pendant 2h à l'obscurité la lecture se fait dans la longueur d'onde 765 nm.

Le blanc de test contient 100 µl d'éthanol 500 µl de folin et 400 µl de NaCO<sub>3</sub>.

#### **III.2. Expression des résultats**

Les concentrations en composés phénoliques totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide gallique dans le méthanol. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent en acide gallique par 1 milligramme d'extraits sec (µg EAG/mg d'extrait).

### **IV. Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de trichlorure d'Aluminium**

La détermination de la teneur en flavonoïdes des extraits des clous de girofle est effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) (6). Ainsi, un millilitre d'extrait dilué dans le méthanol, ainsi que le flavonoïde standard la rutine/quercétine aussi préparé dans du méthanol est ajouté à

1ml de AlCl<sub>3</sub> (Solution méthanolique de 2%). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm.

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide quercétine à différentes concentrations (0-10µg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont

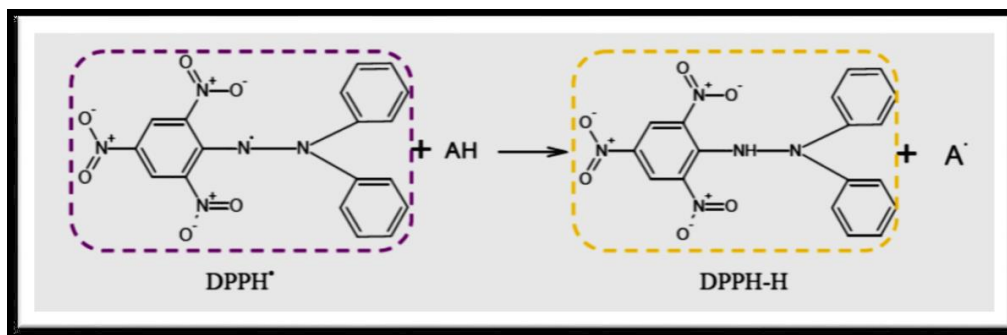
ainsi exprimés en mg d'équivalent d'acide quercétine par 100 g poids sec de la pulpe (mg ER/100g). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

### IV.1. Mode d'opérateur

1 ml d'échantillon dilué est mélangé séparément avec 1 ml de solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2%. Après une incubation à température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance du mélange réactionnel est mesurée à 430 nm avec un spectrophotomètre et la teneur en flavonoïdes est exprimée en µg par g d'équivalent en acide quercétine.

### V. Evaluation de l'activité antioxydant

La méthode du DPPH (diphényl picryl-hydrayl) est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPH-H (diphénylpicryl-hydrazine). La réduction du DPPH<sup>+</sup> en DPPH-H induit un changement de sa couleur violette en jaune, dont l'intensité de la couleur jaune est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Ainsi plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort. (11)



**Figure 18 :** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH<sup>+</sup> entre l'espèce radicalaire DPPH<sup>+</sup> et un antioxydant.

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti radicalaires des extraits végétaux (10)

#### V. 1. Protocole

Un volume de 1 ml de chaque extrait (avec dilution convenable) est incubé (30 mn) avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (33 mg/l). Les absorbances à 517 nm sont enregistrées. Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'Acide Ascorbique pris comme un antioxydant standard. L'activité anti radicalaire est estimée selon

l'équation suivante (16) :

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = [(\text{Abs contrôle}-\text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

La concentration effective à 50%, EC50 =IC50/mg de DPPH/ml.



**Figure19** : Spectrophotomètre.

## **VI. L'activité antibactérienne**

### **VI.1. Les souches bactériennes testées**

L'activité antibactérienne des trois extraits (03) est testée sur des souches de références appartenant à l'American Type Culture Collection (ATCC). L'ensemble de ces souches sont décrites dans le tableau

**Tableau 03** : Tableau descriptif des différentes souches bactériennes testées.

<b>Les bactéries testées</b>	<b>Gram</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	Négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif
<i>Escherichia coli</i> ATCC	Négatif
<i>Bacillus cereus</i> ATCC	Positif

### **VI.2. Les milieux de culture**

Les différents milieux de culture utilisés pour l'activité antibactérienne sont rassemblés dans le tableau suivant

**Tableau 04 :** Tableau descriptif des milieux de culture utilisés

Milieu de culture	Utilisation
<b>Gélose de Muller Hinton (MH)</b>	Etude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens
<b>Gélose nutritive (GN)</b>	Repiquage des colonies
<b>Bouillon Nutritif (BN)</b>	Reactivation et enrichissement des souches bactériennes testées

### **VI.3. Revivification microbiologique des souches bactérienne**

Afin de pouvoir utiliser les souches bactériennes testées, elles sont réactivées dans le bouillon nutritif ; pour cela un repiquage dans des tubes contenant du BN est effectué à partir des milieux de conservation des souches, qui sont ensuite incubés à 37°C pendant 24h.

### **VI.4. Vérification de la pureté des souches bactériennes**

Les souches bactériennes testées sont repiquées à partir des cultures contenues dans le BN sur le milieu de gélose nutritive (GN), suivies d'une incubation à 37°C pendant 24h.

### **VI.5. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *Syzygium aromaticum***

#### **VI.5. 1. Pré-enrichissement des souches bactériennes**

A partir des tubes de BN contenant les souches revivifiées, un pré-enrichissement a été effectué sur un milieu d'isolement (GN) pour chacune des souches.

Afin d'obtenir des colonies bien isolées qui serviront à la standardisation de l'inoculum, l'ensemencement a été réalisé par la méthode des quadrants. Ensuite l'incubation des boîtes de Pétri se fait à 37°C pendant 18h préférablement et au plus tard 24h afin d'obtenir des colonies jeunes en phase de croissance exponentielle.

#### **VI.5. 2. Préparation des suspensions bactériennes**

Une suspension bactérienne de densité équivalente au standard 0,5 de (108

UFC.mL-1) est préparée à partir d'une culture pure et jeune dont l'âge est de 18h.

Ainsi, l'aide d'une anse de platine, racler quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques à partir des boîtes de Pétriensemencées précédemment;

- Déposer les colonies dans un volume d'eau physiologique stérile à 0,9% de chlorure de sodium (NaCl);

- Bien homogénéiser la suspension bactérienne;



## Matériel et Méthode

- Réaliser une standardisation de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625nm et une densité optique ajustée à 0,08 – 0,10.
- Cette densité mesurée à 625nm est équivalente à 108 UFC/ml
- L'ajustement de l'inoculum bactérien se fait en fonction de la charge soit par ajout de la culture si la DO est faible ou de l'eau physiologique stérile s'il est trop chargé.
- L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

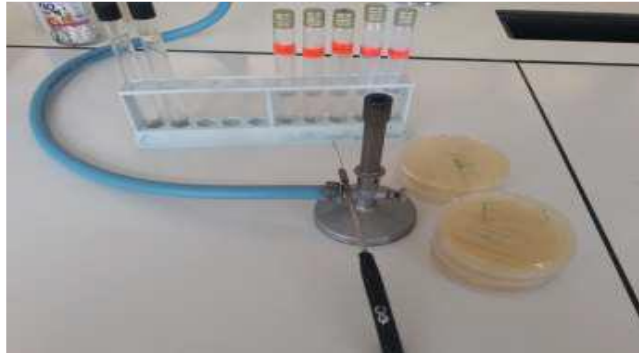


Figure 20 : Préparation des suspensions bactériennes

### VI.5. 3. Le protocole de l' activité antibactérienne

Selon le protocole de **Sokmen** (21), l'étude est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose, conçue initialement pour les antibiotiques, par des disques imprégnés d'extraits (**Fig21**), appelée aromatoگرامme ou encore méthode des disques.

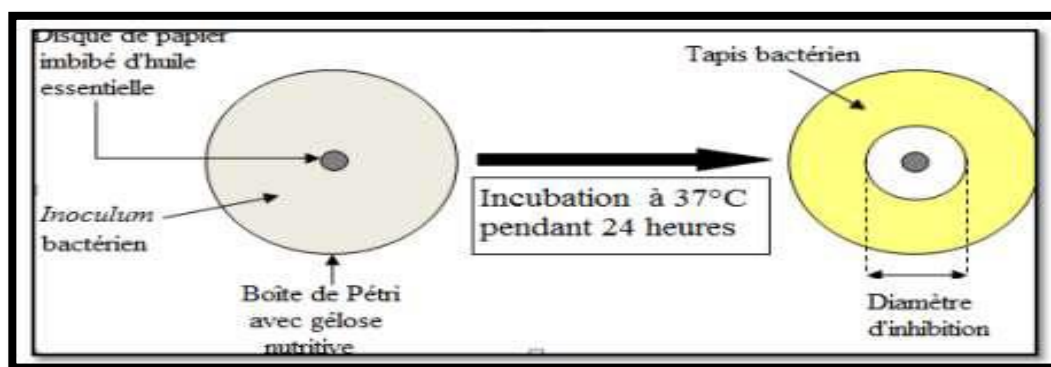


Figure 21 : Principe de la méthode de diffusion par disques (8)

Cette méthode est reconnue par sa fiabilité et sa reproductibilité, en plus de ça, elle constitue surtout aussi une étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs elle permet également de mettre en évidence l'effet antimicrobien des extraits et de déduire la résistance et la sensibilité des souche microbiennes

Le protocole suivi est celui décrit par , qui est réalisé comme suit:

- Des géloses de Mueller Hinton (MH) coulées dans des boites de Pétri sont

ensemencées uniformément à l'aide d'une micropipette de 100 µl de chaque suspension bactérienne standardisée, celles-ci ont été étalées à l'aide d'un râteau de pipette Pasteur.

- Des disques de papier Whatman stériles de 6 mm de diamètre, imprégnés avec 5 µl d'une préparation d'extrait additionnée de DMSO à raison de 5% (v/v) ont été laissées sécher pendant quelques instants (pas trop longtemps pour éviter l'évaporation de l'extrait).
- Pour chaque souche bactérienne testée, ces disques ont été déposés au milieu des boîtes de Pétri contenant les géloses ensemencées.

D'autres disques chargés de 5µl de DMSO ont été déposés dans des boîtes de géloses MH préalablement ensemencées de chaque souche bactérienne testée, pour servir de témoins négatifs.

- Les témoins positifs ont été réalisés par dépôt de disques d'antibiotiques dans des boîtes ensemencées avec les suspensions bactériennes standardisées. Le test a été répété deux fois (**fig22**).



**Figure 22** : préparation des disques dans les boîtes de géloses MH

- L'incubation des boîtes se fait dans l'étuve à 37°C pendant 24h.

La lecture des résultats s'est faite 24 heures après l'incubation par la mesure des diamètres des zones d'inhibition, ceci en mesurant la moyenne des deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque, qui sont ainsi déterminés comme un halo translucide autour du disque à l'aide d'une règle en (mm).

Suivant le diamètre de la zone d'inhibition exprimé en (mm) autour de chaque disque, la lecture des résultats est faite comme suit (5)

- Résistante (-): diamètre  $\leq$  8 mm.
- Modérément sensible (+): diamètre compris entre 8 et 14mm.
- Sensible (++) : diamètre compris entre 14 et 20mm.
- Extrêmement sensible (+++): diamètre  $>$  20mm.

## **VII. Matériel animal**

### **VII.1. Local de travail**

Ce travail s'est déroulé au niveau d'un local aménagé en animalerie au centre universitaire Abdelhafid Boussouf de Mila qui est préalablement préparé afin d'assurer l'entretien hygiénique et prophylactique du lieu où aura lieu l'élevage des lapins pour le maintien des conditions qui leur en seront favorable.

### **VII.2. Les animaux d'expérimentation**

L'étude est menée sur des lapins, de souche locale, *Oryctolagus cuniculus domesticus*, de sexe mâle et femelle, élevés dans les mêmes conditions et âgés d'environ 6 mois.

### **VII.3. Entretien des animaux (lapins de souche locale)**

Depuis le **05/01/2022**, les lapins sont mis au niveau de l'animalerie où ils sont nourris avec un régime commercial équilibré et fabriqué par SIM et l'eau de robinet pendant 07 jours. Pour éviter toute sorte de stress, ils sont mis dans des conditions bien déterminées et contrôlées avec une température de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  et un rythme nyctéméral (12h/12h).

L'activité antidiabétique des plantes concernées est effectuée en réalisant un ensemble de tests sur ses lapins qui sont élevés dans un clapier pour élevage de lapins GOMEZ Y CRESPO. Ces derniers sont nettoyés quotidiennement pour éviter les risques de contamination. 7 jours après, les lapins sont acclimatés aux nouvelles conditions d'élevage.

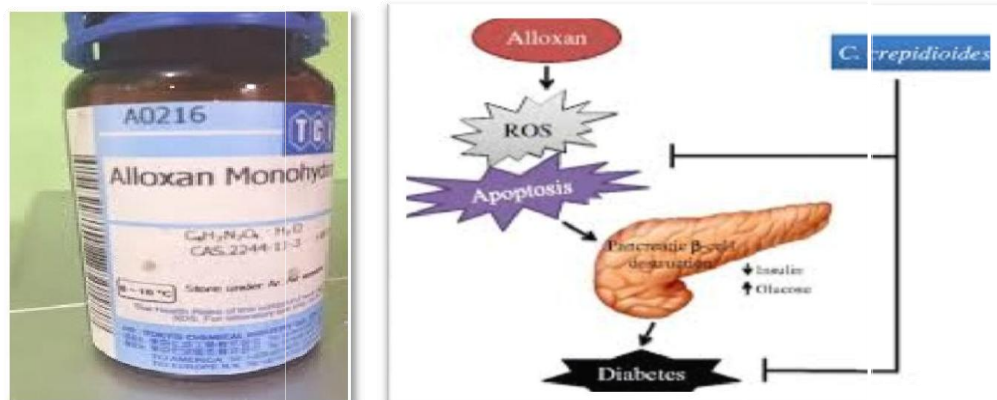


**Figure 23 :** Lapins au niveau de l'animalerie

**VIII. Produit médical**

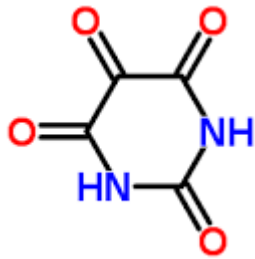
**VIII.1. Définition de l'alloxane**

L'alloxane est un produit chimique, le plus couramment utilisé pour l'induction du diabète expérimental, il s'agit d'un composé organique basé sur un squelette de l'hétérocyclique de la pyrimidine, C'est un Dérivé de l'urée qui provoque sélectivement une nécrose pancréatique des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans. (11)



**Figure 24** : L'alloxane

**Tableau 05** : Propriétés chimiques d'alloxane.(11)

La formule chimique	
Nom chimique	2,4, 5,6(1H, 3H)-pyrimidine tétraone monohydrate.
Structure chimique	$C_4H_2N_2O_4$
Masse moléculaire	160,09g/mol.
Point de fusion	253°C

### VIII.2. Mécanisme d'action

L'alloxane, par une analogie structurale au glucose, pénètre à travers les transporteurs de glucose GLUT2 des cellules  $\beta$  pancréatiques. <sup>(13)</sup>Au cytosol, il est, ainsi, réduit en acide dialurique<sup>(22)</sup> Cette réduction est assurée par plusieurs agents tels que le glutathion réduit, la cystéine, l'acide ascorbique et les groupements SH des protéines. En plus, il a un groupe de 5 carbonyles centraux qui réagissent très avidement avec des groupes thiol. La glucokinase est l'enzyme thiol le plus sensible de la cellule  $\beta$ . <sup>(18)</sup> A des concentrations élevées, il peut inhiber de nombreuses enzymes fonctionnellement importantes, ainsi que d'autres protéines et fonctions cellulaires. A ce moment, ce produit chimique se relie avec deux groupements thiol du site actif de la glucokinase formant un pont disulfure et inactivant l'enzyme.

### IX. Méthode d'évaluation d'activité anti-hyperglycémiant d'extraits de clous de girofle

#### IX .1. Induction chimique du diabète

Après une semaine, soit le 12/01/2022 et un jeûne de 16h à 9h, ils sont rendus diabétiques, par administration sous cutanée d'une dose de 250 mg/kg de poids vif, soit un volume de 2 ml/kg d'une solution d'alloxane diluée dans une solution saline à 0.9%. Le groupe témoin, cependant, n'est pas traité par la solution diabétogène, l'alloxane.

Cependant, une solution de sérum glucosé de concentration de 05% est ajoutée dans l'eau de boisson des lapins, pendant 24 h, afin, de surmonter l'hyperglycémie induite par l'alloxane suite à la destruction des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans pancréatiques. Alors que l'aliment est donné ad-libitum ou à volonté aux animaux, trente (30) minutes après l'administration du médicament. Par contre, au bout de quelques heures, les lapins sont suivis par la mesure de la glycémie et le poids corporel.



**Figure 25:** Induction du diabète

### IX.2. Mesure de la glycémie

La glycémie de base (G0) de chaque lapin est déterminée à l'aide d'un lecteur glucomètre à bandelettes réactives (**Vital check**). Ainsi, sur une goutte de sang prélevée, d'une veine marginale de l'oreille de chaque lapin, après nettoyage avec de l'alcool, en utilisant des lames de bistouris, est déposée sur la bandelette du glucomètre, afin, de lire le taux de glucose sanguin. Généralement, le glucomètre est constitué d'une couche absorbante sur laquelle la goutte du sang est déposée, finement poreuse ou recouverte d'une membrane sur sa face interne.

Elle retient, à cet effet, les globules rouges et ne laisse diffuser que le plasma vers les, couches inférieures où se trouve le réactif essentiellement la glucose-oxydase (éventuellement l'écokinase) associée à chromogène La coloration obtenue est mesurée par réflectométrie dans le lecteur de glycémie.

Après 72h d'administration d'alloxane, l'induction du diabète est confirmée en mesurant le taux de glucose Dans le sang, Seulement les lapins ayant Un taux de glucose sanguin à jeun supérieur à **2g/l** sont considérés diabétiques et sont utilisés dans cette expérimentation.



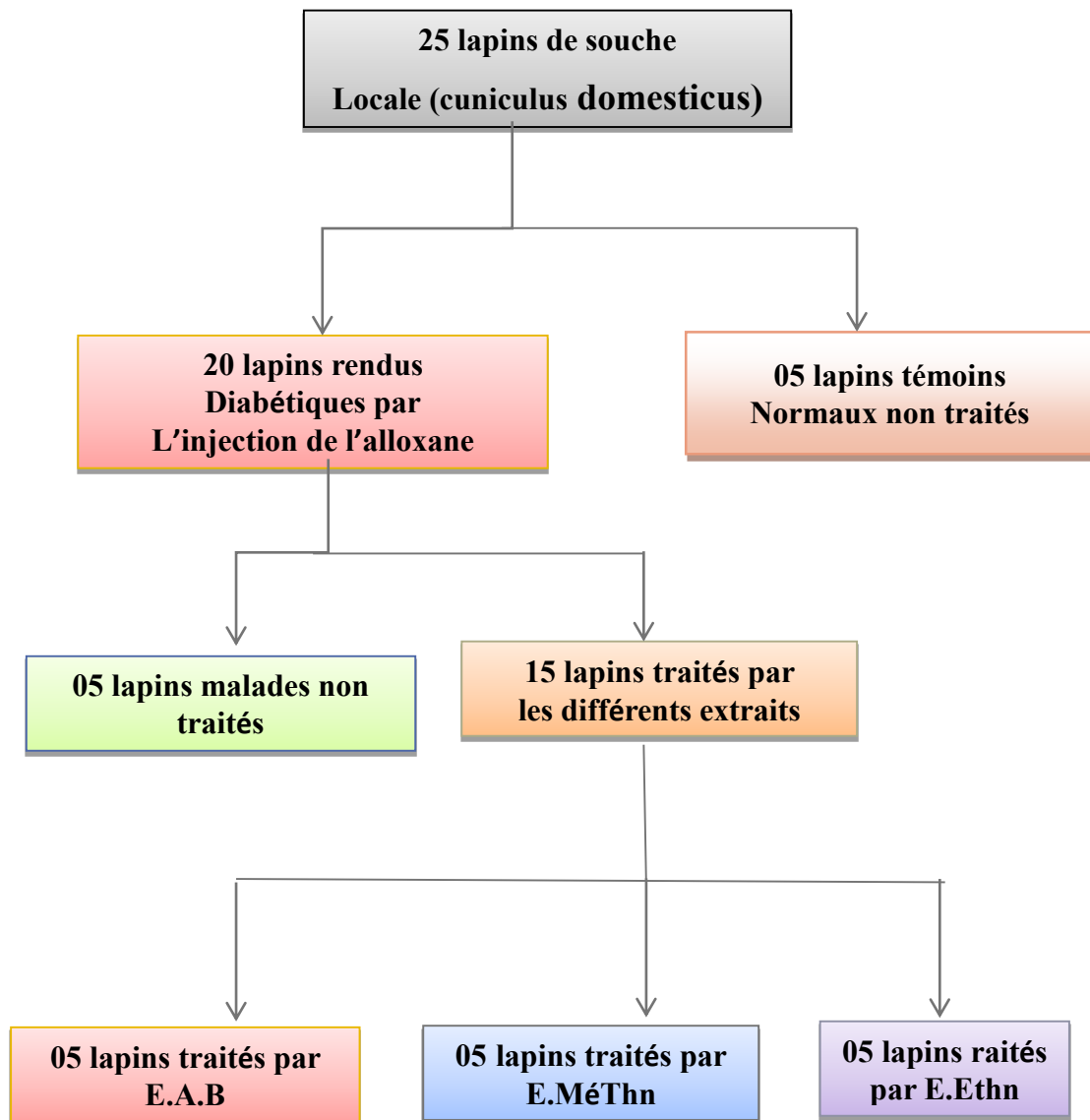
**Figure 26:** pesé le poids et mesuré la glycémie des lapins

### IX.3. Réparation des animaux

Afin d'évaluer l'effet antihyperglycémiant de clous de girofle sont testés sur les lapins, répartis en **cinq (05) lots**, après une période d'acclimatation les lapins de chaque lot ont presque le même poids de départ Dont **vingt (20)** sont rendus diabétiques mais **cinq(05)** sont normaux (témoin).

Pour ce faire, Les lapins répartis en 05 lots sont utilisés:

- ❖ Lot01: Témoins normaux(T);
- ❖ Lot02: Témoins malades non traités(MNT);
- ❖ Lot03: Malades traités avec l'extrait aqueux brut.(EAB).
- ❖ Lot04: l'extrait éthanolique (E.Ethn).
- ❖ Lot05 : l'extra méthanolique (E.Méthn).



**Figure 27 :** Différents lots

Les lapins sont mis à jeun 16 heures à 09 heures du matin avant l'administration des extraits.  
La glycémie basale est mesurée au début de l'expérimentation

### IX.4. Gavage des extraits végétaux

Le 19 /01/2022 les lapins des lots II, III et IV, sont soumis à un gavage intra-gastrique des divers extraits, à l'aide d'une sonde, dont, que les doses administrées sont indiquées dans **le tableau(6)**

**Tableau 06 :** Doses administrées aux différents lots.

Lot T	Poids (g)	Glycémie (g)/l	Doses alloxane à administrer (mg)
1	1860	1.45	//
2	1680	1.58	
3	1580	1.49	
4	1620	1.60	
5	1630	1.58	
Lot I			
6	1470	1.63	367.5
7	1780	1.40	445
8	1720	1.49	430
9	1490	1.69	372.5
10	1587	1.20	396.75
Lot II			
11	1470	1.80	367.5
12	1680	1.20	420
13	1510	1.65	377.5
14	1494	1.18	373.5
15	1690	1.20	422.5
Lot III			
16	1790	1.64	447.5
17	1598	1.65	399.5
18	1777	1.82	444.25
19	1765	1.38	441.25
20	1440	1.66	360
Lot IV			
21	1600	1.35	400
22	1577	1.34	394.25
23	1500	1.21	375
24	1760	1.35	440
25	1489	1.24	372.25





**Figure 28:** Gavage des lapins

La glycémie est mesurée à l'aide d'un lecteur glucomètre à bandelettes réactives (**Vital check**) sur une goutte du sang prélevée à partir de des animaux à des temps réguliers.

#### **IX.5 Evolution du poids corporel**

L'évaluation continue des poids corporels, nous permet, de mettre en évidence, l'influence des extraits sur ce paramètre en suivant son évolution, chez les lapins témoins et traités, les lapins sont pesés périodiquement au cours de l'expérimentation avec une balance, le poids corporel est exprimé en gramme.

#### **IX.6. Prélèvement sanguin**

Le prélèvement du sang se fait sur l'animal vivant (sans anesthésie), au niveau de la gégulaire par une seringue stérile, pour la mesure de la glycémie le prélèvement est effectué à partir d'une veine marginale de l'oreille. Sachant que les lapins sont maintenus à jeûne pendant 16 h.

Le sang est recueilli sur Héparine et centrifugé à une vitesse de 3000 tr/min pendant 15 minutes. Le plasma récupéré dans des tubes à eppendorfs conservés à une température de 4°C servira pour le dosage des différents paramètres biochimiques.

#### **IX.7. Abattage et prélèvement sanguin**

Les lapins, à jeun de puis 24h, sont sacrifiés par dislocation cervicale après anesthésie, Par le formol, le sang est mis dans des tubes héparines, centrifugé à 3000 t/min pendant 10 minutes puis les mettre dans des tubes eppendorfs conservés à -20° Cet utilisé pour les dosages biochimiques de la glycémie, le cholestérol total, et le triglycéride



**Figure 29:** Abattage des lapins.

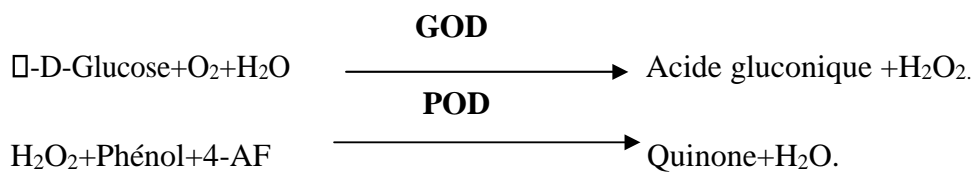
## **X. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques du sang**

Le dosage des paramètres biochimiques est effectué de la manière suivante:

### **X.1. Dosage du glucose**

#### **a. Principe**

Le glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique, le peroxyde d'hydrogène produit se détecte avec un accepteur chromogène d'oxygène, phénol 4-animophénazone(4-AF), en présence de la peroxydase(POD).



L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de glucose présente dans l'échantillon testé

**b. Réactifs**

✓ <b>Réactif1</b> <b>Solution tampon</b>	Tampon Tris Phénol	pH=7 100 mmol/l 0,3 mmol/l
✓ <b>Réactif2</b> <b>Enzymes</b>	Glucose oxydase Péroxydase Amino 4-Antipyrine	10000U/l 1000U/l 2,6 mmol/l
✓ <b>Réactif3</b> <b>Standard</b>	Glucose	100mg/dl 1g/l 5,56 mmol/l

**c. Préparation du réactif et stabilité**

Dissoudre le flacon R2 dans le flacon R1 et bien agiter. Le réactif de travail est stabilisé: 8 semaines à 20-25°C ou 8 mois à 2-8°C.

**d. Mode opératoire**

Longueur d'onde est de 505nm (492-550), la température de 37°C (20-25°C), dans des cuves de 1cm d'épaisseur, ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc du réactif.

	<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Standard</b>	-	10µl	-
<b>Echantillon</b>	-	-	10µl
<b>Réactif de travail</b>	1000µl	1000µl	1000µl

Mélanger, ensuite lire les DO après une incubation de 10 minutes à 37°C ou 30 mn à 20-25°C. La coloration est, ainsi, stable après 30 minutes.

**e. Calcul**

$$\text{Glucose} = \frac{D.O \text{ Echantillon}}{D.O \text{ Standard}} \times n$$

**X. 2. Dosage de la cholestérolémie**

**a. Principe**

Le cholestérol et ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines par des détergents. Le cholestérol estérase hydrolyse les esters.  $H_2O_2$  est formé dans l'oxydation enzymatique consécutif du cholestérol par le cholestérol oxydase selon les réactions suivantes:



Sachant que la quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

**b. Préparation et stabilité**

Dissoudre le contenu d'un flacon de R2 avec un flacon de tampon R1. Le réactif de travail est stable après un (1) mois à 20-25°C ; ou 4 mois à 2-8°

Réactif 01 Solution tampon	<b>PipespH6.9</b> <b>Phénol</b>	<b>90mmol/l</b> <b>26mmol/l</b>
Réactif02: <b>Enzymes(CHE,CHODetPOD).</b>	Cholestérol oxydase Peroxydase Cholestérol estérase Amino-4-antipyrine	300U/l 1250U/l 300U/l 0.4 mmol/l
Réactif 3 Standard		200mg/dl 2 g/15.17ml ol/l

**c. Mode opératoire**

Longueur d'onde 505 nm (500 - 550), Température 37°C et cuve de 1 cm d'épaisseur.

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	-	10µl	-
Echantillon	-	-	10µl
Réactif de travail	1000µl	1000µl	1000µl

Mélanger, lire les densités optiques après une incubation de 5 min. à 37°C. La coloration est stable 30 minutes.

$$\text{Cholestérol} = \frac{D.O_{\text{Echantillon}}}{D.O_{\text{Standard}}} \times n$$

**d. Calcul**

Mg/dl: n =

200.G/l: n =

2.mmol/l:n=



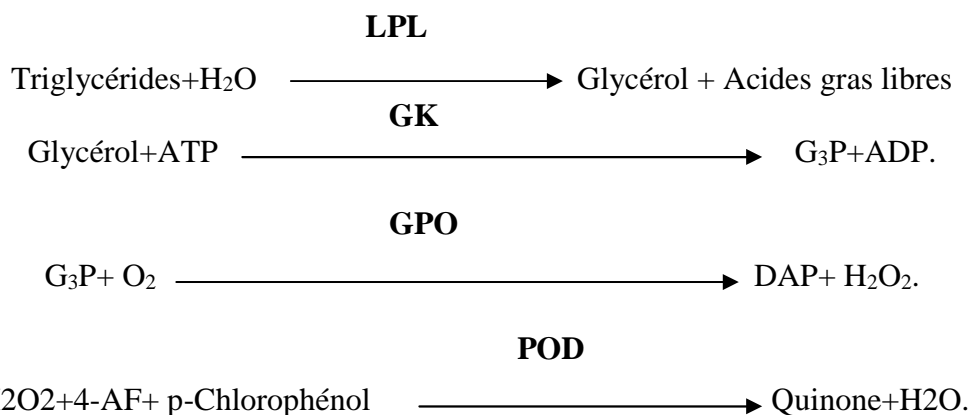
**Figure 30 : Dosage des paramètres biochimiques.**

### X.3. Dosage de la triglycémie

#### a. Principe

Les triglycides incubés avec de la LPL libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par le glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et de l'ATP en présence de glycérol kinase pour produire du G<sub>3</sub>P et de l'adénosine-5-di phosphate (ADP).

Le G<sub>3</sub>P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par le GPO. Au final, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) réagit avec du 4-AF et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la POD, ce qui donne une couleur rouge :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycides présents dans l'échantillon testé.

Réactif 1: tampon pH 7.5 et p-chlorophénol;

Réactif 2: enzymes (LPL, GK, GPO, POD) et 4-AP et ATP ;

Réactif 3: Etalon de triglycide (2g/l).

#### b. Solution de travail

Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif 1). La solution est

stable pendant 14 jours de 20 à 25°C ou 56 jours de 2 à 8°C.

#### c. Méthode de dosage

Mélanger et attendre 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante. Lire la DOD à 505 nm contre la DOE. Les teneurs en triglycides sont exprimées en g/l.

#### d. Calcul

Taux de triglycides = (DOD/DOE) × 2g/l.

### (A)

(1) **AFNOR., 1990.** Recueil de normes françaises. Méthodes d'analyses françaises et communautaires. Aliments des animaux .Dosage de la teneur en eau. Paris.

antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*).

### (B)

(2) **Bahorun, T, 1997,** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne. Une

(3) **Ben Mehdi, 2000** Valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte .Mémoire de magistère en chimie organique appliquée. Département de chimie .faculté des sciences Université Tlemcen. P.88.

(4) **Brune ton, 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Ed TEC et DOC, 3<sup>ème</sup> édition, p. 267-269 compounds. Food chemistry, 97: 654-660

### (D)

(5) **Djabou N., Sambucus nigra L., 2006.** une plante de la pharmacopée traditionnelle du nord africaine”, Thèse de magister en chimie organique appliquée, Faculté des Sciences -

(6) **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna (2007,** containing phenolic Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. Eur Food Res Technol, 224: 801-809

### (E)

(7) **Edeoga, 2005 et al., 2005.** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants .African Journal of Biotechnology. 4: 685-688. stéroïdes et terpènes Cai L.Y., Shi F.X., Gao X. 2011. Preliminary phytochemical analysis of *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr .Journal of Medicinal Plants Research, 5: p. 4059-4064.

(8) **Embarek A, G., Kokkalou, E., & Kefalas, P. 2005.** Phenolic profile and Third Edition, ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB), P.203-214.)

Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions

*Food Chemistry*, 89(3), 411-420.

fruits: A comparative study. Food Chemistry, 103(3), 1003-1008.

(G)

(9) **Guinoiseau, E. (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: Séparation,

(H)

(10) **Harborne J.B., 1998.** Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. identification et mode d'action. Université de Corse

(11) **Hashemi M., Dostar Y., Rohani S , Saraji A ., Bayat M., 2009.** Influence of Aloxanes on the Apoptosis of Pancreas B-Cells of Rat. World Journal of Medical Sciences. 2009 ,4 (2): p.70-73

(K)

(12) **Karumi *et al*, 2004,** Identification of active principals of M. balsa mina (Balsam apple) leaf extracts. Journal of Medical Sciences, 4: p.179-182

(L)

(13) **Lenzen S., Freytag S., Panten U,1988.** Inhibition of glucokinase by alloxan through interaction with SH groups in the sugar-binding site of the enzyme. Mol Pharmacol, 34: p.395-400.

(14)**Lim, Y. Y., Lim, T. T., & Tee, J. J. 2007.** Antioxidant properties of several tropical

(N)

(15) **N'Guessan K., Kadja B .,Zirihi G ., Traoré D .,Aké-Assi L , 2009.**Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, of selected microalgae. Food Chemistry, 102: 771-776.

Côte-d'Ivoire). Science& Nature,6 : p.1-15

(P)

(16) **Prakash, D., Upadhyay, G., Brahma, N., Singh, H.B. 2007** Singh antioxidant and free radical scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (Glycine max). Food Chemistry. 104: 783-790.

(S)

(17) **S., Gohlke ., 1959.** « Time-of-Flight Mass Spectrometry and Gas-Liquid Partition Chromatography », Analytical Chemistry, 31(4): p. 535-541.



## *Références bibliographique*

---

(18) **Sanchez-Moreno, C. (2002)** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. 8: 121-137.

(19) **Sanchez-Moreno, C. (2002)** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. 8: 121-137.

(20) **Singleton V. L., Orthofer R. and Lamuela-Raventos R. M.** Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.* 1999; 152-177

(21) **Sokmen A., Gulluce M., Askin Akpulat H., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M. and Sahin** Sources d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritias, p83-94.

Sources d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritias, p83-94.

Sources d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritias, p83-94.

(22) **Szkudelski T., 2001.** The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res*, 50: p.536-546.



*Résultats*  
*Et*  
*Interprétation*

## I. Caractérisation physico-chimiques

### I.1. Tests qualitatifs

Différentes méthodes spécifiques, utilisées, ont permis l'identification des différents groupes chimiques (composés bioactifs présents dans les clous de girofle pouvant avoir une activité antidiabétique. Ainsi que, la mise en évidence des mucilages, d' Amidon, des sucres réducteurs, des flavonoïdes, des coumarines, des tanins, des saponosides, ainsi, des flavonoïdes, des glucosides cardiotoniques, des alcaloïdes et des acides aminés et des stéroïdes et terpènes. L'existence de ces familles de composés bioactifs est vérifiée dans les extraits méthanolique, éthanolique et aqueux brut.

**Tableau 07** : Profil phytochimique clous de girofles.

Familles phytochimiques	Tests réalisés sur			
	Réactifs Utilisés	E.AB	E. Méthn	E. Ethn
Tanins	FeCl <sub>3</sub>	+ + +	+ + +	+
<b>Saponosides</b>	Indicedemousse	+ + +	+	+ + +
<b>Flavonoïdes</b>	Mg <sup>++</sup>	+ + +	+ + +	-
<b>Glucosides cardiotoniques</b>	Réaction deKeller-kiliani	+ + +	+ + +	-
<b>Coumarines</b>	KOHetHCl	+ + +	+ + +	+
<b>Les anthraquinones</b>	NH <sub>4</sub> OH (10%)	+ + +	+ + +	-
<b>Amidon</b>	Réactifd'amidon	-	-	-
<b>Alcaloïdes</b>	Wagner	+ + +	+ + +	+ + +
<b>Mucilage</b>	Alcoolabsolu	+ + +	/	/
<b>Les Acides Amines</b>	La ninhydrine acétique	-	-	-
<b>Les Composés réducteurs</b>	LiqueurdeFehling	+ +	+ +	+
<b>Stéroïdes et Ti-terpènes</b>	Réaction Libermann Buchard	+ + +	+ + +	+

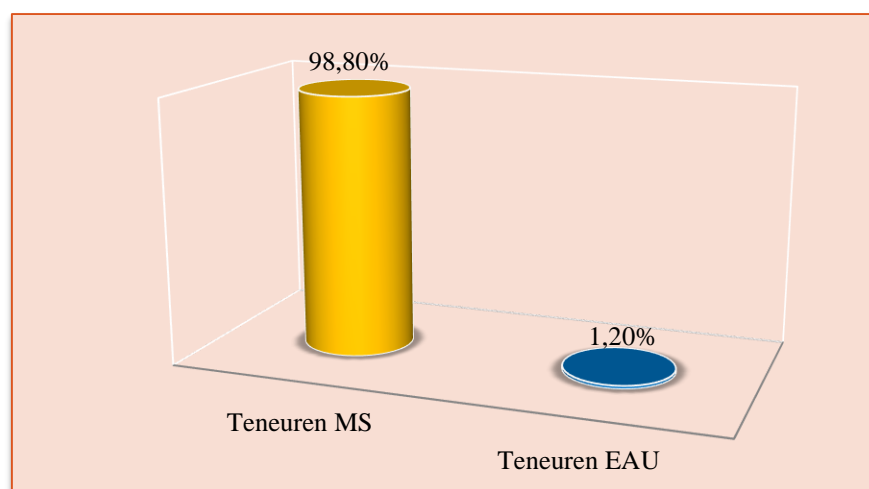
Légende:

- ✓ (+++) =Très Riche (Réaction franchement positive).
- ✓ (++) = Riche (Réaction moyennement positives.
- ✓ (+) = Trace (Réaction faiblement positifs).
- ✓ (-) =Absence (Réaction négative).
- ✓ (/)=Réaction non effectuée.

. Les résultats obtenus, montrent que les clous de girofle (*Syzygium aromaticum*) sont très riches en tannins, en flavonoïdes, en glucosides cardiotoniques, en alcaloïdes, en anthraquinones ainsi qu'en saponosides qui sont trouvés dans les différents modes de préparation, en particulier, dans l'E.AB et l'E.Méthn qui révèlent qu'ils sont en quantité importante. Alors que les alcaloïdes, les tannins et saponosides, existent dans les trois extraits (E.AB, E.Ethn et l'E.Méthn). Cependant, les flavonoïdes, les glucosides cardiotoniques et les anthraquinones sont fortement trouvés dans les extraits aqueux brut et méthanoïque mais rarement trouvés ou absents dans l'E. éthanolique. Tandis que le mucilage est très riche dans l'EAB. Il faut signaler que l'addition de la Ninhydrine à ces extraits a permis de mettre en évidence l'absence des acides aminés dans l'EAB, l'E.ethanolique et l'E.Methnolique. En revanche, les résultats montrent que les extraits de clou de girofle sont dépourvus en amidon. Tandis que l'E.Ethn est riche en saponoside et en alcaloïde par rapport aux autres composés, et ne contient que des traces de composés reducteurs et sterol tri-terpène. Ainsi, donc l'observation attentive des résultats, nous a permis de remarquer la variabilité de la composition des différents extraits.

### I.2. Tests quantitatifs

#### I.2. 1. Le taux de l'humidité et de la matière sèche

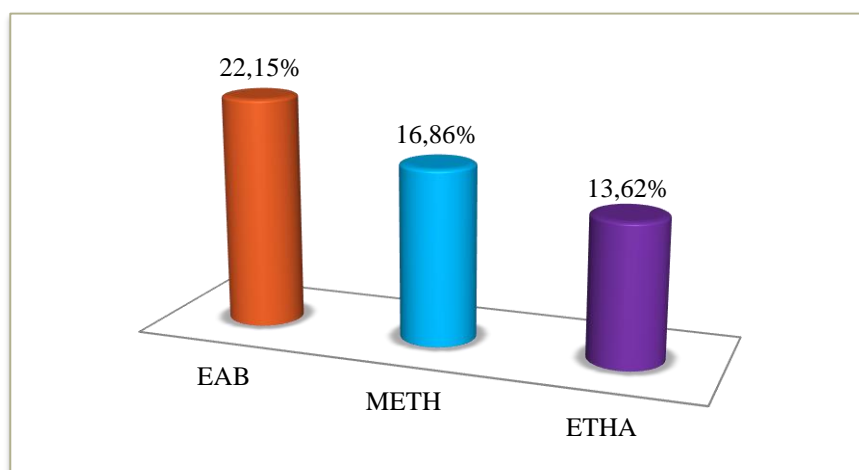


**Figure 31:** Teneur en eau et le taux de matière sèche des clous de girofle

Le taux moyen d'humidité pour le clou de *Sizyguim aromaticuim* est de 1.2%, ce qui prouve que la majeure partie du poids des clous est constitué de la matière sèche.

Le stockage des plantes médicinales ou leurs extraits avec une teneur élevée en eau cause sa pourriture ainsi que l'oxydation de ces molécules bioactives donc le séchage des plantes avant leur extraction est de première nécessité. A cet effet, la connaissance de telles informations permet de sécher les plantes médicinales dans des conditions qui assurent leur conservation à long terme tout en gardant leurs huiles essentielles et leurs molécules bioactives, leurs couleurs, leurs odeurs et par suite leurs qualités nutritionnelles (5).

### I.2.2. Le rendement



**Figure 32 :** Les rendements de différents extraits de clous de girofle

Il ressort de cet histogramme que les variations des rendements d'extraction sont observées pour chaque extrait qui pourraient être dues à la variabilité du solvant et/ou la partie végétale utilisée.

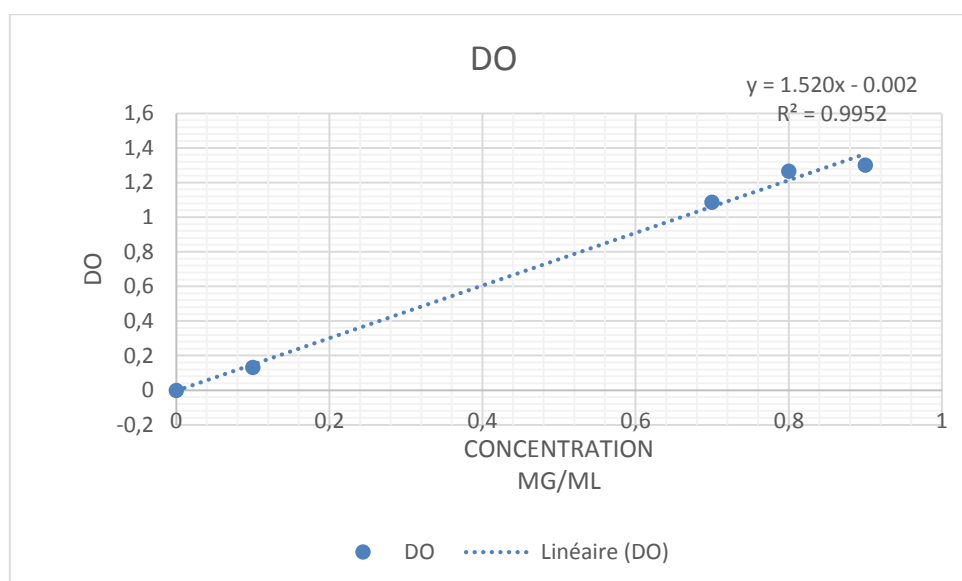
L'histogramme représente les résultats des rendements des différents extraits de clou de girofle.

Ces résultats montrent clairement que les rendements obtenus avec l'EAB sont plus importants que ceux des E.Methn et l'E Ethan. Cependant, plusieurs auteurs ont prouvé que le rendement d'extraction des composés phénoliques varie considérablement avec la polarité du solvant utilisé (13) (9). Ces variations peuvent également être attribuées à la différence d'affinité des composés phénoliques vis-à-vis du solvant d'extraction, à leur degrés de polymérisation ou à leur engagement dans d'autres structures moléculaires formant, ainsi des complexes insolubles (3). En outre, (10) ont rapporté que les rendements élevés obtenus avec l'EAB peuvent être dus à la solubilité de la plupart des composés dans ce dernier.

## II. Dosage des polyphénols

**Tableau 8:** Absorbance des différentes concentrations en acide gallique

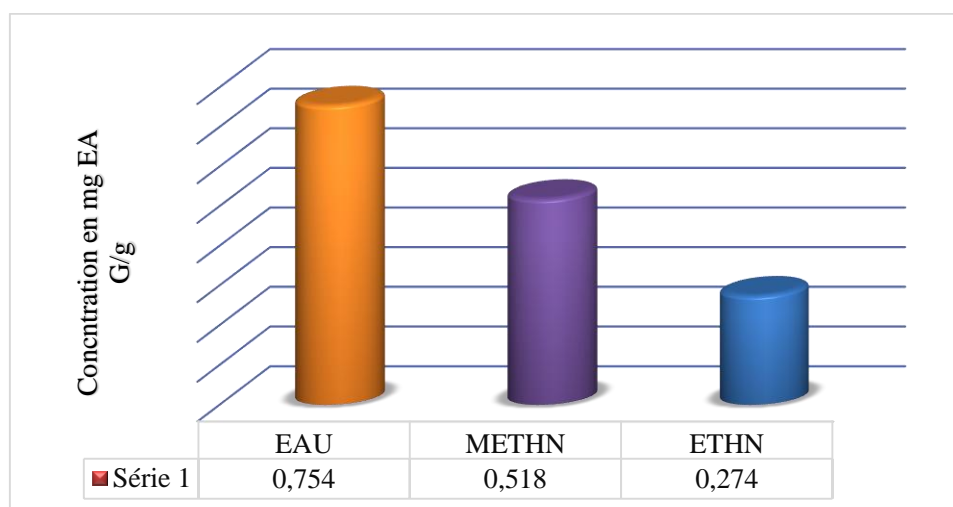
Numéro de tubes	Témoin	1	2	3	4
Quantité d'acide gallique (mg)	0	0.1	0.7	0.8	0.9
Absorbance	0	0.133	1.087	1.266	1.301



**Figure33 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

**Tableau9 :** Résultats du dosage des polyphénols de clou de girofle

Absorbance	E.A.B	E.Méthanolique	E.Ethanolique
Première	1.133	0.992	0.315
Deuxième	1.159	0.582	0.517



**Figure34 : Dosage des polyphénols**

Le méthanol, l'éthanol et l'eau sont utilisés séparément généralement pour extraire les composés phénoliques à partir de la poudre des clous de girofle (*syzyrium aromaticum*).

D'après les résultats obtenus, on constate que tous les solvants ont la capacité d'extraire les composés phénoliques totaux.

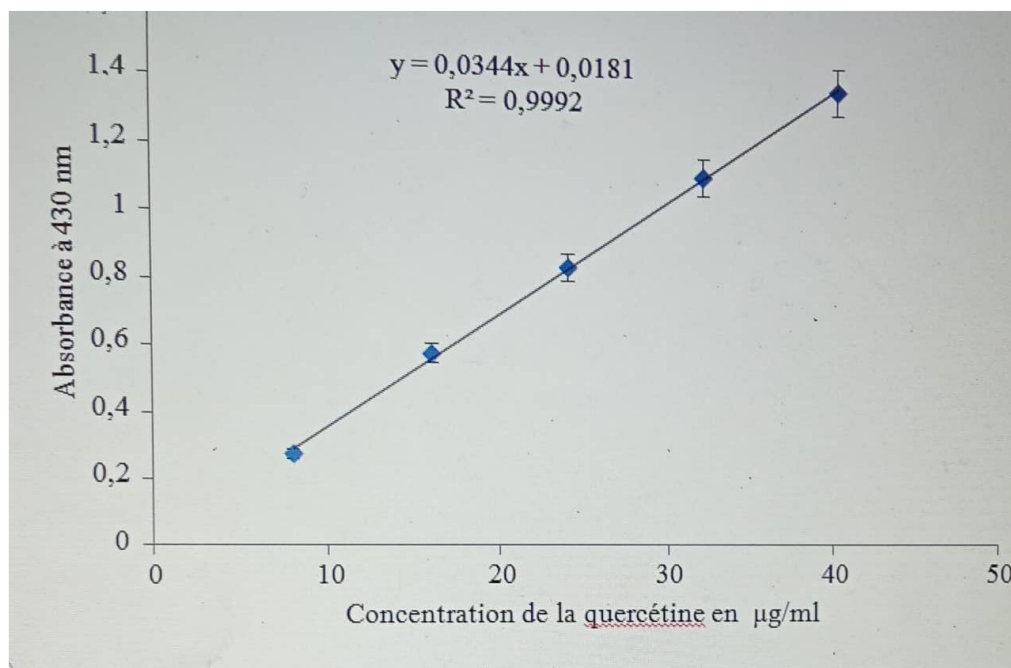
Les taux d'extraction en polyphénols totaux les plus élevés sont enregistrés par l'eau suivie par les extraits méthanoliques avec des teneurs de 0.754mg EAG /g de poudre et 0.518 mg EAG /g de poudre respectivement, alors que l'extraction par éthanol a donné un taux faible égal à 0.274 mg EAG/g de poudre mais qui reste important du point de vue activité. En effet,(6) a rapporté que différents solvants ont la capacité d'extraire divers constituants selon leur solubilité et leur polarité.

Enfin, d'après les résultats obtenus, il ressort que l'eau reste le solvant le plus approprié pour cette extraction.

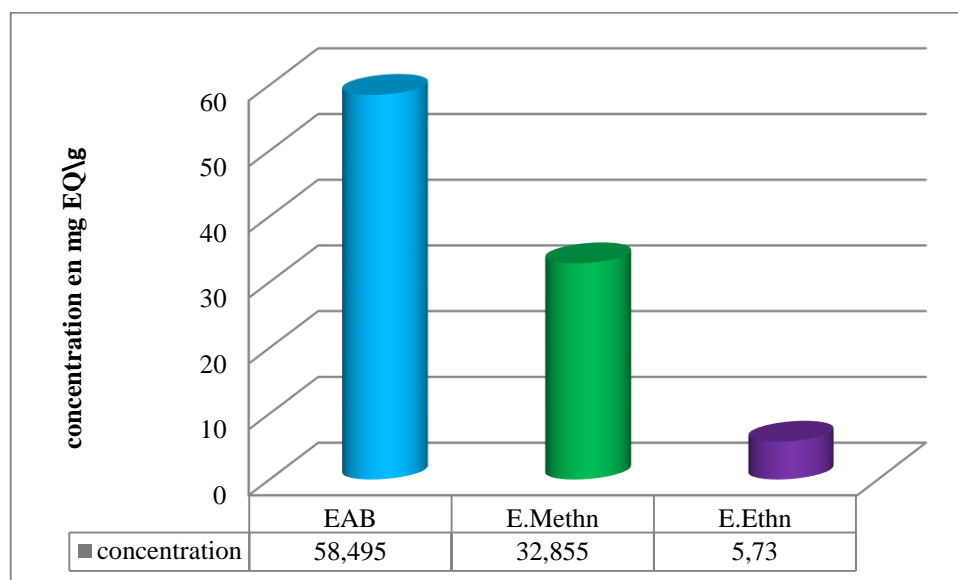
### **III. Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de trichlorure d'Aluminium**

**Tableau 10:** Résultats du dosage des flavonoïdes de clou de girofle

Absorbance	E.A.B	E.Méthanolique	E.Ethanolique
Première	2.07	1.172	0.211
Deuxième	1.991	1.125	0.220



**Figure35** : Courbe d'étalonnage de la quercétine



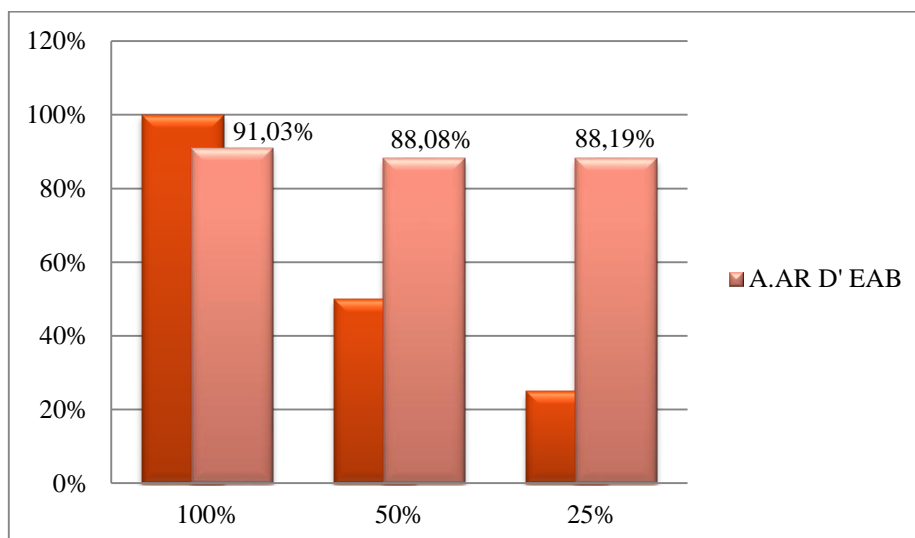
**Figure 36** : Teneurs en flavonoïdes totaux de trois extraits des clous de girofle

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et l'étalon été la quercétine (**Fig36**). La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière fraîche (mg EQ/g de MF). Les taux des flavonoïdes des quatre extraits ont été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type :  $y = 0,0344 x + 0,0181$  sachant que  $R^2 = 0,9992$ .

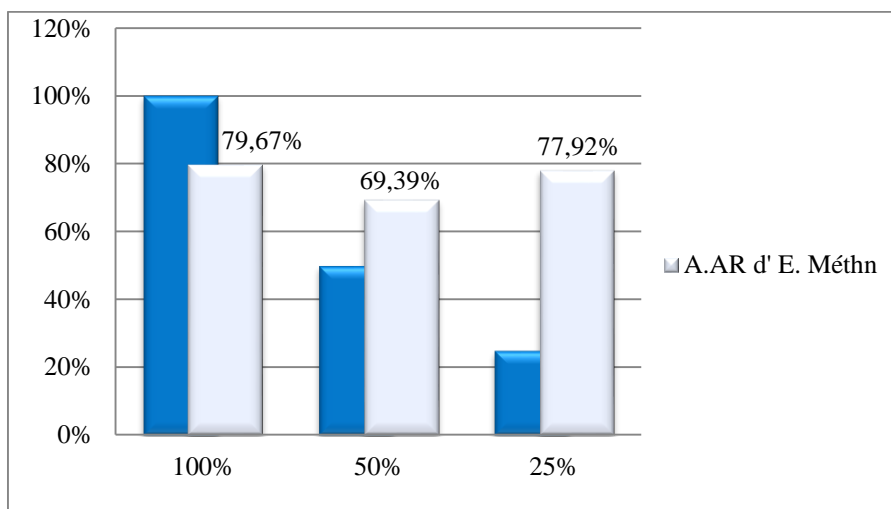


Les concentrations des flavonoïdes (**Fig36**) sont relativement importants dans les extraits dans leur majorité, les teneurs en flavonoïdes sont de 58.495 mg EQ /g de matière fraîche dans l'extrait EAB suivie de celles de L'extrait méthanolique avec 32.855mg EQ /g de matière fraîche respectivement et enfin celle d'extrait éthanolique avec une faible 5.73 mg EQ/g de matière fraîche.

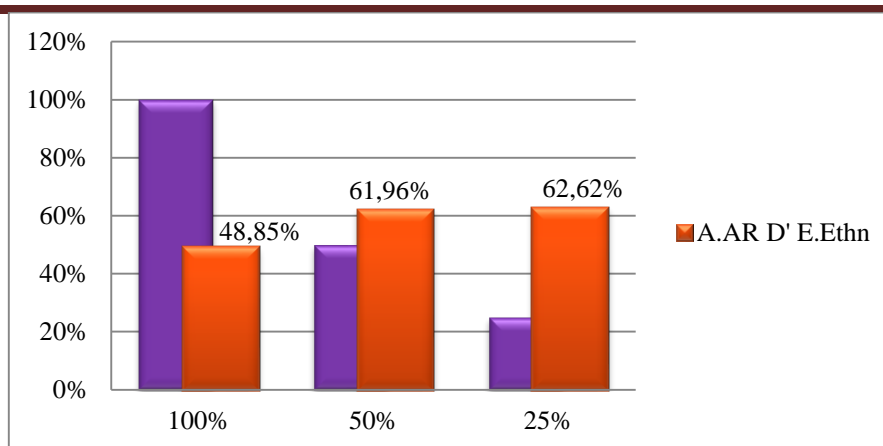
### IV. L'Activité anti oxydante



**Figure 37:** Activité anti oxydante d'EAB



**Figure38 :** Activité anti oxydante d'E.Méthn



**Figure 39 : Activité anti oxydante d'E.Ethn**

D'après le résultat obtenu, la capacité d'inhibition du radical DPPH<sup>+</sup> par les extraits de la poudre étudiée, est de 91.03 %,88.08 %,88.19 % pour l'EAB, de 79.67 %,69.39 %,77.92 % pour l'E. Methn et enfin de 48.85 % ,61.96 %,62.62 % pour l'E.Ethn à partir d'une solution mère de 100% des différents extraits d'où des dilutions de 50 % et 25% sont réalisées.




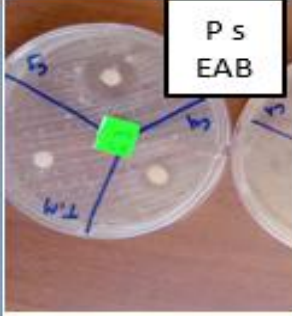
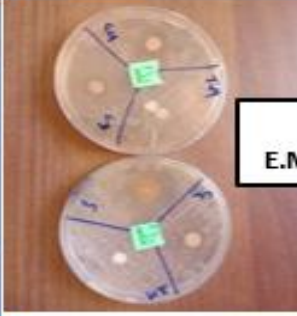
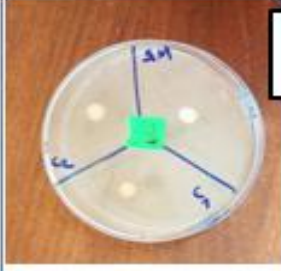
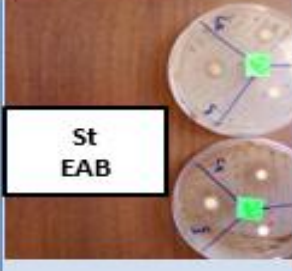
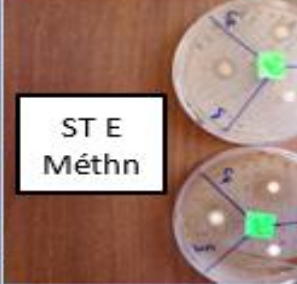

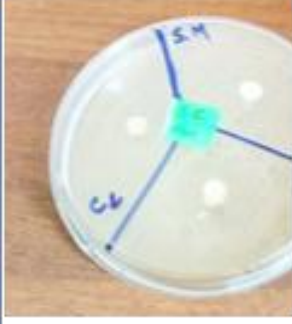

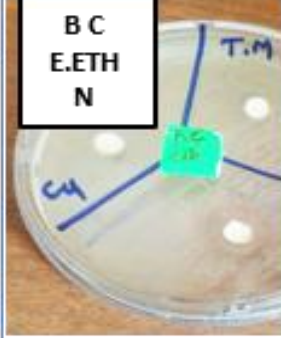
Les résultats de l'étude statistique obtenus indiquent l'existence d'une bonne inhibition du radical DPPH<sup>+</sup> pour les trois extraits, cependant, le meilleur reste l'E.A.B suivi par l'E.METH alors que l'E Ethn possède la capacité d'inhibition du radical DPPH<sup>+</sup> la moins fiable.

### **V. L'activité antibactérienne des extraits**

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis des souches testés, nous avons utilisé la méthode des disques. Après 24 heures d'incubation, les diamètres des zones d'inhibitions obtenus avec les différents extraits sont regroupés dans le tableau 11 et 12 En 2000, Samuelsen a classé la sensibilité des souches bactériennes aux extraits végétaux

V. Résultats des tests microbiologiques

Tableau11: Photographie des boîtes du test de l'activité antibactérienne

Les Souches testés	Extrait Aqueux brute	Extraits méthanoliques	Extraits éthanoliques
<i>E. coli</i>	 <p>EC E.A.B</p>	 <p>E.M</p>	 <p>EC E. Ethr</p>
<i>PS.aeruginosa</i>	 <p>P s EAB</p>	 <p>E.M</p>	 <p>E.M</p>
<i>ST. aureus</i>	 <p>St EAB</p>	 <p>ST E Méthn</p>	 <p>ST E</p>
<i>B. cereus</i>	 <p>B.C</p>	 <p>B.C</p>	 <p>BC E.ETH N</p>

### VI. 1. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits (EAB ,E.Méthn et E.Ethn) des clous de girofle vis-à-vis des souches bactériennes testées, nous avons utilisé la méthode des disques. Après 24 heures d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les différents extraits sont regroupés dans le tableau 12

Ils ont classé le diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne comme suit :

- Non sensible (-) :  $D \leq 8$  mm
- Sensible (+) :  $9 \leq D \leq 14$  mm
- Très sensible (++) :  $14 \leq D \leq 20$  mm
- Extrêmement sensible (+++) :  $20 < D$  mm

### VI.2. Pouvoir antibactérien d' extraits de *Syzygium aromaticum*

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés d'extraits et leurs différentes dilutions étudiées ont été mesurées.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 12

**Tableau12:** Degrés de sensibilités des souches testés vis-à-vis des extraits obtenus.

Degré de sensibilité Souches	Non sensible $D \leq 8$ mm			Sensible $8 \leq D \leq 14$ mm			Très sensible $14 \leq D \leq 20$ mm			Extrêmement sensible $D \geq 20$ mm		
	EAB	Methn	Ethn	EAB	Methn	Ethn	EAB	Methn	Ethn	EAB	Methn	Ethn
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	/	/	/	C2, C4	/	/	C1, C3	C4	/	/	C1, C2 C3	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	C4	SM	/	/	/	/	C3	C1, C2,		SM, C1 C2	C3, C4	/
<i>Escherichia coli</i>	C4	/	/	/	C1	/	/	/	/	/	/	/
<i>Bacillus cereus</i>	C3	SM	C3, C4	/	C2, C4		C1	/	/	/	/	/

**SM** : la solution mère = 100 mg/ml ; **D1** = 50 mg/ml ; **D2** = 25mg/ml ; **D3** =12.5 mg ;  
**D4**=6.25mg/ml.

Les résultats obtenus montrent que l'EAB et l'E.Methn de clou de girofle ont une activité antibactérienne bien marquée par rapport à E.Ethn, Cette dernière est due à leur richesse en polyphénols probablement due de leur diversité structurale (4). d'après les résultats la souche la plus sensible est *Staphylococcus aureus* G+ et *Bacillus cereus* G+ presque pour tous les extraits, Il est à signaler que les souches plus sensibles à EAB et l'extrait méthanolique qu'à l'extrait éthanolique, alors que les souches *E.coli* G-, *Pseudomonas aeruginosa* G-, sont la plus résistante. Ces résultats sont en accord avec la littérature selon lesquelles les bactéries à Gram+ montrent la plus grande sensibilité par rapport aux bactéries à Gram- (1) (2) (8) (12).

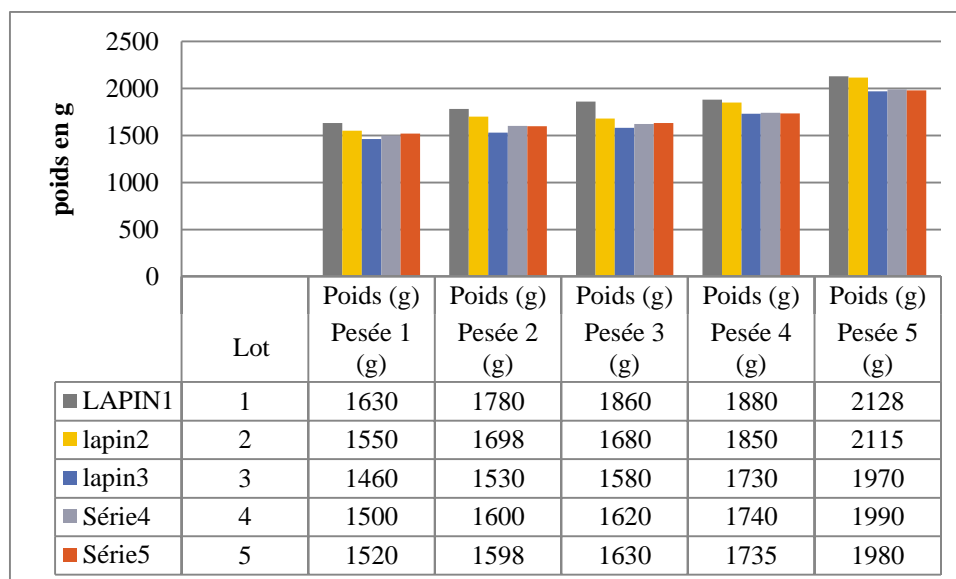
L'ensemble des résultats montrent qu'il y a toujours une relation entre la teneur en polyphénols totaux des extraits et leurs activités antibactériennes. En effet, l'extrait aqueux brut de clou de girofle par exemple présente la teneur la plus élevée en Composés phénoliques suivi par l'E.Ethn qui ont montré une activité importante.

Alors que l'extrait éthanolique de ***clou de girofle*** présente une teneur en PPT la plus faible et qui a une faible activité, (7) indiquent que l'eugénol a une activité antibactérienne élevée, de ce fait l'action antibactérienne de *Syzygium aromaticum* est importante. Le mode d'action de l'eugénol est expliqué par (11), le principal mécanisme d'action de l'eugénol est une rupture de la membrane cytoplasmique, qui augmente sa perméabilité non spécifique.

Les substances bioactives (polyphénols) se manifestent par un effet inhibiteur, du fait qu'ils n'agissent pas sur la paroi bactérienne par contre ils interviennent probablement sur un mécanisme interne. Il se peut, cependant, que les protéines, ADN et ARN soient synthétisés par les polyphénols des clous de girofle (14). Ils sont aussi, caractérisés par une capacité importante pour éliminer un nombre considérable de toxines, en plus des facteurs de virulence microbiens tels que l'inhibition de la formation de bio films, en plus de réduire l'adhésion aux ligands hôtes et d'éliminer les toxines bactériennes, de plus ils sont capables de former une synergie avec certains antibiotiques.

**VII. Résultats des différents paramètres avant et après induction**

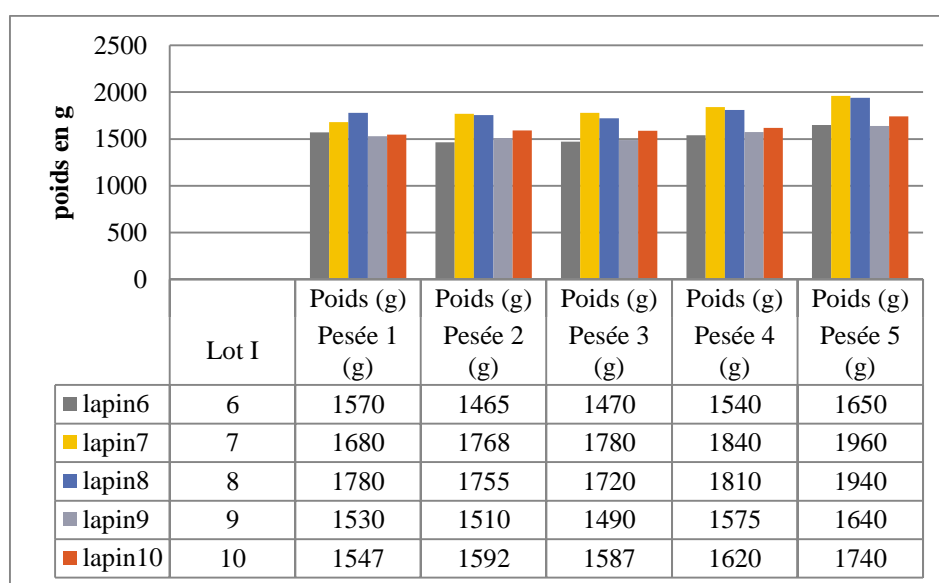
**VII.1. Variation du poids corporel de lot témoin durant 35 jours**



**Figure 40:** Variation du poids corporel de lot témoin durant 35 jours

D'après les résultats obtenus par la (**fig 40**) On remarque une augmentation Significative du poids corporel, Ainsi les animaux sur les quels notre étude a été menée ne présentent aucun trouble, ne sont ni diabétiques ni hypo ou hypercholestérolémiques, ni hypo ou hypertriglycerimiques. Il est fort possible que ces résultats sont influencés par la bonne conduite et le repos des animaux dans des conditions favorables.

**VII.2. Variation du poids corporel du lot MNT durant 35 jours**

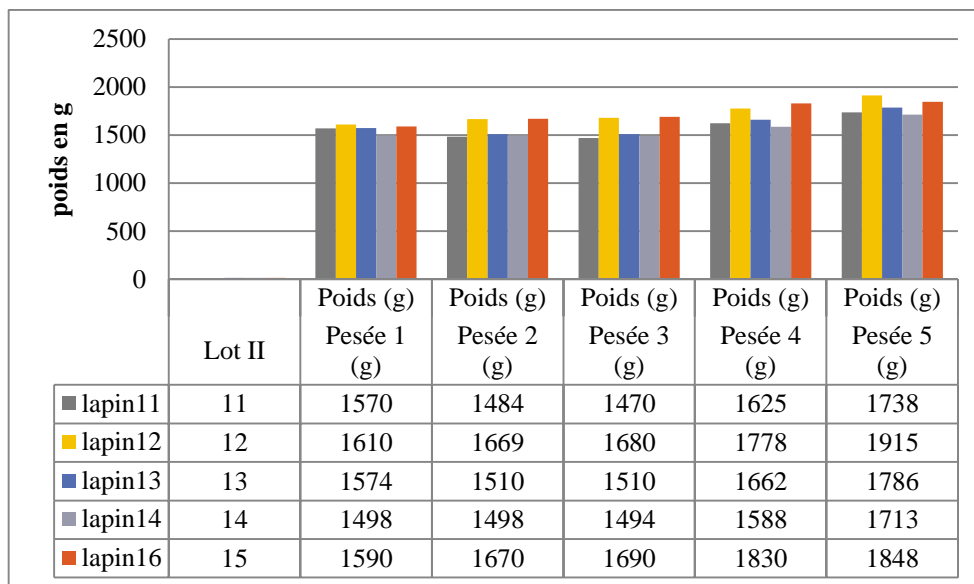


**Figure 41 :** Variation du poids corporel du lot malade non traité (MNT) durant 35 jours

Les résultats obtenus montrent une baisse significative du poids corporel après injection de

l'alloxane, puis il se stabilise, avant d'augmenter une deuxième fois ce qui peut être dû à l'adaptation des lapins aux nouvelles conditions.

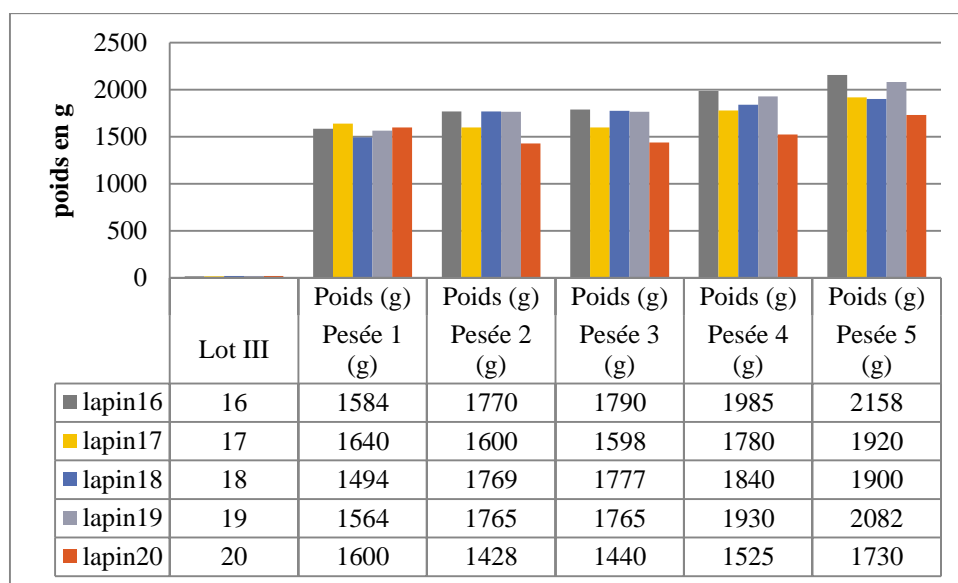
**VII.3. Variation du poids corporel durant 35 jours du lot traité par E.A.B**



**Figure 42 :** Variation du poids corporel du lot traité par E.A.B durant 35 jours

On remarque une diminution significative du poids corporel après injection de l'alloxane pour la plus part des lapins, puis il se stabilise, pour augmenter à la fin du traitement par EAB à des valeurs de 1738 g pour lapin11, 1915 g pour lapin13, 1786g pour lapin14, 1713g pour lapin15, 1848g pour lapin16,

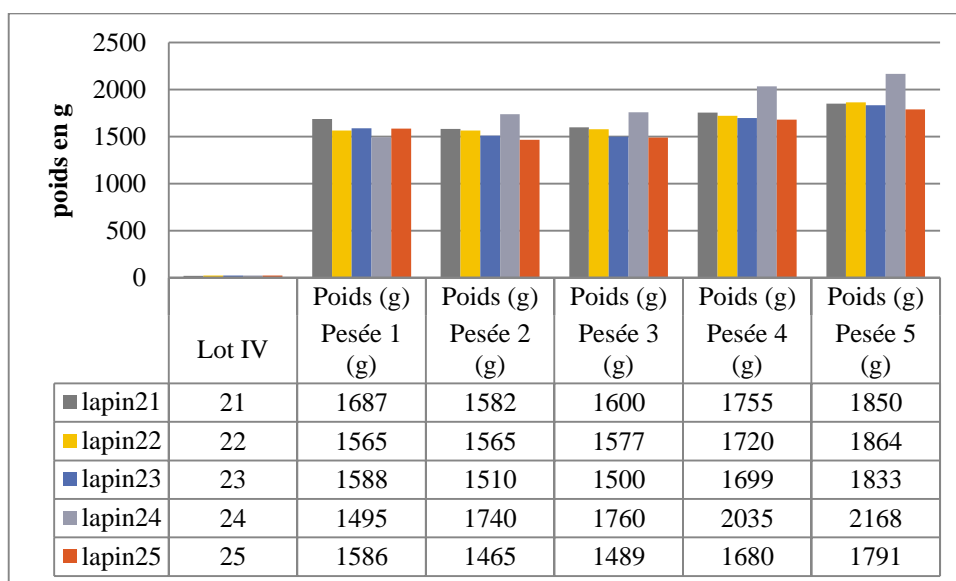
**VII.4. Variation du poids corporel du lot traité par E.Ethn durant 35 jour**



**Figure 43 :** Variation du poids corporel du lot traité par E.Ethn durant 35 jours

D'après les résultats obtenu on constate que le poids corporels des lapins mené une augmentation importante après le traitement des lapin par l'extrait éthanolique à des valeurs de 2158g pour lapin16,1920 g pour lapin17, 1900g pour lapin18, 2082g pour lapin19, 1730g pour lapin20.

**VII.5. Variation du poids corporel durant 35 jour du lot traité par E.Méthn**

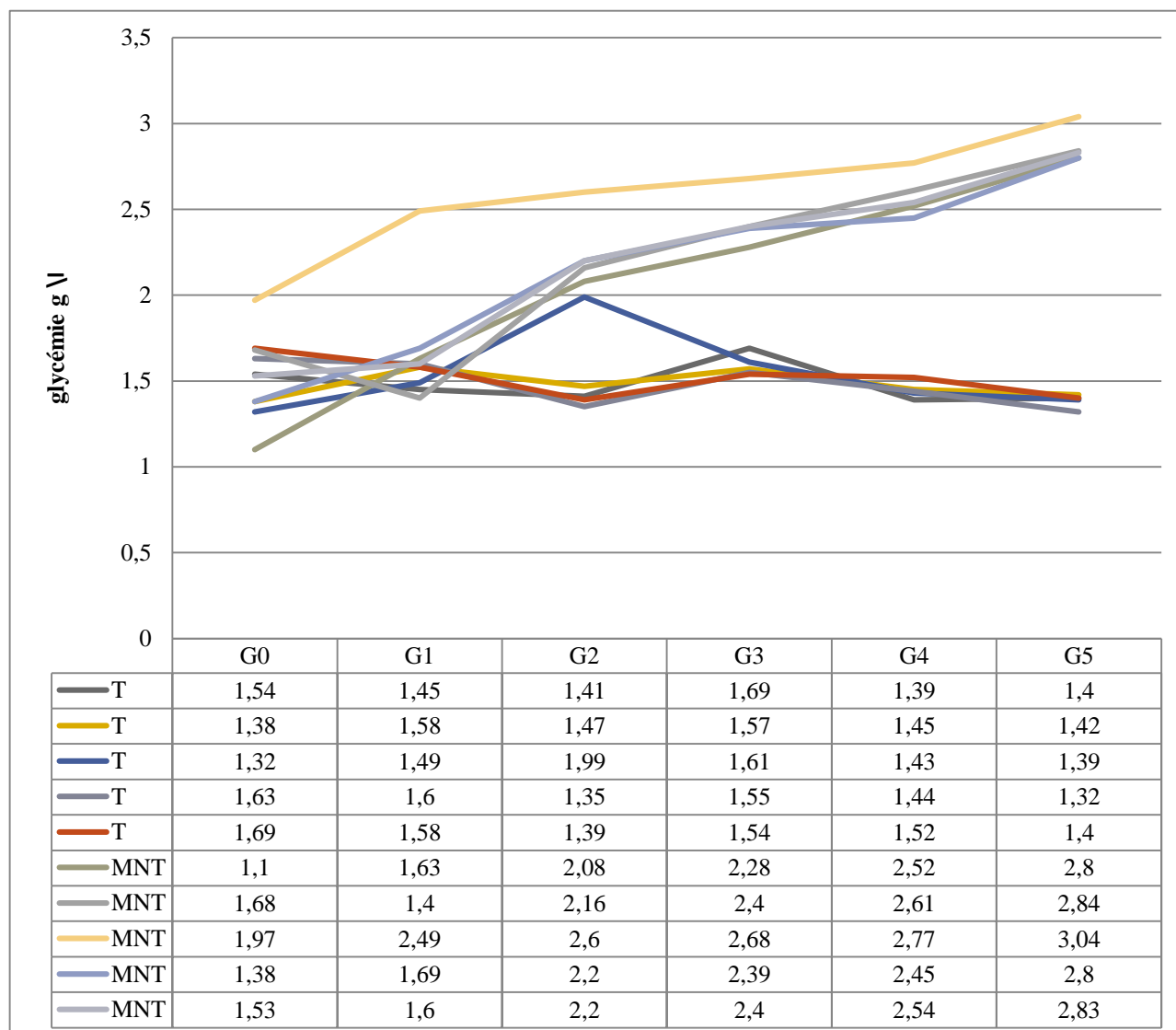


**Figure 44 :** Variation du poids corporel du lot traité par E.Méthn durant 35 jours

On remarque une diminution significative du poids corporel après injection de l'alloxane pour la plus par du lapin, puis il se stabilise et puis augmenté à la fin de traitement .E.Méthn à des valeurs de 1850 g pour lapin21,1864 g pour lapin22, 1833g pour lapin23, 2168g pour lapin24, 1161g pour lapin25,



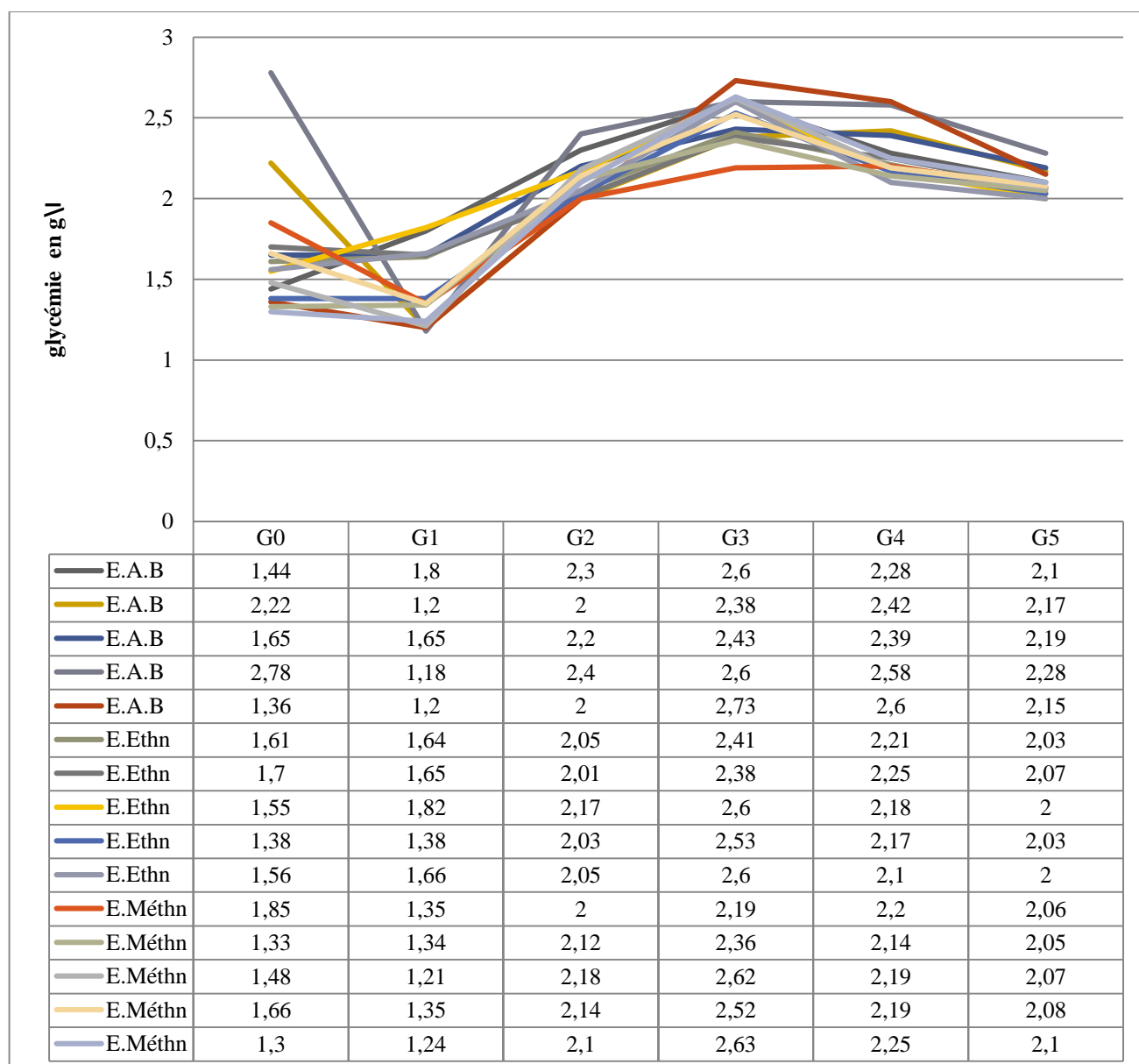
**VII.6. Comparaison de la glycémie de lot témoin et lot du MNT**



**Figure 45 :** Comparaison de taux de la glycémie du lot témoin et lot du MNT

D'après les résultats de mesure de glycémie, après l'induction du diabète par injection d'une substance diabétoène (l'alloxane), on constate qu'il y a une augmentation remarquable du taux de glucose sanguin du lapin du lot MNT par comparaison à celui du témoin normal (TM) qui reste toujours dans les normes usuelles.

VII.7. Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits (E.A.B ,E.Ethn,E.Méthn).

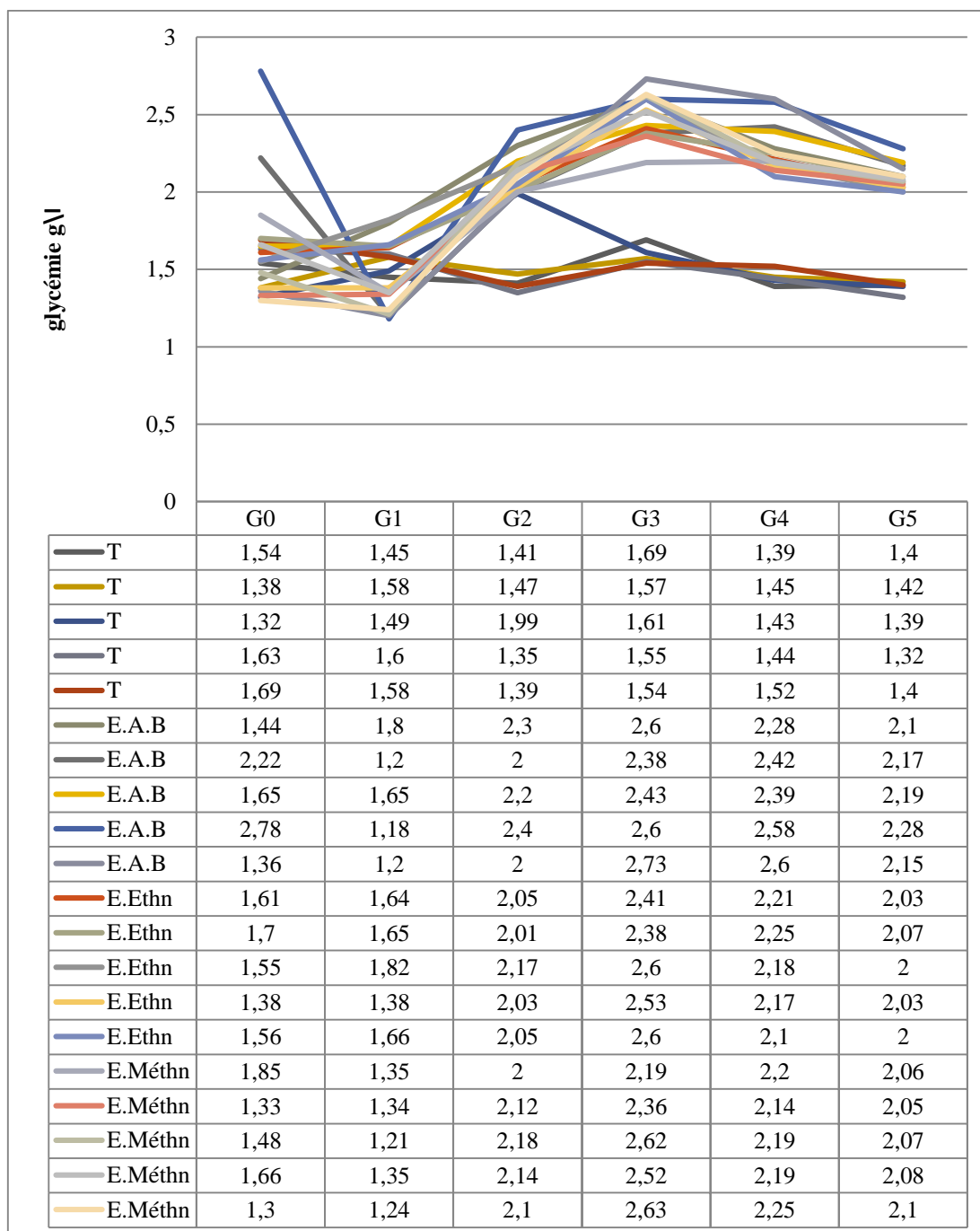


**Figure 46:** Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits

Avant induction de diabète par l'injection de la molécule diabétoène (l'alloxane), il ressort que tous les lapins ont un taux de glycémie normale par rapport aux normes usuelles, les lapins sur lesquels l'étude est menée ne sont pas diabétiques (ni hypo ni hyper glycémiques). Ces résultats sont obtenus par la bonne conduite de l'élevage des animaux dans des conditions favorables. Après induction par l'alloxane, on constate une augmentation significative des taux du glucose dans le sang pour tous les lapins de différents lots. Ce changement de valeurs de glycémie résulte des modifications morphologiques des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans de pancréas provoqué par l'alloxane. Après commencé le traitement du lapins par le gavage des

différents extraits du clou de girofle à partir de la troisième semaine il ressort de la courbe que le taux de glycémie réadapté et devient dans les normes usuelle et celle de témoin. on peut dire que l'EAB, E.Ethn et E.Méthn ont pu extraire une majorité des molécules bioactives hypoglycémiantes.

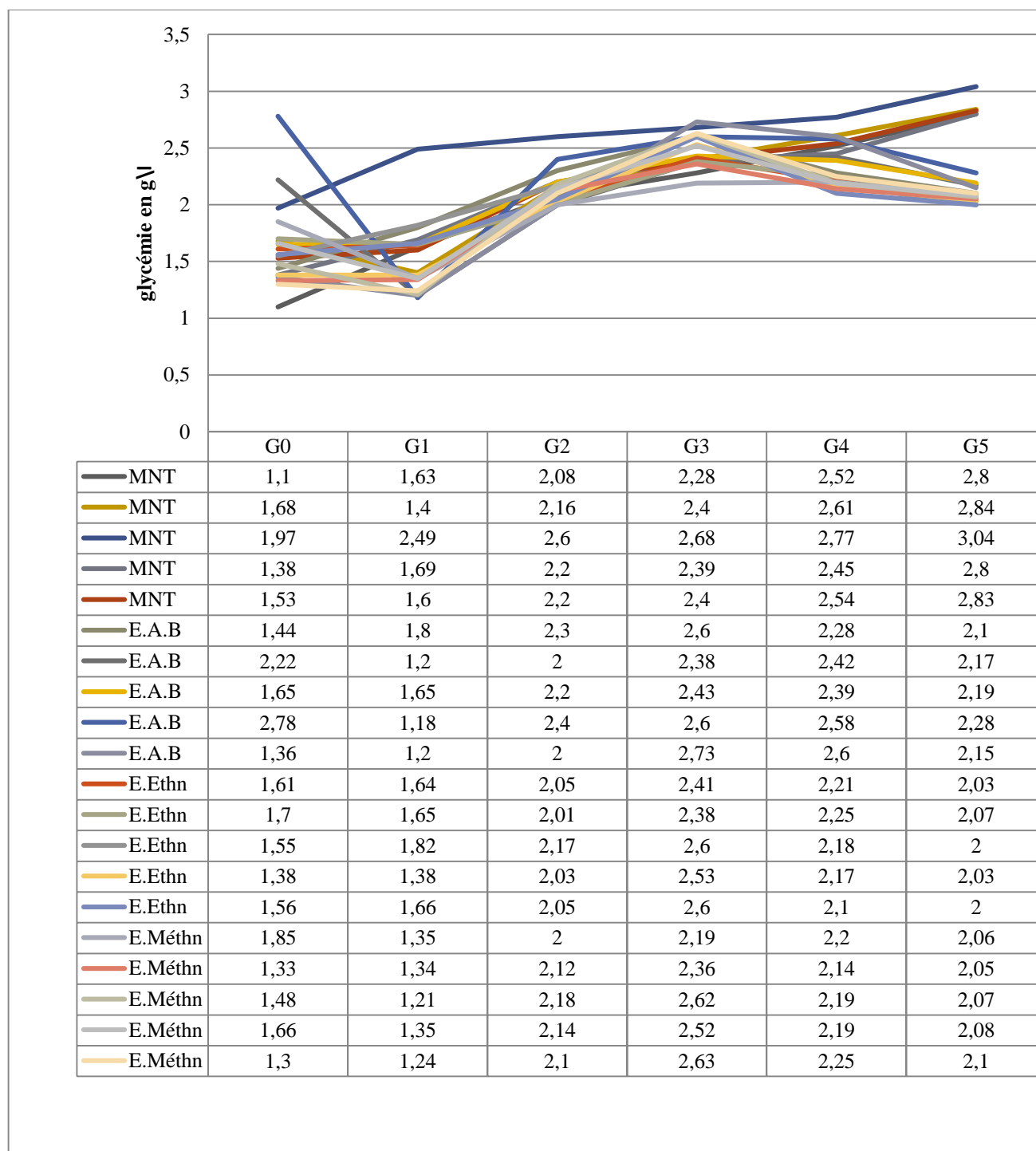
**VII.8. Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits et le lot témoin**



**Figure 47:** Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits et le lot témoin

D'après les résultats de (fig. 47) on constate que après induction de diabète il y a une augmentation sévère du taux de glycémie chez les lapins du lot traité par le lot témoin parce qu'ils sont devenus diabétiques. Cependant, lorsque commence le traitement, on observe une nette baisse du taux de glucose sanguin.

**VII.9. Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits et lot MNT**



**Figure 48 :** Comparaison de la glycémie des lots traités par différents extraits et le lot MNT

Les résultats de (**fig48**) montrent que la glycémie chez les MNT croit car il n'ont reçu ou qu'un traitement alors que les lots II, III et IV traités respectivement par E.A.B , E.Ethn et E.Methn Mettent en évidence une chute de la glycémie pour tous les lots .en peut dire ainsi que les substances bioactives en particulier les polyphénols et les flavonoïdes ont montré leur efficacité anti diabétique car les solvants utilisée ont pu extraire tous les principes actifs de la poudre du clou de girofle .

### VII.10. Différents paramètres biochimiques après abattage des lapins

**Tableau 13:** les paramètres biochimiques après abattage ou sacrifice des lapins (après 5 semaines traitement)

Lot T	Poids (g)	Glycémie (g/l) (SACRIFICE)	CHO L (g/l)	TG (g/l)	ALAT (UI/l)	ASAT (UI/l)	PAL (UI/l)	urée (g/l)	créatinine (mg/l)	électrolytes Na+ mEq/L
1	2130	1.44	0.18	1.70	58	61	8	0.2	6	140
2	2125	1.40	0.14	1.67	60	58	12	0.18	10	138
3	1960	1.39	1.01	1.77	72	69	9	0.15	9	141
4	1982	1.34	0.96	1.84	54	64	11	0.15	15	141
5	1973	1.42	0.77	1.45	51	59	10	0.17	11	139
<b>Lot 1</b>										
6	1668	2.01	0.97	1.86	56	91	6	0.25	22	147
7	1945	2.09	0.81	1.78	60	86	11	0.21	21	142
8	1927	2.04	0.80	1.75	67	79	9	0.18	18	140
9	1645	2.13	0.54	1.50	59	71	5	0.28	24	145
10	1740	2.15	0.79	1.63	51	72	12	0.16	19	143
<b>Lot 2</b>										
11	1736	2.14	0.88	1.84	62	59	7	0.24	12	146
12	1910	2.20	0.75	1.57	69	61	9	0.20	13	139
13	1793	2.19	0.69	1.51	57	49	6	0.15	9	140
14	1720	2.31	0.81	1.78	84	67	13	0.25	18	149
15	1830	2.18	0.74	1.60	75	65	10	0.27	13	147
<b>Lot 3</b>										
16	2140	2.09	0.68	1.62	65	58	6	0.18	13	139
17	1906	2.11	0.55	1.58	54	54	5	0.21	10	144
18	1912	2.05	0.72	1.75	69	68	8	0.25	16	141
19	2090	2.06	0.76	1.69	70	64	14	0.19	16	148
20	1720	1.98	0.62	1.58	63	59	12	0.14	13	144
<b>Lot 4</b>										
21	1863	2.06	0.59	1.49	55	61	11	0.18	9	139
22	1868	2.04	0.64	1.62	66	71	13	0.20	12	143
23	1831	2.07	0.61	1.55	61	62	8	0.26	10	140
24	2165	2.10	0.58	1.50	54	58	5	0.18	16	145
25	1792	2.12	0.70	1.64	71	63	9	0.25	12	144

Il ressort de ce tableau que la glycémie avant traitement augmente jusqu' au jour du gavage ou il est remarqué qu'il y a un début de baisse de taux du glucose, il en est de même pour le cholestérol et triglycéride. Alors que le poids corporel dans l'ensemble, on recense une augmentation. Cependant, pour les autres paramètres leurs valeurs restent dans les normes.

**(B)**

- (1) **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- (2) **Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

**(C)**

- (3) **Cacace JE et Mazza G. (2002).** Extraction à l'eau sulfurée des anthocyanines et d'autres composés phénoliques du cassis. Institut national de Technologie agricole. Canada pp1
- (4) **Cowan M. M.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; 12: 564-58

**(D)**

- (5) **dlimam A , Lamharrar A ,Kane C , Akkad S, Kouhila M.(2008).** Valorisation de trois plantes médicinales par séchage solaire convectif en couches minces. *Revue des Energies Renouvelables SMSTS'08 Alger* ,p 151 – 156.
- (6) **Doughari JH (2006).** Antimicrobial activity of Tamarindus Indica Linn. *Trop. J. Pharm. Res.* 5(2), 597-603.

**(G)**

- (7) **Ghedira K ,Goetz P ,Le Jeune R.(2010).** *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. Springer-Verlag France 2010,vol 8,p 37–43.
- GuenfissiL ,Laifaoui R.(2012) . etude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et acétoniques de *retamasphaerocarpa*, *retamaraetam* et *spartiumjunceum*. Mémoire du diplôme d'ingénieur d'état : Microbiologie , Université Abderrahmane Mira de Bejaïa.74p.

**(H)**

- (8) **Holley, R. A., & Patel, D. (2005).** Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22(4), 273-292.

**(L)**

- (9) **Lapornik B, Prošek M et Wondra AG. (2005).** Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering.* 71, 214-222

(M)

(10) **Mau JL, Tsai SY, Tseng YH et Huang SJ. (2005).** Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*, *Food Chem.* **93**, 641–649.

(P)

(11) **Pandima Devi K , Arif Nisha S. , Sakthivel R , Karutha Pandian S .(2010).** Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *Journal of Ethnopharmacology.* vol 130, p 107–115

(R)

(12) **Russell, A. (1991).** Mechanisms of bacterial resistance to non- antibiotics: Food additives and food and pharmaceutical preservatives. *Journal of Applied Bacteriology*, 71(3), 191-201.

(T)

(13) **Turkmen N, Sari F et Velioglu YS. (2006).** Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food Chemistry.* 99 (4), 835-841.

(U)

(14) **Ulanowska, K.; Majchrzyk, A.; Moskot, M.; Jankiewicz-Banecka, J.W.; Âgrzyn, M.**

Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*, 62, (2007) pp. 132-137.

# *Conclusion*





Actuellement, la phytothérapie ou médecine traditionnelle ou encore médecine parallèle a pris un énorme éventail qui continue à prendre de l'ampleur les années à venir, grâce à la richesse du tapis vert, de la planète terre, de plantes aromatiques et médicinales ayant des propriétés biologiques très intéressantes et prometteuses. En effet, elles trouvent de nombreuses applications dans divers domaines comme en médecine en tant que traitements préventifs ou curatifs, en pharmacie où les principes actifs sont la base de divers médicaments, en cosmétologie ou produits cosmétiques et en agriculture. Cet important intérêt est le fruit de plusieurs recherches menées sur les activités biologiques des plantes médicinales du couvert végétal qui nous offre une source inépuisable de substances bioactives qui sont la base de la formulation de phytomédicaments qui, généralement, n'ont pas d'effets secondaires ou sont moins représentatifs par rapport aux médicaments de synthèse

Notre présente étude porte sur les effets des substances bioactives des clous de girofle « *Syzygium aromaticum* » sur quelques paramètres biochimiques chez le lapin diabétique qui reste une épice plus utilisée par les thérapeutes traditionnels. A cet effet, il est utilisé une macération de 10g de poudre de clous de girofle dans 100 ml respectivement d'eau (E.A. B) d'éthanol (E.éthanolique) et de méthanol (E.Méthanolique) pour pouvoir réaliser un screening phytochimique dont les résultats de la caractérisation confirment la richesse en substances bioactives de cette plante et tout le bien qu'on pense d'elle.

Alors qu'il est mis en évidence toutes les valeurs aussi positives des divers dosages des polyphénols, flavonoïdes, activités antidiabétiques puisqu'il y a eu une baisse du taux de glucose sanguin pour les trois extraits. Tandis que les activités antioxydants et antibactériennes sont importantes respectivement pour les extraits E.A. B, E, Methn, et E.Ethn .

Cependant, pour les polyphénols et les flavonoïdes, l'importance en ces éléments chez les clous de girofle, leur dosage a donné respectivement E. A. B, E.Méthanolique,E. Ethanolique .

L'étude de l'activité antimicrobienne, de l'extrait de *Syzygium aromaticum*, s'est avérée très intéressante du fait que les résultats obtenus sont positifs sur les quatres souches testées. Cependant, en ce qui concerne le pouvoir antibactérien évalué par la méthode de diffusion de disque des différents extraits, les résultats montrent que la bactérie *Staphylococcus aureus* présente une sensibilité élevée vis-à-vis de l'extrait *Syzygium aromaticum* comparativement aux autres bactéries.

Suite à ces résultats qui semblent être bénéfiques, il serait souhaitable de réaliser une étude approfondie sur toutes les activités tout en analysant par HPLC-SM, la composition de cette épice très utilisée afin de déterminer avec fiabilité la structure des divers constituants grâce à la base de données de cet appareil.

Reprendre l'expérimentation avec un effectif plus grand afin d'avoir des résultats plus fiables.  
Réaliser une étude sur l'activité antimicrobienne, ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs des différents extraits afin d'identifier les molécules responsables des activités biologiques des clous de girofle.

# *Annexes*

Les souches bactériennes utilisés :



Photo de la bactérie du genre *Pseudomonas* observée sous microscope

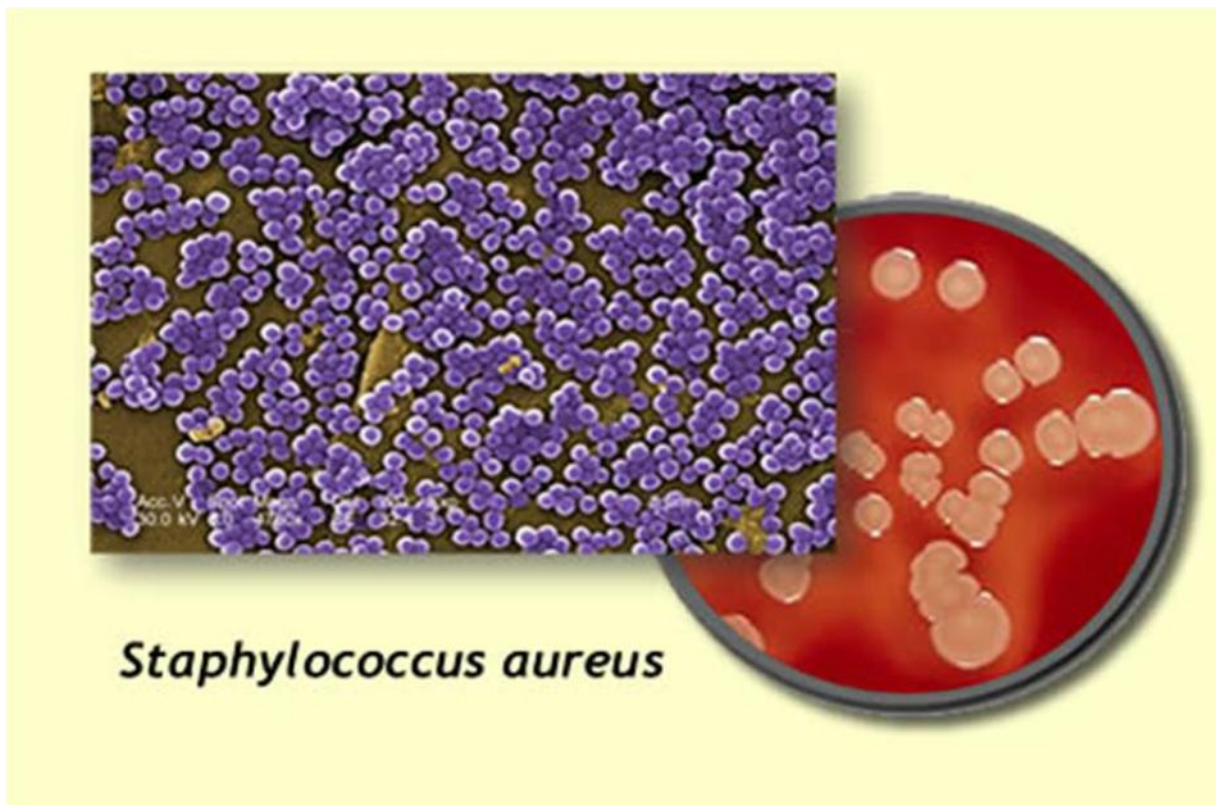
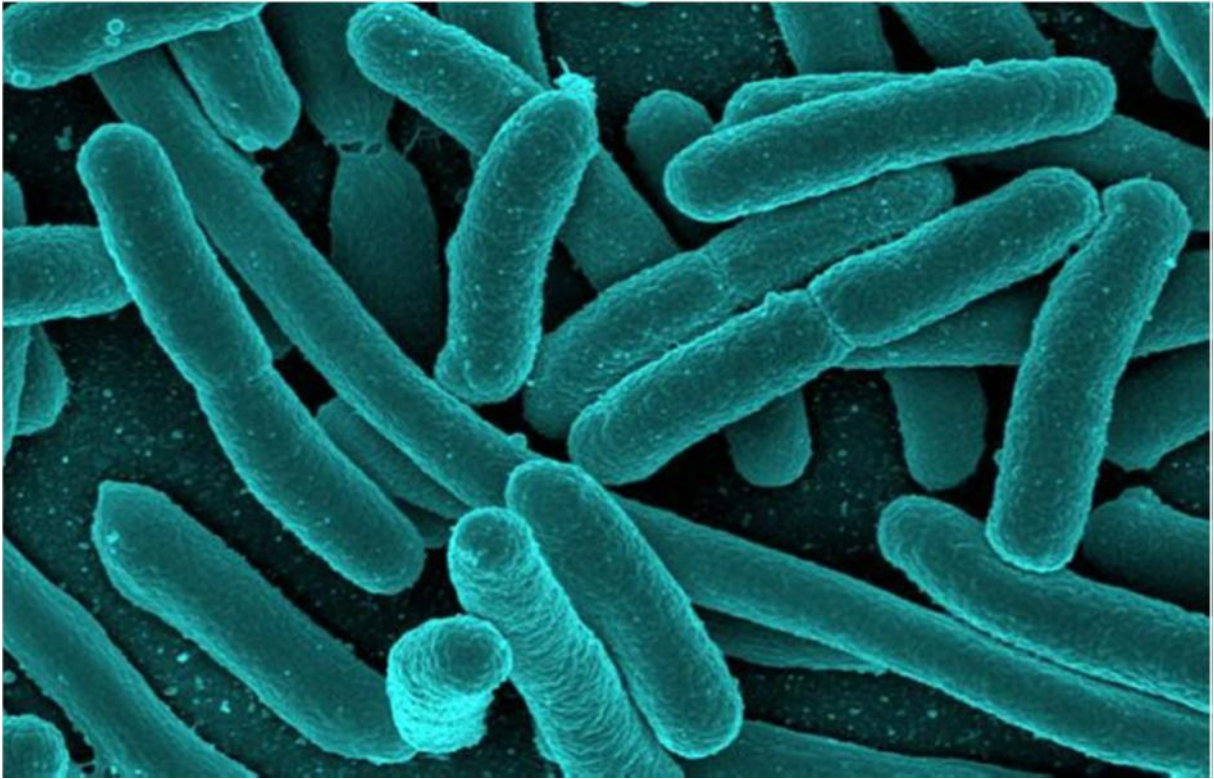


Photo de la bactérie *Staphylococcus aureus* observée sous microscope



**Photo de la bactérie *E.coli* observée sous microscope**



**Photo de la bactérie bacillus subtilus observée sous microscope.**

