

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 :

## Caractérisation et Propriétés Pharmacologiques de l'Orge (*Hordeum vulgare* L.)

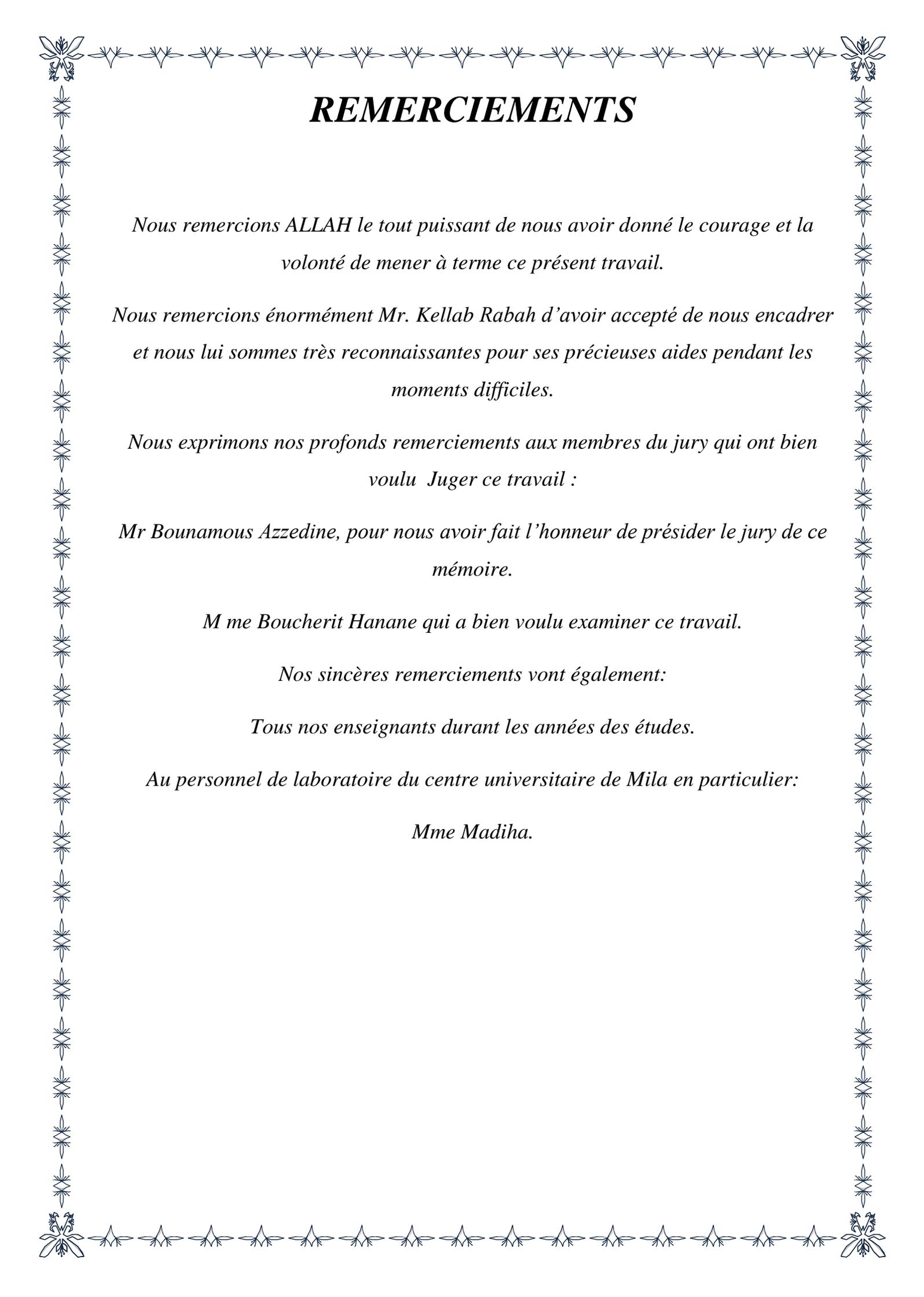
Présenté par :

- BOULEMZAOU D Nedjoua.
- OURZIFI Hassina.
- ZERGANE Houda.

Devant le jury composé de :

- |                               |                                  |
|-------------------------------|----------------------------------|
| - Président : BOUNAMOUS A.    | M.C.A –Centre Universitaire Mila |
| - Examinatrice : BOUCHERIT H. | M.A.A–Centre Universitaire Mila  |
| - Promoteur : KELLAB R.       | M.A.A –Centre Universitaire Mila |

Année Universitaire: 2018/2019



# **REMERCIEMENTS**

*Nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté de mener à terme ce présent travail.*

*Nous remercions énormément Mr. Kellab Rabah d'avoir accepté de nous encadrer et nous lui sommes très reconnaissantes pour ses précieuses aides pendant les moments difficiles.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres du jury qui ont bien voulu Juger ce travail :*

*Mr Bounamous Azzedine, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*

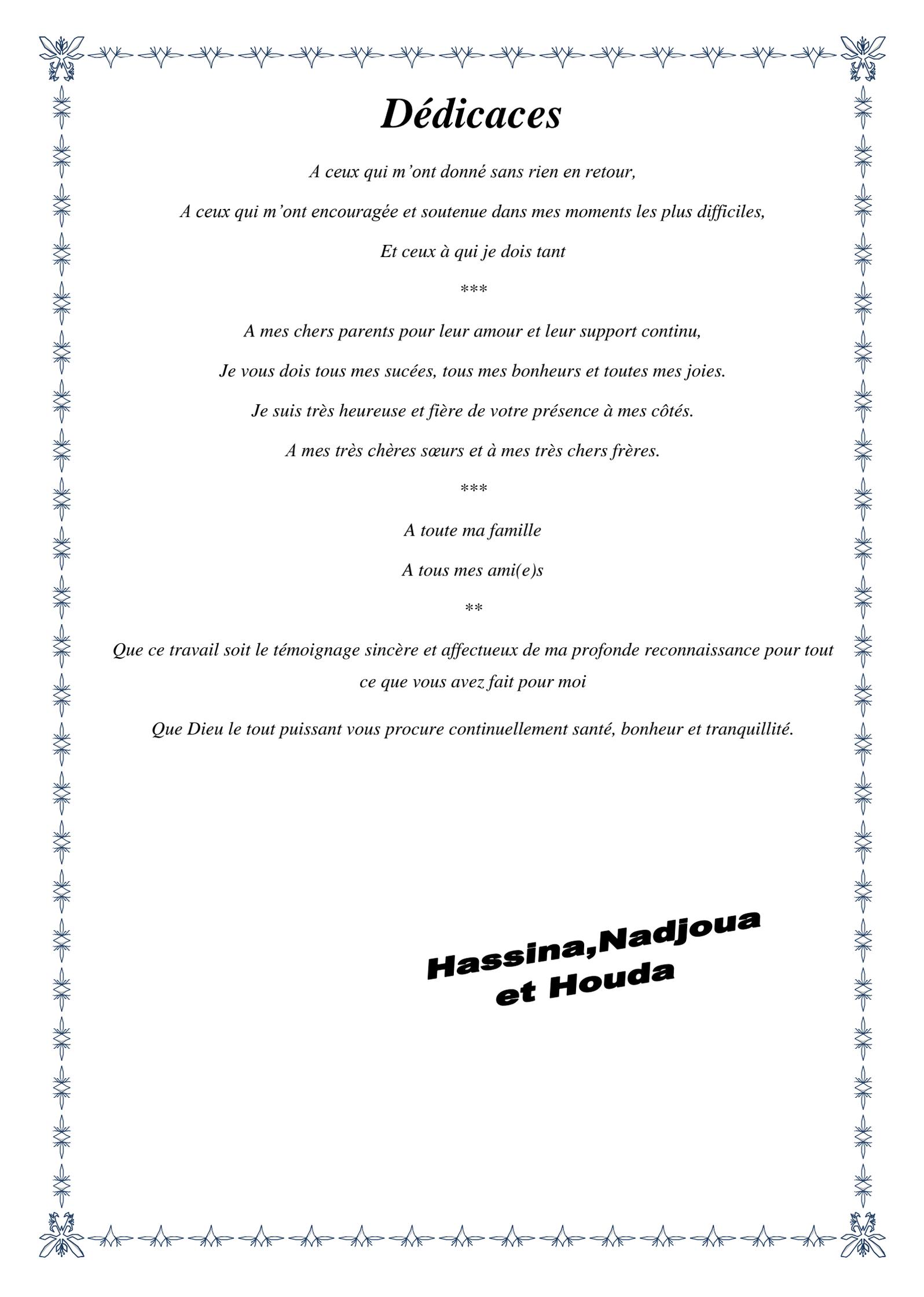
*M me Boucherit Hanane qui a bien voulu examiner ce travail.*

*Nos sincères remerciements vont également:*

*Tous nos enseignants durant les années des études.*

*Au personnel de laboratoire du centre universitaire de Mila en particulier:*

*Mme Madiha.*



# *Dédicaces*

*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 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.*

\*\*\*

*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.*

**Hassina, Nadjoua  
et Houda**

# **Résumé**

## RESUME

L'objectif de cette étude porte sur la caractérisation et les propriétés pharmacologiques des grains de l'orge (*hordeum vulgare l.*) sur quelques paramètres biochimiques.

Actuellement, la recherche scientifique, en particulier, pharmaceutique s'est penchée beaucoup plus sur la phytothérapie afin, d'enrichir ce domaine par la découverte des substances bioactives à caractère préventif et voir même curatif, pour diverses maladies. Ces principes actifs auront pour destinée la synthèse ou fabrication de nouveaux produits médicamenteux ou phytomédicaments pour lutter et guérir certaines maladies aiguës ou même chroniques.

Les troubles d'origine endocrinienne (diabète surtout), les maladies cardio-vasculaires, le cancer, les inflammations...sont des atteintes de premier degré, peuvent être soulagées et même guéries par les grains et l'herbe de l'Orge sont très riches en molécules bioactives.

A cet effet, l'analyse par CG-SM a montré que ces graines possèdent toutes les qualités thérapeutiques pour être utilisées comme phytomédicaments, afin de prévenir ou traiter ces maladies qui prennent de l'ampleur à travers le monde. Le dosage a montré qu'ils contiennent de l'acide linoléique, seul acide gras essentiel de la famille des oméga 6, grâce auquel, le corps peut produire tous les autres lipides de la famille des omégas 6, riche en oméga-3 à activité neuropharmacologique, l'acide palmitique, 2,5-Hexanedione, 3,4-dihydroxy-3,4 dimethyl-.....Ils jouent un rôle d'antinéoplasique, d'inhibiteur de l'apoptose, d'agent neuroprotecteur, d'agent vasodilatateur, d'inhibiteur de l'agrégation plaquettaire et de métabolite bactérien antidiabétique, les cancers et les lésions du foie.

Ainsi, l'étude phyto-chimique des différents extraits (aqueux, éthanolique, éthérique et méthanolique) des graines d'Orge ainsi que son herbe, employés comme traitement pour les maladies suscitées ont donné des résultats satisfaisants. Signalons enfin, que les substances actives testées, s'avèrent avoir des effets significatifs car elles entraînent une diminution d'autres paramètres biochimiques.

**Mots clés : Orge, cardio-vasculaire, diabète, inflammation, inhibiteur, foie**

## **ABSTRACT**

The objective of this study is the characterization and pharmacological properties of barley grains (*hordeum vulgare* L.) on some biochemical parameters.

Currently, scientific research, in particular, pharmaceutical has focused much more on herbal medicine to enrich this area by the discovery of bioactive substances preventive and even curative, for various diseases. These active ingredients will be intended for the synthesis or manufacture of new medicinal products or phytomedicines to fight and cure certain acute or even chronic diseases.

Disorders of endocrine origin (especially diabetes), cardiovascular diseases, cancer, inflammation ... are first degree, can be relieved and even cured by grains and barley grass are very rich in bioactive molecules.

For this purpose, GC-MS analysis has shown that these seeds have all the therapeutic qualities to be used as phytomedicines in order to prevent or treat these diseases that are gaining momentum around the world. The dosage showed that they contain linoleic acid, the only essential fatty acid in the omega 6 family, which allows the body to produce all the other lipids in the omega-3 family, which is rich in omega-3 activity. neuropharmacological, palmitic acid, 2,5-Hexanedione, 3,4-dihydroxy-3,4-dimethyl- ... ..

They act as antineoplastics, apoptosis inhibitors, neuroprotective agents, vasodilators, platelet aggregation inhibitors and antidiabetic bacterial metabolites, cancers and liver damage.

Thus, the phyto-chemical study of the various extracts (aqueous, ethanolic, etheric and methanolic) of barley seeds as well as its herb, used as a treatment for the diseases raised gave satisfactory results. Finally, let us point out that the active substances tested, prove to have significant effects because they cause a decrease in other biochemical parameters.

**Keywords:** Barley, cardiovascular, diabetes, inflammation, inhibitor

## الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الخصائص الصيدلانية لحبوب الشعير على بعض المعايير البيوكيميائية.

في الوقت الحالي، ركزت الأبحاث على وجه الخصوص على التداوي بالأعشاب بشكل كبير لإثراء هذا المجال من خلال اكتشاف المواد النشطة بيولوجيا والتي تستعمل لصنع منتجات طبية أو أدوية نباتية جديدة لمكافحة وعلاج بعض الأمراض الحادة أو حتى المزمنة

اضطرابات الغدة الصماء(خصوصا مرض السكري)، وأمراض القلب و الأوعية الدموية، و السرطان، و الالتهابات من الدرجة الأولى يمكن التخفيف منها وحتى معالجتها بالحبوب وعشب الشعير لإحتوائه على جزيئات نشطة بيولوجيا.

وقد أظهر تحليل CPG-SM أن هذه البذور تملك كل الصفات العلاجية لتستخدم كأدوية نباتية، للوقاية أو علاج هذه الأمراض الشائعة في أنحاء العالم من خلال المعايير حيث أثبتت هذه الأخيرة أن الشعير يحتوي على حمض اللينولييك، وهو الحمض الدهني الوحيد من عائلة أوميغا 6، من خلاله يسمح للجسم بإنتاج كل الأحماض الدهنية من عائلة أوميغا 6، غني أيضا بأوميغا 3 التي تعالج الأعصاب، و حمض النخيل، 2,5- هكسانديون، 3,4 ثنائي هيدروكسي، 3,4 ثنائي ميثيل..... و تلعب هذه الأحماض دور مضادات الأورام ، مثبط موت الخلايا المبرمج ، عامل الحماية العصبية ، موسع للأوعية ، مثبط لتراكم الصفائح الدموية ومستقلب بكتيريا مضاد لمرض السكر ، و السرطانات و آفات الكبد.

كما أن الدراسة الكيميائية النباتية للعديد من المستخلصات (مائي ، وإيثانولي ، وأثيري، وميثانولي) لبذور الشعير وكذلك عشبها أظهرت غناها بمواد فعالة استخدمت كعلاج للأمراض التي أثّرت قد أعطت نتائج مرضية كما لها تأثيرات كبيرة أخرى لأنها تسبب انخفاضاً في معايير البيوكيميائية الأخرى.

**الكلمات المفتاحية:** القلب، الاوعية الدموية، السكري، التهاب، مثبط، الكبد.

**Listes :**

**Des schémas**

**D'abréviation**

**Des unités**

**Des figures**

**Des tableaux**

<b>Numéro de Schéma</b>	<b>Titre de Schéma</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Schéma d'une chromatographie en phase gazeux.	<b>25</b>
<b>02</b>	Injecteur	<b>27</b>
<b>03</b>	Une coupe de colonnes remplie (à gauche) et capillaire (à droite).	<b>29</b>
<b>04</b>	Principe du chromatographe en phase gazeuse.	<b>31</b>

**ADA** : American diabète Association.

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**D.O** : Densité optique

**DID** : Diabète insulino-dépendant.

**DNID** : Diabète non insulino-dépendant.

**DT1** : Diabète de type 1

**DT2** : Diabète de type 2

**E. Ether** : Extrait éthérique

**E. Ethn** : Extrait éthanolique

**E.Méth** : Extrait méthanolique

**EAB** : Extrait aqueux brut

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

**GC-MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

**H**: Humidité

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

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**HCl** : L'acide chlorhydrique

**HE** : huiles essentielle

**KI** : Iodure de potassium

**KOH** : L'hydroxyde de potassium

**MF**: Matière fraîche

**MS** : Matière sèche

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**NH<sub>4</sub>OH** : Hydroxyde d'ammonium

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**ST**: Sucres totaux.

**TMP** : Tétraméthylpyrazine

**UV-VIS** : Ultra-violet-visible

**V**: Volume

**Liste des unités**

**%** : Pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**µg** : Microgramme

**µg/ml** : Microgramme par millilitre

**µL** : microlitre

**µm** : micromètre

**g** : Gramme

**H**: heure

**L** : litre.

**m** : Mètre

**mg** : Milligramme

**ml** : millilitre

**ml/min** : millilitre par minute

**mm** : Millimètre

**Mmol** : milli mol.

**mn** : minute

**nm** : Nanomètre

<b>Numéro de la figure</b>	<b>Titre de la Figure</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Infusion des grains d'Orge.	<b>6</b>
<b>02</b>	Différents types d'ingrédients utilisés en phytothérapie.	<b>7</b>
<b>03</b>	Jus de l'herbe verte de l'Orge.	<b>16</b>
<b>04</b>	Séchage de l' <i>Hordeum vulgare</i> L.	<b>20</b>
<b>05</b>	Hydro-distillateur (Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université Jijel).	<b>22</b>
<b>06</b>	Soxhlet C.U.MILA	<b>23</b>
<b>07</b>	Evaporateur rotatif. C.U.MILA.	<b>23</b>
<b>08</b>	Chromatographie en phase Gaz Faculté S.N.V.Univ. Jijel.	<b>24</b>
<b>09</b>	Gaz vecteur (hélium) de la CPG faculté S.N.V. Univ. Jijel.	<b>26</b>
<b>10</b>	Micro-seringue S.N.V. Jijel.	<b>27</b>
<b>11</b>	Injecteur S.N.V. Jijel.	<b>27</b>
<b>12</b>	Colonne remplie.	<b>28</b>
<b>13</b>	Colonne capillaire S.N.V .Jijel.	<b>28</b>
<b>14</b>	Colonne capillaire S.N.V Jijel.	<b>29</b>
<b>15</b>	Four de CPG S.N.V.Jijel.	<b>30</b>
<b>16</b>	Spectrométries de Masse S.N.V Jijel.	<b>32</b>
<b>17</b>	Chromatographie en phase gazeux couplé au spectrométrie de masse S.N.V Jijel.	<b>33</b>
<b>18</b>	L'ordinateur relié avec la CG / MS.	<b>34</b>
<b>19</b>	Logiciel installé sur l'ordinateur relier avec la CG / MS.	<b>34</b>
<b>20</b>	Organigramme du fractionnement de l'extrait brut aqueux.	<b>35</b>
<b>21</b>	Macération.	<b>37</b>
<b>22</b>	Filtration.	<b>37</b>

23	Préparation de solution mère de l'échantillon.	42
24	Préparation de gamme détalonnage.	42
25	Résultats de dosage.	43
26	Spectrophotomètre.	43
27	Résultat d'extraction des huiles essentielle par solvant et hydro-distillation.	45
28	Taux d'humidité et de matière sèche des grains d'Orge.	48
29	Gamme d'étalonnage du glucose	49
30	Chromatogramme de <i>Hordevum vulgare</i> L.	51
31	Pic de tétraméthyle pyrazine	52
32	Structure chimique du tetramethylpyrazine	53
33	Mécanismes putatifs sous-jacents aux effets protecteurs cardiovasculaires du TMP	54
34	Pic de l'Oxirane-2-carboxylic acid, ethyl ester	59
35	Formule générale du dérivé d'acide oxirane-2 carboxylique	59
36	Structure de l'acide N-hexadécanoïque ou acide palmitique	61
37	Pic de 9, 12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-ou acide linoléique.	62
38	Pic de 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2- methylpropyl). ester.	64
39	Pic de <b>Phenol, 4,4'-(1-méthyléthylidène)bis.</b>	65
40	Pic de 4-Isobutoxy-2-butanone	66
41	<b>Pic de</b> Propanoic acid, 2-methyl-, propyl ester.	67
42	<b>Pic de</b> 2, 5-Hexanedione, 3,4-dihydroxy-3,4-dimethyl-	68

<b>Numéro du Tableau</b>	<b>Titre du Tableau</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Quelques plantes antidiabétiques utilisées dans le monde.	<b>10</b>
<b>II</b>	Classification de l'Orge.	<b>11</b>
<b>III</b>	Composition biochimique de l'endosperme.	<b>12</b>
<b>IV</b>	Caractéristiques des différents indices de l'Orge.	<b>13</b>
<b>V</b>	Valeurs nutritionnelles pour une portion de 100g d'Orge cuite.	<b>16</b>
<b>VI</b>	Programme de température du four.	<b>34</b>
<b>VII</b>	Préparation de la solution mère de l'échantillon.	<b>41</b>
<b>VIII</b>	Résultats du dosage des sucres totaux.	<b>42</b>
<b>IX</b>	Tests phytochimiques réalisés sur la poudre des grains d'Orge ( <i>Hordeum vulgare</i> L.).	<b>46</b>
<b>X</b>	Résultats du dosage de la gamme d'étalonnage.	<b>48</b>
<b>XI</b>	Résultats du dosage des sucres totaux.	<b>49</b>
<b>XII</b>	Caractéristique des principaux composés des extraits de la farine des grains d'Orge identifiés par GC/SM.	<b>50</b>

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Résumé**

**Liste des schémas**

**Liste d'abréviation**

**Liste des unités**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction**

## *Sommaire*

### **Synthèse bibliographique**

#### **Chapitre I : Diabète sucré**

I.	Diabète sucré.....	3
I.1.	Définition.....	3
I.2.	Classification du diabète sucré .....	3
I.2.1.	Diabète de type 1 .....	3
I.2.2.	Diabète de type 2.....	3
I.3.	Physiopathologie .....	4
I.3.1.	Le diabète de type 1 .....	4
I.3.2.	Le diabète de type 2 .....	4
I.4.	Complications du diabète sucré .....	4
I.5.	Traitement de diabète sucré .....	5
I.5.1.	Traitement médicamenteux .....	5
I.5.2.	Traitement traditionnels : .....	5

#### **Chapitre II : Phytothérapie**

I.	Phytothérapie .....	6
I.1.	Historique .....	6

I.2.	Mode de préparation des plantes médicinales.....	7
II.	Les plantes antidiabétique.....	8
II.1.	Modes d'actions des plantes antidiabétiques.....	8
II.2.	Principes actifs à effets antidiabétiques.....	9

### **Chapitre III : L'Orge (*Hordeum vulgare* L.)**

I.	L'Orge ( <i>Hordeum vulgare</i> L.).....	11
I.1.	Aperçu général sur l'Orge.....	11
I.2.	Classification botanique.....	11
I.3.	Les constituants biochimiques de l'Orge.....	12
I.4.	Indice glycémique de l'orge.....	12
I.5.	Caractérisation pharmaceutique de l'Orge.....	13
I.6.	Effets des acides gras libres de l'orge sur le diabète.....	16

### **Partie expérimentale**

#### **Matériel et méthodes**

	Objectif scientifique.....	19
I.	Matériel et méthodes.....	19
I.1.	Matériel végétal et extraction.....	19
I.1.1.	Récolte de l'orge et traitement.....	19
I.1.2.	Extraction des huiles essentielles.....	20
I.1.2.1.	Extraction par solvant ou par macération.....	20
I.1.2.2.	Extraction par hydro-distillation.....	21
I.1.3.	Extraction par Soxhlet (préparation des extraits à doser par CG-SM).....	22
I.1.4.	Méthodes de dosage par CG-SM.....	24
I.1.4.1.	Chromatographie en phase Gaz.....	24
I.1.4.2.	Spectrométrie de masse.....	31
I.1.4.3.	Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométries de Masse (CG/MS).....	32

I.1.4.4. Préparation de l'extrait aqueux brut .....	35
II. Tests de caractérisation .....	36
II.1. Phytochimie qualitative .....	37
II.2. Phytochimie quantitative .....	40
II.2.1. Humidité.....	40
II.2.1.1. Principe .....	40
II.2.1.2. Mode opératoire .....	40
II.2.1.3. Expression des résultants .....	40
II.2.2. Sucres totaux .....	41
II.2.2.1. Extraction.....	41
II.2.2.2. Préparation de la gamme d'étalonnage.....	42
II.2.2.3. Dosage.....	43
II.2.2.4. Expression des résultats .....	44

### **Résultats et interprétations**

I. Extraction des huiles essentielles.....	45
II. Etude phytochimique .....	45
II.1. Tests qualitatifs .....	45
II.2. Tests quantitatifs .....	47
II.2.1. Le taux de l'humidité et de la matière sèche.....	47
II.2.2. Le taux des Sucres totaux.....	48
III. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC/MS).....	49
III.1. Identification des pics .....	52

### **Discussion générale**

### **Conclusion**

### **Annexes**

# **Introduction**

## **Introduction**

Depuis la nuit des temps, l'homme se sert de plantes et d'herbes pour se soigner ou soulager ses douleurs. Ainsi, la phytothérapie est considérée comme une thérapeutique alternative ou parallèle dans beaucoup de maladies aiguës et chroniques. A cet effet, ces plantes dites médicinales constituent une première source de médicaments jusqu'à présent et fournissent à l'humanité des remèdes thérapeutiques nouveaux et originaux. De ce fait, l'homme a longtemps eu recours à des remèdes traditionnels à base de plantes (tisanes, poudres, décoctions), administrés par inhalation, cataplasme, massage ou encore par voie orale.

L'intérêt de l'utilisation des plantes médicinales a aboutit à la caractérisation et à l'identification de molécules majeures et à l'isolement de composés chimiques actifs d'une importance thérapeutique incontestable. Depuis, l'intérêt de la phytothérapie ne cesse de croître et gagner un regain d'attention particulier à travers le monde.

Cependant, l'Algérie ne fait pas exception, du fait qu'elle possède un couvert végétal important de plantes, qui sont utilisées en médecine traditionnelle basée sur leur bienfait pour le traitement de nombreuses maladies, aussi aiguës que chroniques. De ce fait, leur popularité ne fait qu'augmenter ce qui argumente, ainsi, la continuation de la pratique de la phytothérapie, surtout lorsque certaines d'entre elles, leur activité pharmacologique est confirmée sur des modèles d'animaux, et ont également fait l'objet de plusieurs études cliniques.

Cependant, il faut signaler que les pratiques varient énormément d'une région à l'autre et même d'un pays à l'autre, suite à l'influence de certains facteurs connus comme la culture, l'histoire et les philosophies personnelles.

En Algérie, comme dans tous les pays du Maghreb et en voie de développement, le recours à la médecine traditionnelle est largement répandu et plusieurs traitements à base de plantes utilisés individuellement ou en combinaison sont recommandés pour soigner le diabète sucré, les inflammations, la toxicité, la cholestérolémie, la triglycémie, le goitre....

L'Orge, plante herbacée annuelle, est utilisée tant par l'homme pour prévenir ou guérir certaines maladies que par l'animal pour l'engraissement. En effet, il est recommandé de prendre les grains, la farine et l'herbe verte de cette plante sous différentes formes soit infusion, décoction, huiles essentielles, macération, poudre, sirop, pommade.

Les travaux bibliographiques effectués sur cette plante ont montré que l'Orge est l'une des plantes médicinales qui a donné ses fruits préventifs que curatifs. A cet effet, l'Orge est conseillée dans le traitement des maladies cardiovasculaires, cancer, diabète, reins, nerfs, yeux

La sélection de cette espèce fait suite à une enquête ethnobotanique réalisée par une équipe spécialisée dans la recherche des substances naturelles bioactives. Par ailleurs, les recherches de l'espèce restent insuffisamment étudiées, ainsi des questions restent posées comme:

- ✓ Est ce que l'usage de l'Orge comme remède dans le traitement des maladies cardiovasculaires, diabète, cancer est-il justifié ?
- ✓ Possède-t-elle des propriétés préventives ou curatives ?

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre modeste travail intitulé :

- ✓ Caractérisation et propriétés pharmacologiques de l'Orge (*Hordeumvulgare L.*)

Ainsi, l'objectif fixé est de:

- ✓ Réaliser un screening phytochimique des différents extraits des grains de la graminée.
- ✓ Dosage des extraits par CG-SM afin d'identifier les molécules bioactives à caractère curatif.
- ✓ Caractériser l'effet des principes actifs des extraits.

# **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I : Diabète sucré**

## I. Diabète sucré

### I.1. Définition

Le diabète est un désordre métabolique chronique caractérisé par une hyperglycémie à jeun  $\geq 1.26 \text{ g.L-1}$ , qui résulte d'un défaut de sécrétion et/ou d'action d'insuline (**Chaudhary et al., 2017**). L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (**Drouin et al., 1999**).

### I.2. Classification du diabète sucré

Comme un exemple de classification adaptée par l'OMS et l'ADA, est basée sur deux critères, les stades cliniques et l'étiologie du diabète sucré, nous distinguons ainsi le diabète de type 1, le diabète de type 2 et le diabète gestationnel (**ADA, 2014**).

Dans ce qui en suit, nous allons décrire les deux formes de diabète dites essentielles, le diabète de type 1 et le diabète de type 2.

#### I.2.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 (DT1) est représenté par 5-10% des diabétiques (ADA, 2014). Il touche les enfants et les adolescents. Le DT1 est une maladie issue d'une destruction autoimmune des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas (**Verge et al., 1998; Burton et al., 2007 ; Pietropaolo et al., 2012**).

#### I.2.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 (DT2) est plus fréquent, et compte pour 90-95 % des diabétiques. Il se caractérise par une insulino-résistance et souvent un déficit relatif de la sécrétion de l'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatique (**ADA, 2014**).

L'hyperglycémie détectée est la résultante de la diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques, notamment le muscle (**Shulman, 2000; Shulman et al., 1990**).

### I.3. Physiopathologie

#### I.3.1. Le diabète de type 1

Il provient d'une destruction des cellules  $\beta$  des îlots pancréatiques, productrices de l'insuline « l'administration d'insuline et le seul moyen de survivre à cette pathologies ». Cette destruction d'origine auto-immune. En effet, il a été observé que les cas de DID augmentent de manière significative après les épidémies virales. Dans les affections auto-immunes, le système immunitaire qui normalement protège l'individu en éliminant tout ce qui est « non soi », se retourne contre l'organisme lui même ne reconnaissent plus certaines de ses composantes comme appartenant au « soi ». ceci entraîne l'intervention de lymphocytes T qui détruisent les cellules non tolérées. Dans le cas du DID, un corps étranger (bactérie ou virus..) que l'organisme a reconnu comme « ennemi », peut posséder sur son enveloppe des protéines semblables à des protéines membranaires présentes à la surface des cellules  $\beta$ . Dans ces conditions, le système immunitaire élimine à la fois l'envahisseur et les cellules alors reconnues comme « infectées ». Une autre possibilité est que l'infection virale modifie la structure des anti-antigènes portés par les cellules pancréatiques : ces dernières n'étant plus reconnues sont tuées.

#### I.3.2. Le diabète de type 2

Les patients de DNID produisent de l'insuline mais en quantité insuffisante, et aboutissant ainsi à une hyperglycémie rapide. A cette anomalie de l'insulino-sécrétion, est associée une insulino-résistance des tissus périphériques dont la capacité à utiliser le glucose est amoindrie. En effet, des taux élevés de glucose circulant sont toxiques (glucotoxicité) et entraînant à la fois, une diminution de la fonction sécrétrice des cellules  $\beta$  et augmentation de la résistance à l'insuline. L'expression du phénotype DNID résulte d'une combinaison d'une prédisposition génétique et des facteurs environnementaux (**Borel et al., 1999**).

### I.4. Complications du diabète sucré

Les complications sont liées à une multitude de facteurs (environnement, disponibilité des moyens de traitement, profil des patients, parcours de soins, etc) (**Belhadj et al., 2016**). Ces complications qui procèdent de mécanismes complexes associant l'hyperglycémie, insulino-résistance, ...(**Schlienger, 2013**). On distingue deux types : Les complications métaboliques aiguës qui sont présentées par des accidents hypoglycémiques et trois complications hyperglycémiques du diabète : acidocétose diabétique, syndrome d'hyperglycémie hyperosmolaire (anciennement coma hyperosmolaire) et acidose lactique (**Orban et Ichai, 2008**). Les complications chroniques consistent en une altération de la structure et des fonctions

des micro-vaisseaux (microangiopathie), et des macro-vaisseaux (macroangiopathie). La microangiopathie est en cause dans la rétinopathie, la néphropathie et la neuropathie diabétiques. Tandis que la macroangiopathie est responsable d'accidents cardiovasculaires, vasculaires cérébraux et d'ischémie des membres inférieurs (**Baron, 2002**).

## **I.5. Traitement de diabète sucré**

### **I.5.1. Traitement médicamenteux**

L'insuline reste le moyen le plus efficace, et le plus disponible à fin d'obtenir une glycémie normale bien régulée pour le traitement du diabétique de type 1 (Kelley et al., 1990; Bailey, 1999).

Le DT2, peut être contrôlé dans les stades précoces de la maladie par un régime alimentaire et une activité physique, mais si la glycémie normale n'est pas atteinte, une prescription d'antidiabétiques oraux s'avère obligatoire (Koski, 2006).

Le traitement pharmacologique actuel de l'hyperglycémie du diabétique de type 2 repose sur :

- ❖ Une stimulation de la sécrétion d'insuline par des sulfamides hypoglycémiantes (sulfonylurées) ou des glinides.
- ❖ Une diminution de la production hépatique de glucose par les biguanides (metformine).
- ❖ Une augmentation de l'action de l'insuline (diminution de l'insulino résistance) par les glitazones (ou thiazolidinediones) ou metformine.
- ❖ Les inhibiteurs des alphaglucosidases, qui freinte l'absorption du glucose par l'intestin (Acarbose) ( **Inzucchi, 2002; Henquin, 2005; Thissen et Buyschaert, 2005; Tielmans et al., 2007**).

### **I.5.2. Traitement traditionnels :**

Au cours des dernières décennies, une attention particulière a ciblé l'utilisation des plantes médicinales. L'un des volets les plus dynamiques de la recherche actuelle est celui de l'évaluation des médicaments traditionnels à base de plantes dans le traitement et le contrôle du diabète conformément aux recommandations de l'OMS. De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme antidiabétiques (**Oubre et al., 1997; Grover et al., 2002**).

### -A-

**American Diabetes Association., 2014.** Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 37(Supplement 1): 81-90.

### -B-

**Bailey C.J., 1999.** Insulin resistance and antidiabetic drugs. *Biochemical pharmacology*, 58(10): 1511-1520.

**Baron A.D., 2002.** Insulin resistance and vascular function. *Journal of diabetes and its complications*, 16(1): 92-102.

**Belhadj M., Abrouk S., Nadir-Azirou D., Gari S. et Nicolucci A., 2016.** Une clinique mobile pour évaluer le risque cardio-métabolique et détecter les complications du diabète en Algérie. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10 (2): 175–181.

**Borel J.P., Marquart F., Grillery P. et Exposito M., 1999.** Biochimie pour le clinicien, mécanisme moléculaire et chimiques à l'origine des maladies . Ed Frison-Roche, 392 p

**Burton P.R., Clayton D.G., Cardon L.R., Craddock N., Deloukas P., Duncanson A. and Samani N.J., 2007.** Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*, 447(7145): 661-678.

### -C-

**Chaudhary V., Gupta S., Gupta P.D. and Prasad S., 2017.** Serum vitamin-D level among type 2 diabetes mellitus subjects in mullana, haryana. *International Education and Research Journal*, 3(2454-9916): 345-347.

### -D-

**Drouin P., Blickle J.F., Charbonnel B., Eschwege E., Guillausseau P.J., Plouin P.F., Daninos J.M., Balarac N. et Sauvanet J.P., 1999.** Diagnostic et classification du diabète sucré les nouveaux critères. *Diabète et Metabolism(Paris)*, 25(1): 72-83.

### -G-

**Grover J.K., Yadav S. and Vats V., 2002.** Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of ethnopharmacology*, 81(1): 81-100.

### -H-

**Henquin J.C., 2005.** Le traitement pharmacologique du diabète de type 2: Mode d'action des médicaments d'aujourd'hui et de demain. *Louvain médical*, 124(3): 39-46.

### -I-

**Inzucchi S.E., 2002.** Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: scientific review. *Jama*, 287(3): 360-372.

### -K-

**Kelley D.E., Reilly J.P., Veneman T. and Mandarino L., 1990.** Effects of insulin on skeletal muscle glucose storage, oxidation and glycolysis in humans. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 258(6): 923-929.

**Koski R.R., 2006.** Practical review of oral antihyperglycemic agents for type 2 diabetes mellitus. *The Diabetes Educator*, 32(6): 869-876.

### -O-

**Orban J.C. et Ichai C., 2008.** Complications métaboliques aiguës du diabète. *Réanimation*, 17(8): 761-767.

**Oubre A.Y., Carlson T.J., King S.R. and Reaven G.M., 1997.** From plant to patient: an ethnomedical approach to the identification of new drugs for the treatment of NIDDM. *Diabetologia*, 40(5): 614-617.

### -P-

**Pietro Paolo M., Towns R. and Eisenbarth G.S., 2012.** Humoral autoimmunity in type 1 diabetes: prediction, significance, and detection of distinct disease subtypes. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(10): 1-18.

### -S-

**Schlienger J.L., 2013.** Complications du diabète de type 2. *La Presse Médicale*, 42(5) : 839-848.

**Schulman G. I., Rothman D.L. and Schulman R.G., 1990.** <sup>13</sup>C NMR studies of glucose disposal in normal and non-insulin-dependent diabetic humans. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A: Physical and Engineering Sciences*, 333(1632): 525-529.

**Shulman G.I., 2000.** Cellular mechanisms of insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*, 106(2): 171-176.

### -T-

**Thissen J. P. et Buysschaert M., 2005.** Actualités dans le traitement poly-médicamenteux du diabète sucré de type 2. *Louvain médical*, 124(1) : 5-13.

**Tielmans A., Laloi-Michelin M., Coupaye M., Virally M., Meas T. et Guillausseau P.J., 2007.** Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (première partie). *La Presse Médicale*, 36(2) : 269-278.

### -V-

**Verge C.F., Stenger D., Bonifacio E., Colman P.G., Pilcher C., Bingley P.J. and Eisenbarth G., 1998.** Combined use of autoantibodies (Ia-2 autoantibody, gad autoantibody, insulin autoantibody, cytoplasmic islet cell antibodies) in type 1 diabetes: combinatorial islet autoantibody workshop. *Diabetes*, 47(12): 1857-1866.

# **Chapitre II :**

# **Phytothérapie**

## I. Phytothérapie

### I.1. Historique

La phytothérapie est l'un des éléments constitutifs des médecines traditionnelles et ancestrales. Elle puise, notamment, ses origines dans les pharmacopées chinoise et indienne. L'usage des plantes pour soigner des maladies est également mentionné dans des textes sumériens datant du III<sup>e</sup> millénaire av. J-C.

Elle est, cependant, la plus ancienne des médecines employées par l'homme et même les animaux utilisent instinctivement les plantes pour se soigner (**Anonyme 01**).

C'est une médecine par les plantes, dont l'usage à des fins thérapeutiques, en partie ou entière, sous plusieurs formes en inhalation, décoction, infusion, macération, teinture mère, poudre totale, gargarisme et extrait standardisé de plante grâce à divers moyens d'extraction (**Anonyme 02**).



**Figure 01:** Infusion des grains d'Orge (**Anonyme 03**).



**Figure 02** : Différents types d'ingrédients utilisés en phytothérapie (anonyme 04).

En effet, à partir du 19<sup>ème</sup> siècle, les scientifiques ont identifié les substances actives dont le principe actif possède les propriétés recherchées et les ont isolées pour obtenir les médicaments chimiques ou phyto-médicaments, de plus en plus actifs qui répondent aux attentes des patients, des médecins et des pharmaciens.

Outre leur action, aujourd'hui, largement démontrée, les plantes offrent l'immense avantage d'agir en douceur, avec un minimum d'effets négatifs ce qui confère à la phytothérapie une place privilégiée dans le traitement de nombreuses affections courantes (Cieur Tranquard, 2011).

La phytothérapie utilise la plante entière ou les racines, les graines, les feuilles ou les fruits grâce à divers moyens d'extraction. A cet effet, elles peuvent être prises sous différentes formes (Gagnon, 2010; Anonyme 02).

## **I.2. Mode de préparation des plantes médicinales.**

Afin de faciliter l'administration de la drogue, plusieurs modes de préparation sont employés :

- Infusion où l'eau bouillante est versée sur la plante, puis laisser reposer pendant 3 à 10 minutes.
- Macération, dans ce cas la plante est maintenue dans de l'eau froide durant quelques heures à quelques jours, en fonction du type de plante.
- Décoction, la plante est bouillie pendant 5 à 10 minutes, puis refroidir et filtrer.
- Teinture mère résulte de la macération de la plante séchée dans de l'alcool à 40°, 60° ou 80°.
- Poudre totale produite par broyage de la plante séchée, ainsi, la poudre obtenue est généralement mise en gélules.

➤ Extrait standardisé de plante, concentré obtenu par évaporation d'un macérât préparé à partir de la plante (l'extrait est comparable au café soluble). Cette méthode permet d'extraire l'essentiel des composants utiles et de toujours maîtriser la teneur en actifs; on parle de la standardisation d'un extrait.

Il faut signaler, cependant, que la phytothérapie repose sur l'utilisation de plantes médicinales, en partie ou entière, à des fins thérapeutiques, ainsi, en médecine classique, les fabricants pharmaceutiques extraient le principe actif des plantes pour en faire des médicaments **(Durrafourd et al.,1999)**.

Alors que la médecine moderne est substitutive, c'est-à-dire que les médicaments classiques régularisent les fonctions de l'organisme et le soulagent du besoin de s'auto-guérir **(Duraffourd et Lapraz, 2005)**.

Au contraire, en phytothérapie, les plantes sont également employées comme des médicaments pour réguler les fonctions du corps, mais elles aident aussi le corps humain à se soigner **(Gagnon, 2010)**.

De ce fait les phytothérapeutes, stipulent qu'une maladie est la conséquence d'un déséquilibre interne à l'organisme et que la phytothérapie s'attache à analyser, hormonal, immunitaire, système de drainage, pour les entre tenir ses systèmes constitutifs a savoir les systèmes neuroendocrinien (rôle de régulateur dans le cas du besoin à l'aide des plantes **(Anonyme 05; Anonyme 06)**).

A cet effet, l'étude ethnobotanique des plantes utilisées comme antidiabétiques a suscité un grand intérêt, dont le nombre des travaux publiés dans les revues spécialisées le montre bien **(Calleja, 1990; Bnouham et al., 2006)**.

## II. Les plantes antidiabétique

### II.1. Modes d'actions des plantes antidiabétiques

Les plantes médicinales ou leurs extraits utilisés dans le traitement du diabète peuvent agir par divers mécanismes à savoir :

- En agissant directement sur les cellules  $\beta$  de la partie endocrine du pancréas afin de Synthétiser l'insuline et /ou induisent encore leur régénération.
- En stimulant l'action de l'insuline.

- Activer l'apport d'éléments de première nécessité (Cu<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup>) au bon fonctionnement de ces cellules β (**Esmaeili et Yazdanparast, 2004; Mukherjee et al., 2006**).
- Agir sur les enzymes hépatiques afin de provoquer la glycogénogenèse et /ou inhiber la glycogénolyse (**El-Abhar et Schaalán, 2014**).
- Modifier l'expression des gènes ainsi que l'activité des hormones impliquées dans la digestion (**Rios et al., 2015**).
- Inhiber la réabsorption rénale du glucose.
- Inhibition des enzymes telles que la β-galactosidase, l'α-glucosidase et l'α- amylase.
- Prévenir le stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules β.
- Diminuer les activités du cortisol (**Jarald et al., 2008; Kashikar et Kotkar, 2011; Singh et al., 2012**).

## II.2. Principes actifs à effets antidiabétiques

La plupart des espèces végétales possèdent des vertus thérapeutiques grâce à leurs principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. Elles sont utilisées aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie leurs avantages ne s'y trouvent pas dans les médicaments (**Ticli, 1997**).

Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires, dont plus de 200 présentent une activité hypoglycémiant (**Marles et Farnsworth, 1995; Lamba et al., 2000; Sanjay, 2002**).

Ainsi un certains nombres de groupes, tels que des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes, des glycosides, des polysaccharides, des peptidoglycanes, acides aminés et d'autres obtenus à partir de diverses sources végétales, semblent avoir des effets, d'une importance particulière, dans le traitement du diabète (**Mukherjee et al., 2006; Soumyanath, 2006**).

Le tableau I présente quelques plantes antidiabétiques utilisées dans le monde.

**Tableau I:** Quelques plantes antidiabétiques utilisées dans le monde (**Hamza, 2011**).

Plantes	Familles	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Mode de préparation et voie d'administration
<i>Trigonella foenumgraecum</i> L.	<i>Fabaceae</i>	Elhalba	plante entière	Infusion
<i>Ajuga iva</i> (L.) Schreb.	<i>Lamiaceae</i>	Chandgoura	Feuille	Infusion
<i>Juniperus communis</i> L.	<i>Cupressaceae</i>	Elaraar	feuille plante entière	infusion
<i>Myrtus communis</i> L.	<i>Myrtaceae</i>	Rehan	feuille plante entière	Infusion
<i>Punica granatum</i> L.	<i>Lythraceae</i>	kchour eroumane	péricarpe du fruit	Infusion, Macération
<i>Hordeum vulgare</i> L.	<i>Poaceae</i>	Chair	Graine	Infusion

**-B-**

**Bnouham M., Ziyat A., Mekhfi H., Tahri A. and Legssyer A., 2006.** Medicinal plants with potential antidiabetic activity-A review of ten years of herbal medicine research (1990-2000). *International Journal of Diabetes and Metabolism*, 14: 1-25.

**-C-**

**Calleja suarez J.M., 1990.** Les méthodes pharmacologiques d'évaluation des propriétés antidiabétiques de substances naturelles. Actes du 1er colloque Européen d'Ethnopharmacologie:22-25.

**Cieur Tranquard C., 2011.** La pharmacie familiale au naturel. EdiSud. 159 p.

**-D-**

**Duraffourd C. et Lapraz J.C., 2005.** Traité de phytothérapie clinique. Éd. Masson . 827 p.

**Duraffourd C., Lapraz J.C., Valnet J., 1999.** ABC de la phytothérapie dans les maladies infectieuses. France loisirs. Éd. 383 p.

**-E-**

**El-Abhar H.S. and Schaaln M.F., 2014.** Phytotherapy in diabetes: Review on potential mechanistic perspectives. *World journal of diabetes*, 5(2): 176-197.

**Esmaeili M.A. and Yazdanparast R., 2004.** Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(1): 27-30.

**-G-**

**Gagnon A.C., 2010.** Le guide des plantes qui soignent : la phytothérapie à l'épreuve de la science. Vidal. 465 p.

**-H-**

**Hamza N., 2011.** Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime «high fat» chez la souris .thèse de doctorat..Univ de Constantine 37-41 p.

**-J-**

**Jarald E., Joshi S.B. and Jain D.C., 2008.** Diabetes Vs herbal medicines. *Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics*, 7(1): 97-106.

**-K-**

**Kashikar V.S. and Kotkar T.T., 2011.** Indigenous remedies for diabetes mellitus. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3): 22-29.

**-L-**

**Lamba S.S., Buch K.Y., Lewis H. And Lamba H.J., 2000.** Phytochemicals as potential hypoglycemic agents. *Studies in Natural Products Chemistry*, 21: 457-496.

**-M-**

**Marles R.J. and Farnsworth N.R., 1995.** Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2(2): 137-189.

**Mukherjee P.K., Maiti K., Mukherjee K. and Houghton P.J., 2006.** Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *Journal of Ethnopharmacology*, 106(1): 1-28.

**Mukherjee P.K., Maiti K., Mukherjee K. and Houghton P.J., 2006.** Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *Journal of Ethnopharmacology*, 106(1): 1-28.

**-R-**

**Rios J.L., Francini F. and Schinella G.R., 2015.** Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Planta medica*, 81(12/13): 975-994.

**-S-**

**Sanjay M.J., 2002.** Herbal Drugs as Antidiabetics: An overview. CRIPS, 13: 9-13.

**Singh U., Singh S. and Kochhar A., 2012.** Therapeutic potential of antidiabetic nutraceuticals. *Phytopharmacol*, 2(1): 144-169.

**Soumyanath A., 2006.** Traditional Herbal Medicines for Modern Times: Antidiabetic plants. CRC Press (Taylor Francis Group), 6: 19-82.

**-T-**

**Ticli B., 1997.** L'herbier de santé. 1<sup>é</sup>dition. Paris. Edition VECCHI SAO, 01. 2006.

**Site internet:**

**Anonyme 01:** <http://www-IPI>, l'Institut de phytothérapie international. Consulté le 24.06.2019

**Anonyme 02 :** <http://www-Société française d'ethnopharmacologie>, une association pour l'étude et la connaissance des plantes médicinales utilisées comme médicaments. Consulté le 24.06.2019.

**Anonyme 03 :** [http://www.nikkenwellbeing.fr/info/Geraldine Paradis](http://www.nikkenwellbeing.fr/info/Geraldine%20Paradis)  
Consulté le 15 ju.in 2019.

**Anonyme 04 :** [www. naturolistic.om](http://www.naturolistic.com) Consulté le 15 juin 2019

**Anonyme 05 :** <http://www.Phyto 2000>, l'Association des usagers de la phytothérapie clinique. Consulté le 24.06.2019.

**Anonyme 06 :** <http://www-SIMEPI>, Société internationale de médecine endobiogénique et de physiologie intégrative.consulté le 24.06.2019.

# **Chapitre III : L'Orge**

## **(Hordeum vulgare L.)**

## I. L'Orge (*Hordeum vulgare* L.)

### I.1. Aperçu général sur l'Orge

L'Orge (*Hordeum vulgare* L.) est une céréale herbacée annuelle de la famille des *poacées* (Graminées) est une espèce diploïde avec  $2n = 2x = 14$  chromosomes, se classant au quatrième rang des céréales après blé, riz et maïs (Schulte et al., 2009 ; Triki et al., 2016). Son origine est le croissant fertile du Proche-Orient. (Zohary et al., 2012).

Cette espèce est la plus riche en métabolites secondaires reconnus à activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-carcinogènes ou encore des acides gras et les  $\beta$  glucanes à effet anti diabétique (Ghedira, 2005).

L'utilisation potentielle de l'orge dans l'alimentation humaine suscite un intérêt croissant en raison de sa forte teneur en constituants biologiquement actifs (Martínez et al., 2018).

### I.2. Classification botanique

Cependant, d'après Feillet (2000), l'Orge cultivée appartient à la classification suivante :

**Tableau II: Classification de l'Orge (Feillet, 2000)**

Règne	<i>Plantae</i> (Règne végétale)
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i> (Angiosperme)
Classe	<i>Liliopsida</i> (Monocotylédones)
Sous-classe	<i>Commelinidae</i>
Ordre	<i>Poales</i> (Cyperales)
Famille	<i>Poaceae</i> (Graminées)
S/Famille	<i>Hordeoideae</i>
Tribu	<i>Hordeae</i> (Hordée)
S/Tribu	<i>Hordeinae</i>
Genre	<i>Hordeum</i>
Espèce	<i>Hordeum vulgare</i> L.

### I.3. Les constituants biochimiques de l'Orge

L'orge, en plus d'une variété de vitamines, de minéraux et d'antioxydants, est nutritive, ainsi, il est recommandé de consommer au moins la moitié des rations alimentaires à base de produits céréaliers sous forme de grains entiers. Elle est riche en fibres solubles qui aident à réduire le taux de cholestérol sanguin et à contrôler la glycémie mais aussi des fibres insolubles, qui favorisent un fonctionnement régulier de l'intestin (**Paradis, 2017**).

Elle est, cependant, faible en gras, en sodium et en sucre, il faut signaler à cet effet que tous les types d'Orge constituent de bons choix car les fibres solubles se trouvent dans le grain entier et non seulement dans l'enveloppe de son extérieure (**Cieur Tranquard, 2011**).

Le plus grand intérêt de l'orge réside dans sa composition en éléments biochimiques (les protéines sont moins riches en lysine), en plus de l'azote, les minéraux, l'amidon et les fibres alimentaires qui se répartissent très différemment selon les tissus (**Grando et Gomez, 2005**).

**Tableau III:** Composition biochimique de l'endosperme (**Jeantet et al., 2007**).

Constituants biochimiques	Teneur dans l'endosperme, %
Amidon	65
Protéines	7 à 12
Lipides	2 à 3
Parois cellulaires : Gommés dont matériels celluloseux	6 à 8
$\beta$ glucanes	70
Pentosanes	20
Protéines	5
Glucomannanes	2
Cellulose	2
Acides phénoliques	0,5
Acides uroniques	0,5

### I.4. Indice glycémique de l'orge

Il faut mentionner que son indice et sa charge glycémique sont faibles ainsi, leur prise en considération dans l'alimentation permet un contrôle métabolique plus efficace, niveau de lipides moins élevé et une meilleure maîtrise du taux de sucre dans le sang grâce à sa richesse en enzymes particulières à savoir les deux méta-analyses. Ces dernières de contrer ou de réduire certains effets associés au diabète de type 2 comme l'hyperglycémie et les syndromes

métaboliques (l'hypertension, risque accru de troubles cardio-vasculaires) (**Duraffourd et Lapraz, 2017**).

**Tableau IV:** Caractéristiques des différents indices de l'orge (**Kristiansen, 2004**).

Index glycémique	25/110	Bas
Indice de satiété	0.5/5	Faible
Densité calorique	1.23/9	Faible densité
= Ccharge glycémique (100g)	7.06/100	

### I.5. Caractérisation pharmaceutique de l'Orge

L'Orge est une céréale à grains entiers très nutritif, idéale pour les personnes atteintes de diabète car elle aide à lutter contre le pic d'insuline (évite les hausses brutales de sucre dans le sang). A cet effet, grâce à sa forte concentration en fibres solubles, sa consommation permet une normalisation des taux sanguins de cholestérol, de glucose et d'insuline, ainsi que sa riche en antioxydants, notamment en vitamine E, elle lutte contre les radicaux libres et certains cancers (**Cieur Tranquard, 2011**).

Cependant, à l'état végétatif ou vert il assure :

#### ➤ Acidité

L'herbe d'orge est l'aliment le plus alcalin qui soit. Ainsi, son pouvoir neutralisant sur les acides se vérifie rapidement aux niveaux émotionnel et cutané avant de restaurer l'équilibre acido-basique de l'organisme et de se répercuter sur la santé en général.

#### ➤ Alcoolisme

Grace à sa richesse en chlorophylle et sels minéraux, le jus d'herbe régénère le foie et permet aux alcooliques de retrouver plus de mémoire.

#### ➤ Anémie

L'herbe d'orge est naturellement un aliment antianémique car sa richesse élevée en fer et en cuivre permet de stocker le fer dans l'hémoglobine.

➤ **Cerveau**

Elle stimule les fonctions cérébrales en leur apportant tout de l'oxygène par la chlorophylle, puis de l'acide glutamique, agissant comme un neurotransmetteur excitant, de la phénylalanine, favorisant la mémoire et luttant contre la dépression.

L'herbe d'orge favorise la concentration et lutte contre la dépression et la neurasthénie.

➤ **Détoxication**

Le jus d'herbe détoxique les systèmes hépatique, lymphatique, rénal et digestif.

➤ **Diabète**

La consommation régulière de compléments alimentaires à base d'herbe, normalise le niveau de sucre dans le sang, notamment grâce au manganèse, au zinc, et surtout au chrome qu'il contient en plus de l'action de ses enzymes qui stimulent le pancréas.

➤ **Digestion**

Elle contient de nombreuses fibres, pour lutter contre la constipation et favorise donc la digestion. Enfin, le jus d'herbe régénère la flore intestinale et aide à lutter contre la candidose et certains virus.

➤ **Enfants**

Le jus a le même pH que le lait maternel et contient des acides aminés qui stimulent les fonctions cérébrales.

➤ **Fatigue**

Les composants chlorophylle, minéraux et vitamines sont des nutriments antifatigues par excellence. Ainsi, le jus d'herbe d'orge permet en quelques jours de retrouver un bon niveau énergétique, en éliminant de nombreux déchets qui contribuent à la fatigue organique générale.

➤ **Immunité**

Par ses enzymes et ses vitamines, l'herbe d'orge renforce le système immunitaire. Alors que, ses enzymes anti-oxydantes combattent les radicaux libres pendant que le Bêta carotène, également présent en grandes quantités, stimule la lysozyme qui détruira de nombreuses bactéries. D'autres vitamines, comme la B1, la B2 et la B6, cependant, stimulent respectivement le système lymphatique, les anticorps et le système immunitaire dans son ensemble mais la choline renforce la production d'hormones. Enfin, la vitamine C rend la phagocytose plus

efficace. On ne pourra que conseiller l'herbe d'orge à toute personne au système immunitaire affaibli.

➤ **Obésité**

Les enzymes de l'herbe d'orge activent les enzymes organiques capables de scinder les molécules de graisse, pendant que l'acide gamma linoléique réduit le cholestérol, et que divers acides aminés freinent les sensations de faim.

➤ **Ostéoporose**

L'herbe d'orge grâce à sa richesse de calcium de bonne qualité évite l'ostéoporose ; d'autant que sa composition assure une relation équilibrée entre la vitamine C, les protéines et le magnésium, ce qui n'est pas le cas du lait, même des laits de brebis, de jument ou de chèvre.

➤ **Peau**

En détoxiquant l'organisme, l'herbe d'orge assure naturellement un nettoyage de la peau, mais ses enzymes améliorent aussi la respiration cutanée, rajeunissent la peau et estompent les rides.

➤ **Rajeunissement**

Les enzymes, en particulier la super-oxyde dismutase, de l'herbe d'orge attaquent les radicaux libres, en de plus, ses polypeptides et acides aminés à courtes chaînes qui stimulent la formation de nouvelles cellules.

➤ **Sexualité**

L'herbe d'orge, favorisent la spermatogénèse car les spermatozoïdes issus des males nourris par cet aliments s'avèrent plus sain que le groupe de référence, ce qui tend à prouver que les isoflavonoïdes, comparables aux œstrogènes, contenus dans ce jus parviennent à renforcer les glandes reproductives. De plus, l'arginine, également contenue dans ce jus, stimule la fertilité masculine.

➤ **Stress**

La forte concentration de nutriments dont jouit l'herbe d'orge réduit les névroses et autres réactions psychologiques excessives. Ainsi, les vitamines B qu'elle contient aident à retrouver un calme relatif et à éviter des décharges d'adrénaline (**Paradis, 2017**).



**Figure 03: Jus de l'herbe verte de l'Orge (Kristiansen, 2004).**

Cependant, l'Orge cuite présente un grand intérêt nutritionnel.

**Tableau V : Valeurs nutritionnelles pour une portion de 100g d'Orge cuite (Kristiansen, 2004).**

Protéines	2.26 g
Lipides	0.44 g.
Glucides	28.22 g
Cendres	0.27 g
Eau	68.8 g
Fibres	2.46 g
Acide alpha-linolénique LNA (18:3 $\omega$ -3) (cis et/ou trans)	0.21 g

### **I.6. Effets des acides gras libres de l'orge sur le diabète**

Les acides gras sont des substrats énergétiques des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans, et sont considérés comme des facteurs importants participant à l'étiologie du diabète de type 2 (Garry, 2002). Que ceux à longue chaîne potentialisent à court terme la sécrétion d'insuline en réponse au glucose. Les mécanismes cellulaires de cette potentialisation sont liés à l'accumulation des acyl-CoA dans le cytosol qui conduit à la production de diacylglycérol et de phospholipides qui stimulent l'exocytose des granules d'insuline (Gard et Dobbins, 1999).

Alors que, l'augmentation du taux en AGL tout au long du nyctémère (cycle biologique de 24 heures) chez les sujets diabétiques de type 2, pourrait être à l'origine des anomalies du métabolisme glucidique (**Reaven et al., 1988**).

Chez les diabétiques de type 2, si les îlots de Langerhans sont exposés d'une façon prolongée à des concentrations importantes d'acides gras, les triglycérides s'accumulent dans les cellules  $\beta$  en inhibant la sécrétion d'insuline en réponse au glucose ainsi qu'une lipotoxicité qui conduit à une destruction des cellules par apoptose (**Gard et Dobbins, 1992**).

À cet effet, un examen anatomopathologique des cellules  $\beta$  des diabétiques de type 2, montre qu'elles contiennent des vésicules lipidiques, suggérant, ainsi que la lipotoxicité pourrait être la cause de la disparition des cellules  $\beta$  chez ce type de diabétiques, passant, cependant, d'un état d'insulino-résistance compensé à un état d'insulino-requérance.

Cependant, si le pancréas endocrine est exposé longuement à des concentrations élevées de glucose, un phénomène de glucotoxicité est également observé (**Marshak, 1999**).

Il faut signaler que les deux mécanismes glucotoxicité et lipotoxicité sont impliqués dans l'apoptose des cellules  $\beta$  chez les diabétiques de type 2 exposés de façon chronique à des concentrations élevées de glucose et d'acides gras (**Poitout et Robertson, 2002**).

Au début, le cycle «glucose-acides gras» stipule que l'oxydation excessive des acides gras dans le muscle conduit à une augmentation des rapports ATP/ADP et acétyl-CoA/CoA, qui inhibent, ainsi, la pyruvate déshydrogénase, l'entrée de l'acétyl-CoA dérivé du pyruvate dans la mitochondrie et l'oxydation du glucose (**Girard, 1995**). Il faut signaler que la même source mentionne que l'oxydation des AGL dans le foie fournit des co-facteurs (ATP, NADH, acétyl-CoA) nécessaires à des étapes clés de la néoglucogenèse, conduisant à une production accrue de glucose par le foie.

En revanche l'oxydation accrue des acides gras conduit aussi à une augmentation du citrate mitochondrial, à cause de l'afflux d'acétyl-CoA et de l'augmentation de l'ATP et du NADH. Le citrate en excès passe, alors dans le cytosol (via un transporteur localisé dans la membrane mitochondriale) où il entraîne une inhibition allostérique de la phosphofructokinase conduisant à une augmentation des fructose-6-phosphate et glucose-6-phosphate.

L'accumulation de glucose-6-phosphate provoque alors une inhibition allostérique de l'hexokinase, ce qui conduit à une augmentation de la concentration intracellulaire du glucose et l'inhibition de son transport vers l'intérieur de la cellule (le transport de glucose des muscles est un transport «facilité» dans le sens du gradient de concentration) .

L'accumulation de citrate, en inhibant la phosphofructokinase, entraînerait une augmentation de fructose- 6-phosphate et de glucose-6-phosphate (G-6-P). Cette accumulation de glucose-6-phosphate inhiberait l'hexokinase, conduisant à l'augmentation du glucose intracellulaire et à l'inhibition du transport de glucose (le transport de glucose des muscles est un transport «facilité», dans le sens du gradient de concentration). Glut: transporteur de glucose; HK: hexokinase; PKF: phosphofructo- kinase; PDH: pyruvate déshydrogénase (Randle, 1963).

**-C-**

**Cieur Tranquard C., 2011.** La pharmacie familiale au naturel. EdiSud. 159 p.

**-D-**

**Duraffourd C. et Lapraz J.C., 2017 :** Traité de phytothérapie clinique" éd. Masson. 90-94 p.

**-F-**

**Feillet P., 2000.** Le grain de blé : composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, 308 p.

**-G-**

**Gard J.M.c. et Dobbins R.L., 1999.** Fatty acids, lipotoxicity and insulin secretion. *Diabetologia* , 42: 128–138.

**Garry J.D., 1992.** What if Minkowski had been ageusic ? An alternative angle on diabetes. *Science*, 258: 766–770.

**Garry J.D., 2002.** Dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes*, 51: 7–18.

**Ghedira K., 2005.** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4) : 162-169.

**Girard J., 1995.** Rôle des acides gras libres dans l'insulinorésistance au cours du diabète non-insulinodépendant. *Diabete Metab*, 21: 79–88.

**Grando S. and Gormez H., 2005.** Food uses of barley. In 12th Australian Barley Technical Symposium. Australian Barley Association. Hobart, *Tasmania* (Vol. 1114).

**-J-**

**Jeanet R., Croguennec T., Schuck P. and Brulé G., 2007.** Science des aliments : Biochimie-Microbiologie-Procédés-Produits. V2.Technologie des produits alimentaires. 191-196.

-K-

**Kristiansen J., 2004.** les vertus de l'orge verte (Article paru dans Diet infos) Consulté le 15 juin 2019.

-M-

**Marshak S., Leibowitz G., Bertuzzi F., 1999.** Impaired  $\beta$ -cell functions induced by chronic exposure of cultured human pancreatic islets to high glucose. *Diabetes*, 48: 1230–1236.

**Martínez M., Motilva M.J., de las Hazas M.C.L., Romero M.P., Vaculova K. and Ludwig I.A., 2018.** Phytochemical composition and  $\beta$ -glucan content of barley genotypes from two different geographic origins for human health food production. *Food chemistry*, 245: 61-70.

**McGarry J.D. and Dobbins R.L., 1999.** Fatty acids, lipotoxicity and insulin secretion. *Diabetologia*, 42(2): 128-138.

-P-

**Paradis G., 2017.** Soins et produits de bien être (Humains-Equin-Canin). [www. naturolisticom](http://www.naturolisticom) .Consulté le 15 juin 2019.

**Poitout V., Robertson R.P., 2002.** Secondary  $\beta$ -cell failure in type 2 diabetes. A convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology*, 2002; 143(2): 339–342.

**Randle P.J., Garland P.B., 1963.** Hales CN, Newsholme EA. The glucose-fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*, 785–790.

-R-

**Reaven G.M., Hollenbeck C.B., Jen C.Y., Wu M.S., Chen Y.D.I., 1988.** Measurement of plasma glucose, free fatty acid, lactate and insulin for 24 h in patients with NIDDM. *Diabetes*, 37: 1020–1040.

**-S-**

**Schulte D., Close T.J., Graner A., Langridge P., Matsumoto T., Muehlbauer G., Sato K., Schulman A.H., Waugh R., Wise R.P. And Stein N., 2009.** The international barley sequencing consortiumdat the threshold of efficient access to thebarley genome. *Plant Physiol*, 149(1):142-147.

**-T-**

**Triki T., Guasmi F., Boussora F., Ben Mohamed M., Ben Ali S., Guasmi A., Yahia H. et Nagaz K., 2016.** Etude de la composition phénolique et des propriétés antioxydantes d'extraits des feuilles de cinq variétés d'orge (*Hordeum vulgare L.*) soumis à un stress hydrique (PEG 6000). *Revue des Régions Arides, Numéro spécial 43 (3/2017): 653-659.*

**-Z-**

**Zohary D., Hopf M. and Weiss E., 2012.** Domestication of plants in the Old World: the origin and spread of domesticated plants in southwest Asia, Europe, and the Mediterranean basin. Oxford: Oxford University Press.4éd, 237 p.

# **Partie expérimentale**

# **Matériel et méthodes**

## **Objectif scientifique**

Cette étude porte sur la caractérisation et les propriétés pharmacologiques des grains d'une céréale, Orge, trop consommée tant par l'homme que pour l'engraissement des animaux. Ainsi, la recherche d'une éventuelle activité thérapeutique des substances bioactives extraites à partir de la farine d'orge s'avère nécessaire. A cet effet, l'extrait aqueux brut (E.A.B.) étudié est soumis à une série de fractionnement liquide-liquide, en plus des extraits aqueux, éthanolique, méthanolique et éthérique. Cependant, la détermination d'un screening phytochimique est primordiale, afin de caractériser les grandes familles de composés céréaliers et quantifier certains groupes chimiques pour connaître la valeur biochimique et les substances actives ayant un pouvoir préventif ou curatif et voir même leurs effets pharmacologiques sur quelques autres paramètres biochimiques. Enfin, un dosage par la CG-SM, pour mettre en évidence les différents composants, en particulier les acides gras à caractère curatif ou préventif, des grains d'Orge.

## **I. Matériel et méthodes**

### **I.1. Matériel végétal et extraction**

#### **I.1.1. Récolte de l'orge et traitement**

La plante étudiée dans cette approche appartient à la famille des Poaceae (Graminée), connue sous le nom d'Orge (*Hordeum vulgare* L.) ou chair. L'échantillon est récolté à la fin du mois de Mai 2018 dans la région de Ferdjioua, soit à l'Ouest de la wilaya de Mila.

Cependant, pour s'assurer de la maturité et du séchage des graines, il s'est avéré nécessaire de mettre le matériel végétal à une température ambiante et à l'ombre sur un journal. Par contre, avant de moulinner ces grains, un autre séchage est effectué dans une étuve à 50°C pendant 48h afin d'avoir des graines totalement sèches et éviter, ainsi, le facteur humidité qui peut fausser les résultats attendus. Ensuite elles sont broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène pour préparer les différents extraits, ainsi, donc le contact solvant-farine est facile et permet l'extraction d'un nombre maximal de principes actifs.



**Figure 04:** Séchage de l' *Hordeum vulgare* L.

### **I.1.2. Extraction des huiles essentielles**

Les intérêts biologique et pharmacologique de l'usage des huiles essentielles, ont incité les chercheurs à mettre au point plusieurs techniques d'extraction comme l'hydro-distillation, l'expression à froid, l'enfleurage, l'extraction par solvants organiques, l'extraction par ultra-sons etc.....Ainsi, l'extraction de ces huiles et la préparation des extraits demandent à ce que la matière végétale soit broyée finement à l'aide d'un mixer, afin de faciliter le maximum d'extraction de molécules bioactives (AFNOR, 2000).

#### **I.1.2.1. Extraction par solvant ou par macération**

Elle consiste à macérer le composé recherché dans un solvant non miscible à l'eau pour extraire une espèce chimique d'un solide ou liquide par solubilisation. A cet effet, cette technique fait intervenir trois étapes (AFNOR, 2000).

**a).** La mise en contact du solvant avec la substance (farine d'orge) contenant les molécules bioactives à extraire soit directement dans un récipient adapté (bécher, erlenmeyer, ballon etc..) ou en employant d'abord l'eau, donc faire agir le solvant sur une macération.

**b).** La décantation à l'aide d'une ampoule à décanter.

**c).** Le séchage et la filtration avec un papier Wattman.

Cependant, le choix du solvant reste tributaire de :

\*\*\* l'espèce chimique à extraire soit le plus soluble possible.

\*\*\* Ce solvant ne doit pas être miscible à l'eau.

Après extraction, l'évaporation du solvant (température d'ébullition basse) reste possible pour récupérer l'extrait seul. A cet effet, il faut choisir le solvant le plus volatil et le moins dangereux

qui obéit généralement à certains critères et nécessite la connaissance du paramètre physique le caractérisant (**Wang et Waller, 2006**).

### **I.1.2.2. Extraction par hydro-distillation**

L'hydro-distillation, selon **Grigonis et al. (2005)** constitue le procédé, le plus ancien, d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques.

Le principe de ce mode consiste à immerger la matière végétale dans l'eau bouillante, les vapeurs passant du bas vers le haut font que les poches à essence, soumises à l'action de l'humidité et de la chaleur, éclatent et libèrent les huiles essentielles devenues volatiles.

Ces composés volatiles sont entraînés par la vapeur d'eau produite par le bain aqueux, d'où l'obtention de l'huile essentielle recueillie après décantation ; l'hydro-distillation est généralement conduite à pression atmosphérique. Cependant, pour améliorer le rapport d'entraînement (masse du corps entraîné / masse d'eau évaporée), en d'autres termes l'efficacité énergétique, l'opération peut se faire sous pression.

**a.** L'avantage de cette méthode réside dans le contact direct entre la plante et l'eau bouillante ; cette technique est réservée habituellement aux dosages des huiles essentielles au laboratoire.

**b.** Les inconvénients de ce mode d'extraction sont :

- ✓ certaines substances sont altérées (détériorées) à température élevée en présence d'eau.
- ✓ certains constituants des essences, solubles dans l'eau, ne se trouveront pas dans l'essence ou tout au moins n'y seront que partiellement représentés.
- ✓ des phénomènes physiques et chimiques se produisent et modifient sensiblement le contenu de la matière végétale et par conséquent de l'huile essentielle.

Pour limiter ces artefacts, **Morin et Richard** préconisent de maintenir le pH proche de la neutralité et de minimiser la durée du traitement, or la dégradation de la matière végétale lors de l'hydro-distillation conduit à la formation d'acides organiques qui portent le pH à une valeur proche (**Nowitz, 2000**).

Notons qu'au laboratoire, l'hydro-distillation peut s'effectuer sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Ce recyclage est dit cohobage et le système conçu pour l'opération est appelé Clevenger qui est généralement le plus utilisé pour l'extraction des huiles essentielles et ce en accord avec la Pharmacopée Européenne (**Bruneton, 1999**).

Cependant, son intérêt majeur réside dans l'utilisation du système de cohobation permettant une distillation en continue sans modifier la quantité en eau du ballon.



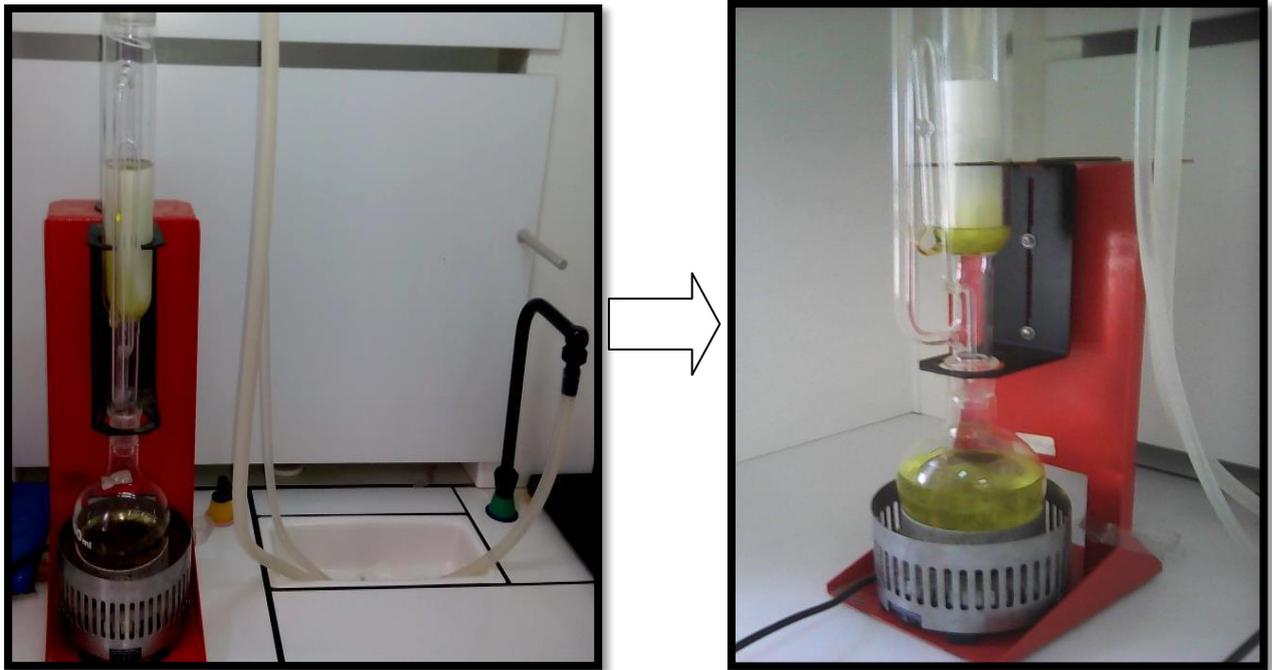
**Figure 05:** Hydro-distillateur (Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université Jijel).

### **I.1.3. Extraction par Soxhlet (préparation des extraits à doser par CG-SM)**

L'extracteur de Soxhlet permet le traitement des produits solides (matière végétale) avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps en verre de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose remplie de matière végétale (100g). Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant.

Le ballon contenant le solvant d'extraction est chauffé, ensuite, vaporisation de l'hexane puis condensation tout en restant en contact avec la matière végétale.

Le solvant collecté dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction et la matière végétale est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé. L'extraction continue jusqu'à épuisement totale de la matière solide chargée dans la cartouche, jusqu'à ce que l'hexane devient de plus en plus clair (Quan et al., 2004; Sarker et al., 2006).



**Figure 06 :** Soxhlet C.U.MILA.

Afin d'éliminer le solvant et récupérer l'extrait concentré, nous avons procédé à l'évaporation sous vide en utilisant un rota vapeur. L'évaporateur rotatif est une technique rapide et efficace de séparation qui permet l'extraction d'un solvant dont la température d'ébullition est abaissée en travaillant sous pression réduite (pibiri, 2005).



**Figure 07:** Evaporateur rotatif. C.U.MILA.

#### I.1.4. Méthodes de dosage par CG-SM.

##### I.1.4.1. Chromatographie en phase Gaz.



**Figure 08:** Chromatographie en phase Gaz Faculté S.N.V.Univ. Jijel.

#### a. Définition

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition (Stobiecki, 2000).

Elle permet d'opérer la séparation de composés volatils de mélanges très complexes et une analyse quantitative et qualitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit (Arpino et al., 1995).

#### b. Le principe

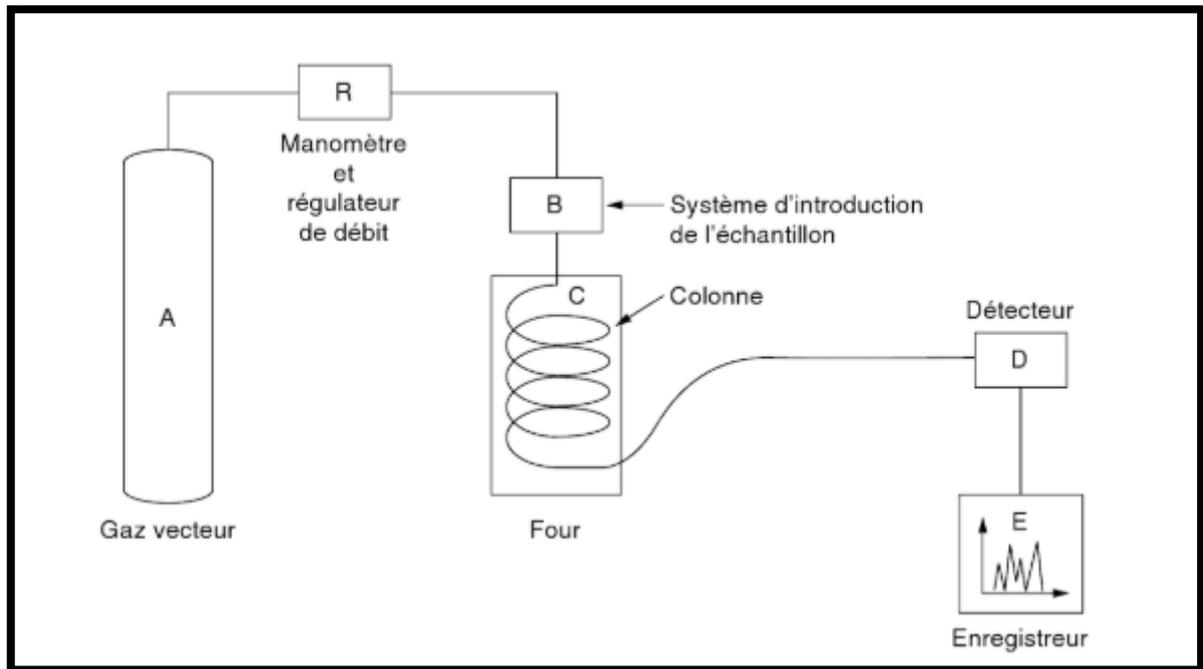
Le principe de base repose sur les équilibres de concentration des composés présents, entre deux phases non miscibles dont l'une, dite stationnaire, emprisonnée dans une colonne et l'autre, dite mobile, se déplace au contact de la première (Rouessac et Rouessac, 2000).

La séparation des analyses repose sur la différence de l'affinité de ces composés pour les phases mobile et stationnaire, alors que le mélange à analyser est vaporisé puis transporté à travers une colonne, remplie d'une substance liquide ou solide, dite phase stationnaire.

Le transport se fait à l'aide d'un gaz inerte, appelé "gaz vecteur" qui constitue la phase mobile (anonyme 07).

### c. Appareillage

L'appareil utilisé pour analyser ou doser les extraits des graines d'orge est la chromatographie en phase gaz. Il comporte plusieurs éléments, (Schéma 1).



**Schéma 01** : Schéma d'une chromatographie en phase gazeux (Burgot et Burgot, 2011).

#### ✓ **Gaz vecteur** (phase mobile)

Il constitue la phase dite "mobile" dont le rôle consiste à véhiculer les analytes depuis l'injecteur jusqu'au détecteur via la colonne analytique (Bouchonnet et Libong, 2004).

Cependant, quatre types de gaz sont utilisés à savoir l'hélium, le dihydrogène, le diazote et l'argon. Le gaz, pur et inerte, est choisi, principalement, en fonction du type du détecteur, ainsi, dans le cas d'un détecteur de type SM, l'hélium est utilisé comme gaz vecteur. Avec un débit variant de 30ml/mn à 40 ml/mn pour les colonnes classiques et de 0.2 ml/mn à 2 ml/mn pour les colonnes capillaires (Burgot et Burgot, 2011; Skoog, 2008).



**Figure 09:** Gaz vecteur (hélium) de la CPG faculté S.N.V. Univ. Jijel.

### ✓ **Injecteur**

L'injecteur est une zone chauffée où l'échantillon introduit en solution au moyen d'une seringue de faible volume (micro-seringue de 1 à 10  $\mu\text{L}$ ), est vaporisé puis mélangé au gaz vecteur.

Un volume précis est injecté dans l'injecteur qui vaporise le liquide pour permettre le transfert de l'échantillon vaporisé vers la colonne de la chromatographie. Cette injection est faite dans un tube chauffé où le gaz vecteur arrive par l'une des extrémités du tube et entraîne les solutés vaporisés vers la colonne raccordée à l'autre extrémité.

Il existe deux familles d'injecteurs :

- La première regroupe les injecteurs dits "à fuite" où le mode d'injection le plus répandu est l'injection en "split" ou injection avec "division de flux", il est utilisé pour l'analyse de solutions concentrées.
- La seconde famille regroupe les injecteurs "sans fuite" où l'injection "splitless", ou "sans division de flux", est utilisée pour introduire des analytes en solution diluée (**Bouchonnet et Libong, 2004**).



Figure 10 : Micro-seringue S.N.V. Jijel.

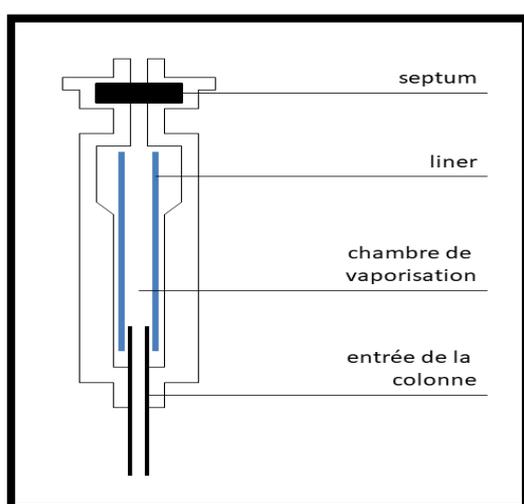


Schéma 02 : Injecteur (Rouessac et Rouessac, 2011)



Figure 11 : Injecteur S.N.V. Jijel.

### ✓ Colonnes

Elles contiennent la phase stationnaire et se présentent sous forme de tubes fins enroulés. La colonne est un tube fait de matériau le plus possible inerte aux produits chimiques (inox, verre, nickel, polymère). Il existe deux types de colonnes :

#### ➤ Colonnes remplies (à garnissage)

Ces colonnes, d'un diamètre de 3,18mm à 6,35 mm et de longueur de 1m à 3m, sont fabriquées à partir d'un tube d'acier ou de verre. Elles supportent un débit de gaz vecteur allant de 10 ml/min à 40ml/min. Elles contiennent un support poreux et inerte qui est un solide ayant une surface spécifique de  $2 \text{ m}^2/\text{g}$  à  $8 \text{ m}^2/\text{g}$  qui se présentent sous forme de grains sphériques d'environ 0,2 mm de diamètre (Skoog, 2008).

Elles sont remplies de granules de support inerte, généralement de silice, dont la surface est imprégnée ou greffée avec la phase stationnaire. Elles sont aujourd'hui supplantées par les colonnes capillaires, dont le pouvoir de résolution est bien supérieur.

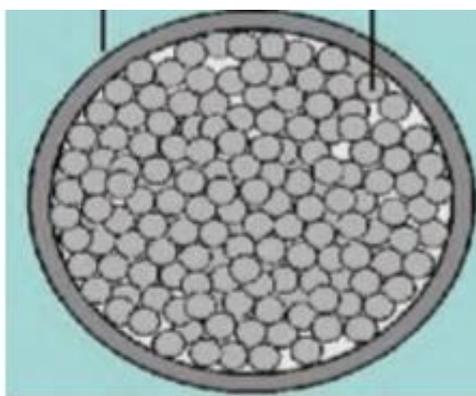
### ➤ Colonne capillaire

Elles sont de simples tubes d'acier inoxydable, de verre ou de silice fondue (matériau inerte vis-à-vis de la phase stationnaire et des échantillons) de diamètre intérieur compris entre 0,1 et 0,5 mm, et d'une longueur typique de plusieurs dizaines de mètres, pouvant aller jusqu'à 100 m. Pour tenir dans l'appareil, la colonne est enroulée, avec des spirales ayant 10 à 30 cm de diamètre. La surface interne de ce tube est recouverte d'un film de 0,1 à 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur constitué de la phase stationnaire. Ce film est mis en place par greffage ou simple déposition, le greffage étant généralement préféré pour des raisons de stabilité thermique (**anonyme 08**).

De nos jours, les colonnes utilisées en CPG-MS sont des colonnes dites "capillaires". La colonne est constituée d'un tube de silice fondue dont la paroi interne est couverte d'un film chimique nommé "phase stationnaire" alors que la paroi externe est gainée d'un revêtement en polyimide qui confère une souplesse et une robustesse à la colonne.

En plus de la nature de la phase stationnaire, la colonne capillaire est caractérisée par trois paramètres géométriques qui sont une longueur (de 10m à 100 m), un diamètre interne (de 0,1mm à 0,5 mm), une épaisseur de la phase stationnaire (de 0,1 à 5  $\mu\text{m}$ ) et chacun exerce une influence déterminante sur la qualité de la séparation.

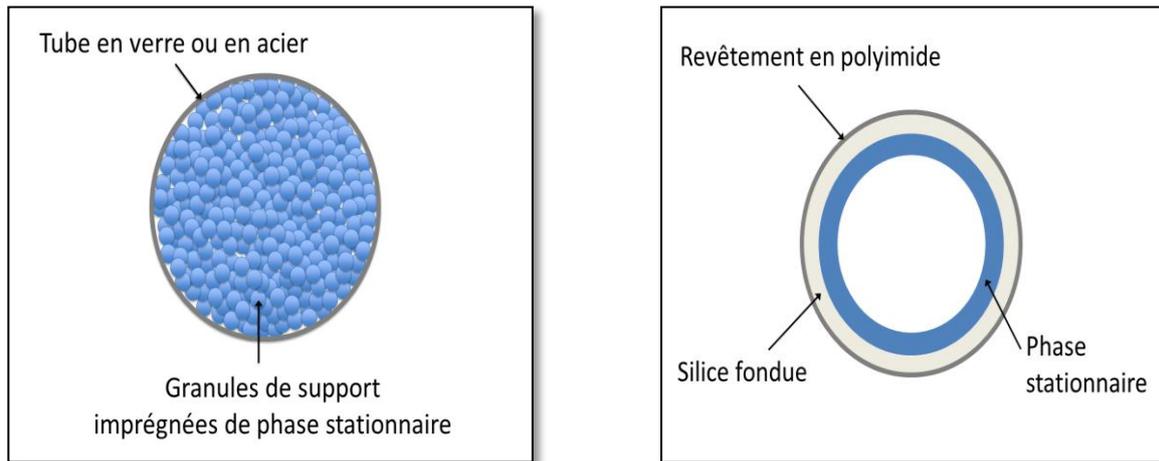
La colonne capillaire est placée dans un four car les interactions entre les composés et la phase stationnaire sont fonction de la température, l'augmentation de cette dernière favorise l'élution des composés et diminue ainsi les temps d'analyse (**Bouchonnet et Libong, 2004**).



**Figure 12:** Colonne remplie (Skoog et al., 2012)



**Figure 13 :** Colonne capillaire S.N.V.Jijel.



**Schéma 03:** Une coupe de colonnes remplies (à gauche) et capillaire (à droite) (**anonyme 08**).



**Figure 14:** Colonne capillaire S.N.V Jijel.

✓ **Four**

C'est un four à bain d'air, pourvu de résistances chauffantes et d'un système de ventilation et de brassage pour l'homogénéisation de la température. La régulation est assurée par un thermocouple, pour un intervalle de fonctionnement allant de la température ambiante jusqu'à 400°C. Sa température est en général inférieure de 20°C par rapport à celle du soluté de plus bas point d'ébullition (**Tranchant, 1996**).



**Figure 15:** Four de CPG S.N.V.Jijel.

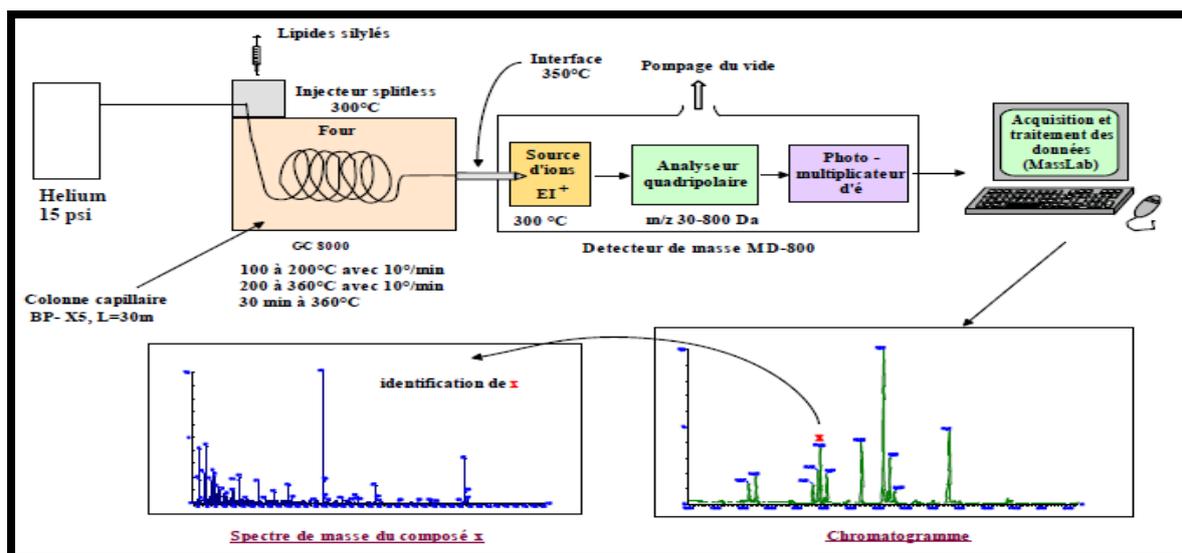
✓ **Détecteur**

Les produits séparés dans la colonne chromatographique doivent être détectés, donc le rôle du détecteur en sortie de la colonne est d'émettre un signal enregistrable et quantifiable. Le détecteur est choisi spécifiquement en fonction des produits à analyser.

L'intérêt d'utiliser comme détecteur un spectromètre de masse (SM), bien qu'il soit beaucoup plus onéreux que les autres types de détecteur, est de pouvoir associer à chaque pic du chromatogramme un ou plusieurs spectres de masse, ce qui permet une identification immédiate de la structure chimique du produit à analyser (**Skoog, 2008**).

En effet, le principe de base repose sur les équilibres de concentrations des composés se trouvant entre deux phases non miscibles, dont l'une est stationnaire, emprisonnée dans une colonne ou fixée sur un support alors que l'autre, mobile se déplace au contact de la première. Ainsi, l'entraînement, à des vitesses différentes des composés par la phase mobile, conduit à leur séparation.

A cet effet, de toutes les méthodes analytiques instrumentales, la chromatographie reste celle qui a le plus grand domaine de pratique, de ce fait elle occupe une position dominante et aucun laboratoire d'analyse ne saurait l'ignorer (**Rouessac et Rouessac, 2000**).



**Schéma 04:** Principe du chromatographe en phase gazeuse (Rouessac et Rouessac, 2000).

#### ✓ Enregistreur

L'enregistreur relié au chromatographe, reçoit les impulsions électriques du détecteur et les transmet sur microordinateur ou sur papier. On obtient un chromatogramme où toutes les informations nécessaires à l'analyse qualitative et quantitative (temps de rétention, l'aire des pics) sont enregistrées (Skoog, 2008).

#### I.1.4.2. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui permet la détermination des masses moléculaires des composés analysés, ainsi que leur identification et leur quantification. Elle est fondée sur la séparation et la détection des ions formés dans une source d'ionisation qui proviennent de la molécule à analyser (Menet, 2011).

Elle est aussi, connue comme une méthode physico-chimique appliquée à la détermination structurale des composés organiques, permet d'accéder à la masse moléculaire d'une substance et apporte des informations structurales par le biais de l'étude des fragments moléculaires engendrés (McLafferty et Stauffer, 1994; Luicitla et Lgunez, 2006).

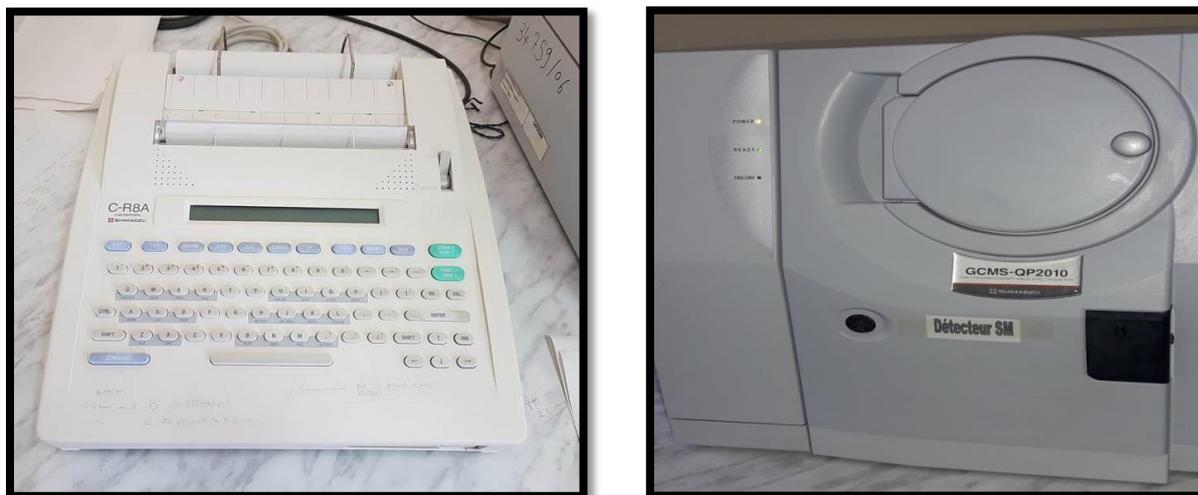


Figure 16: Spectrométries de Masse S.N.V Jijel.

#### I.1.4.3. Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométries de Masse (CG/MS)

La CPG/SM est une méthode associant la technologie d'un chromatographe en phase gazeuse avec celle d'un spectromètre de masse utilisé comme détecteur. Ce système de couplage développé depuis les années 1950 est désormais bien maîtrisé par les constructeurs d'appareils, même si plusieurs analyseurs de masse continuent d'être proposés (quadripôle, trappe, temps de vol). La CPG/SM est désormais une méthode d'analyse chimique classique au laboratoire (identification et quantification de médicaments, analyse de solvants résiduels, détection de fraudes alimentaires, dépistage du dopage, analyse environnementale, etc.). Malgré la concurrence d'autres techniques d'analyse, la CPG/SM conserve de multiples domaines d'applications et des avantages indéniables dans certains types d'analyse de substances facilement vaporisables (Paolini, 2005).

Ainsi, la CG-SM est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et de quantifier précisément de nombreuses substances (Pulgarin et Van Coillie, 2012).

Elle permet la séparation des substances, selon leur volatilité, qui sont, ensuite, fragmentées dans la trappe à ions de la spectrométrie de masse pour les identifier grâce au fragment et à leur masse moléculaire (colas, 2006).



**Figure 17:** Chromatographie en phase gazeux couplé au spectrométrie de masse S.N.V Jijel.

L'analyse chromatographique est effectuée avec une chromatographie en phase gaz couplée à une spectrométrie de masse de type Shimadzu QP2010 de type EL 70 ev quadripole au laboratoire pédagogique de la faculté SNV de l'Université de Jijel. Cependant, les conditions d'analyse par CG/SM sont:

- + caractérisation de la colonne : OV1701
- + longueur de la colonne : 25m
- + nature de gaz vecteur : hélium h2
- + volume d'injection : 1 U1
- + température d'injection: 250.00°C
- + mode d'injection : Split
- + température du four à colonne : 55.0 °c
- + flux de colonne: 0.77 ml/min
- + mode de contrôle de flux : vitesse linéaire
- + pression : 24.6 KPa
- + débit total: 17.4ml/min
- + vitesse linéaire: 35.0 cm/sec
- + flux de purge : 1.2 ml/min
- + rapport de division: 20.0
- + injection haute pression: fermer
- + économiseur de gaz porteur: fermer
- + séparateur: fermer
- + Programme de température du four (tableau 5):

Tableau VI: Programme de température du four

Taux	Température (en degré Celsius)
-	55.0
3.0	120.0
5.0	220.0

### ✚ Identification des pics

L'identification des pic s'effectue avec un logiciel chemstation installé sur l'ordinateur relié avec la CG / MS (figure 18 et 19).

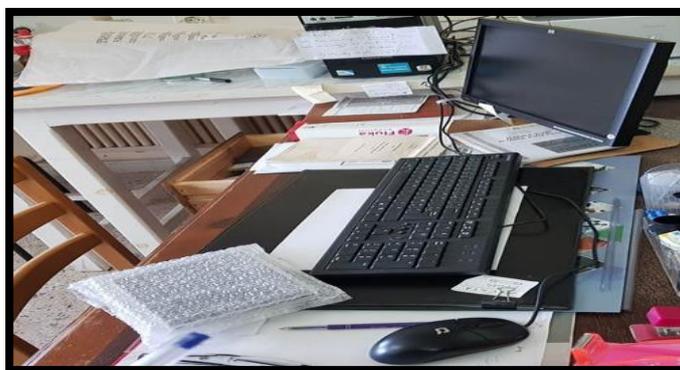


Figure 18: L'ordinateur relié avec la CG / MS.



Figure19: Logiciel installé sur l'ordinateur reliev avec la CG / MS.

#### I.1.4.4. Préparation de l'extrait aqueux brut

L'extraction est réalisée par macération du broyat des grains d'orge à température ambiante dans de l'eau distillée à raison de 10% (P/V) pendant 24 heures.

Ensuite, on procède à une filtration. Le fractionnement liquide-liquide se fait à partir du filtrat obtenu, qu'on peut sécher à 60°C à l'étuve jusqu'à l'obtention d'un résidu sec qui par conséquent est conservé dans des piluliers en verre ambré à une température de +4°C.

L'organigramme en-dessous résume les étapes suivies pour préparer les différentes fractions de l'extrait aqueux brut.

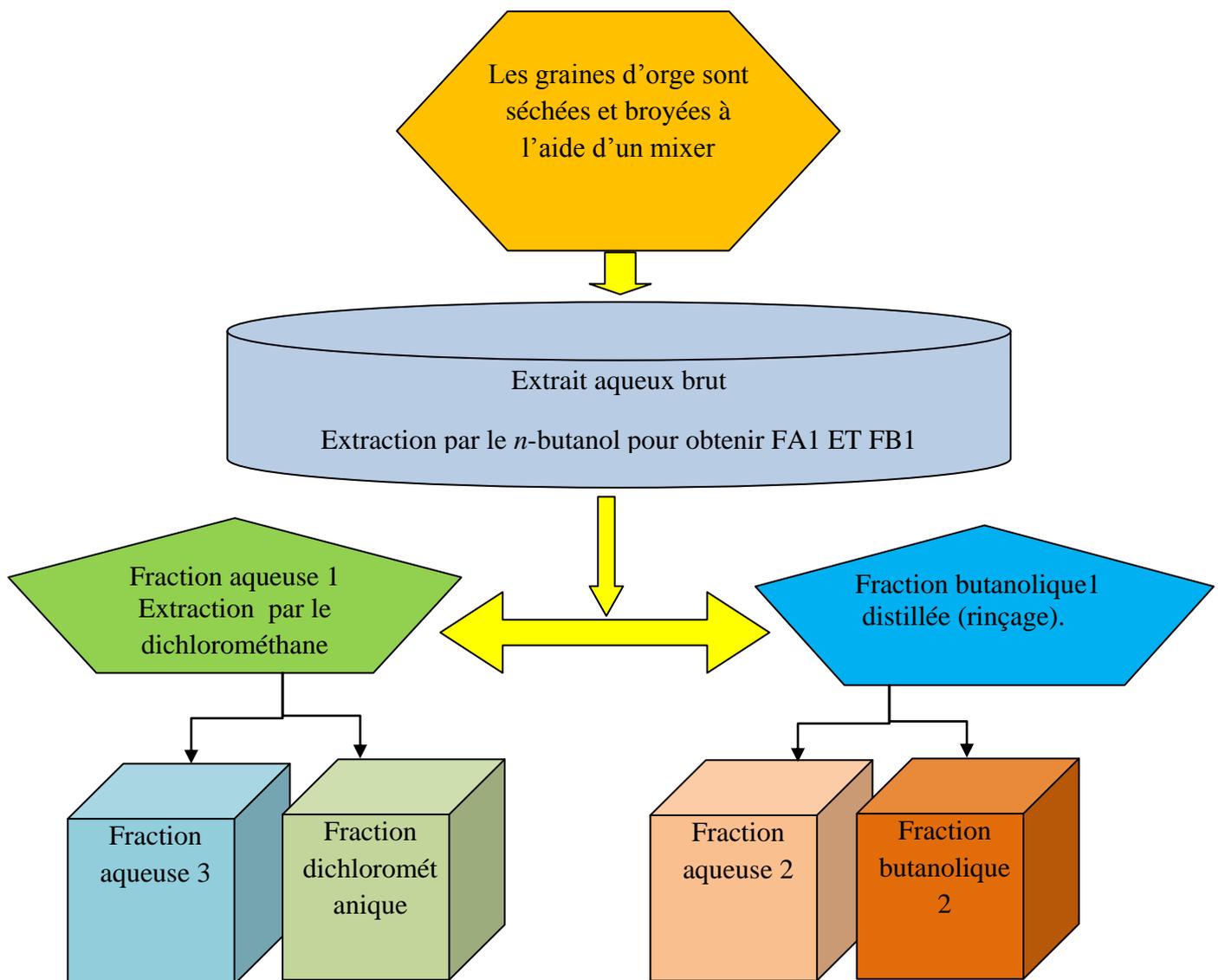


Figure 20: Organigramme du fractionnement de l'extrait brut aqueux.

Extrait aqueux brut: **EAB**, Fraction aqueuse 1: **FA1**, Fraction butanolique 1: **FB1**,  
 Fraction aqueuse 2: **FA2**, Fraction butanolique 2: **FB2**, Fraction aqueuse 3: **FA3**,  
 Fraction dichlorométhanique: **FDM**

L'extrait aqueux brut, préalablement préparé, subit une série d'extractions liquide-liquide afin de récupérer (06) fractions (voir organigramme).

La première extraction se fait par le n-butanol afin de récupérer de deux fractions organique (**FB1**) et aqueuse (**FA1**). Cette dernière subit une extraction liquide-liquide par le dichlorométhane pour avoir les fractions, aqueuse 2 (**FA2**) et dichlorométhane (**FDM**). Alors que la fraction butanolique 1 (**FB1**) est ré-extraite par l'eau distillée (rinçage), pour obtenir deux fractions, butanolique (**FB2**) et aqueuse (**FA3**).

Cependant, la répétition d'extraction plusieurs fois permet de récupérer le maximum de composés. Les fractions organiques sont évaporées à sec à l'aide d'un rota-vapeur.

En parallèle, les fractions aqueuses sont séchées à 50°C dans une étuve pendant 48 heures. Ainsi, les résidus secs obtenus sont conservés, dans des piluliers en verre, à température de +4°C et à l'abri de la lumière, afin de les utiliser plus tard.

## **II. Tests de caractérisation**

Une recherche phytochimique est effectuée parallèlement aux différents tests biologiques.

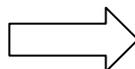
Cette contribution est réalisée, en premier temps, sur les grains d'orge, ensuite sur les différentes fractions de l'extrait aqueux brut.

C'est ainsi qu'une fois le matériel végétal est prétraité, les graines sont soumises à des tests pour détecter de façon qualitative les principales familles de produits naturels qui peuvent se trouver dans l'échantillon. La détection de ces groupes constitue le screening ou criblage phytochimique. Les tests de caractérisation sont basés sur des réactions de précipitation et de complication avec formation de complexes insolubles et colorés. La coloration observée et provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié, est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une insaturation d'une molécule. Les essais phytochimiques sont menés suivant les méthodes usuelles décrites pour la plupart par Harborne (1998).

Cette phytochimie est réalisée sur les graines traitées par quatre solvants de polarités différentes à savoir, l'éther diéthylique, l'éthanol, méthanol et l'eau. Les extraits bruts (étherique, éthanolique, méthanolique et aqueux) sont préparés par macération de 5 g de la poudre végétale dans 100ml de solvant. Pour les fractions, les tests phytochimiques se font sur le résidu sec ou solubilisé dans de l'eau distillée. Par ailleurs, les teneurs en sucres totaux sont recherchées sur l'EAB et ses fractions.



**Figure 21:** Macération.



**Figure 22:** Filtration.

### II.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) (**karumi et al., 2004**).

- **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 (**karumi et al., 2004**).

**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 (**karumi et al., 2004**).

**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 triterpènes hétérosidiques (**Edeoga et al., 2005**).

- **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 (**karumi et al., 2004**).

- **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) (**Edeoga et al., 2005**).

- **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  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (**Benmehdi, 2000**).

- **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' $\text{NH}_4\text{OH}$  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 :

- \* *Réactif de Mayer* : 5 g de KI et 1,358 g de  $\text{HgCl}_2$  solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.

- \* *Réactif de Wagner* : 2 g de KI et 1,27g d' $\text{I}_2$  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 (**Bruneton, 1999**).

- **Amidon**

Traiter l'extrait aqueux avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une coloration bleue violacée indique la présence d'amidon (**Benmehdi, 2000**).

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 (**Benmehdi, 2000**).

- **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 (**Souley amadou, 2005**).

- **Les acides aminés**

Le principe est basé sur la réaction des acides aminés avec la ninhydrine acétique. Ainsi, à un (01) ml de chaque extrait est ajouté un (01) ml de solution de ninhydrine acétique. Chauffer, ensuite, dans le bain marie et observer le changement de couleur. La présence des amino-acides est confirmée par l'apparition d'une couleur violette (**Harbonne, 1993**).

- **Les composés réducteurs:**

Il a été procédé à une évaporation à sec de cinq(05) ml du décocte aqueux à 10% au bain marie. L'apparition d'un précipité rouge brique après addition au résidu d'un (01) ml de réactif de Fehling révéla la présence des composés réducteurs (**OMS, 2002**).

- **Les stérols et les tri-terpènes:**

Une macération, pendant 24h d'un (01) g de poudre de l'orge dans 20 ml d'éther di-éthylique, suivie d'une filtration de ce mélange et complété à 20 ml d'éther di-éthylique s'avère nécessaire pour appliquer la réaction sous citée. Ensuite, suivre la réaction de Libermann- Buchard qui nécessite une évaporation à sec de dix (10) ml de l'extrait au bain marie. Le résidu sera repris avec un (0 1) ml d'anhydride acétique puis un (01) ml de chloroforme. Cette solution est partagée dans deux tubes à essai, dans l'un introduire un (01)

ml de réactif de Libermann. Il se forme un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageant devient verte ou violette, cela traduit la présence de stérols et les tri-terpènes. (Moulet, 2005).

## **II.2. Phytochimie quantitative**

Dans cette étape, les teneurs de certains composants des grains de la plante en question dont nous avons prélevé les échantillons de farine de grains d'orge sur lesquels l'analyse est menée.

### **II.2.1. Humidité**

#### **II.2.1.1. Principe**

Cette méthode analytique est basée sur le séchage complet du matériel végétal frais à une température de 80°C jusqu'à obtention d'un poids stable. L'humidité est le pourcentage en eau perdue après séchage par rapport à la matière fraîche (AFNOR, 1990).

#### **II.2.1.2. Mode opératoire**

Cinq grammes (05g) de l'échantillon "plante fraîche" sont emballés dans le papier d'aluminium, et placés dans l'étuve à 80°C jusqu'à séchage total. Après, les échantillons sont retirés et placés dans un dessiccateur pour se refroidir, puis pesés en utilisant la même balance analytique utilisée pour les pesés préalables.

#### **II.2.1.3. Expression des résultats**

- **Le taux d'humidité est exprimé en (%) selon la formule suivante:**

$$H (\%) = [(M_2 - M_3) / (M_2 - M_1)] \times 100$$

**M<sub>1</sub>**: la masse du papier aluminium vide en gramme

**M<sub>2</sub>**: la masse du papier aluminium + la prise d'essai avant le séchage

**M<sub>3</sub>**: la masse du papier aluminium + la prise d'essai après le séchage

**H**: humidité

Le pourcentage en matière sèche (MS%) est exprimé selon la formule suivante:

$$MS (\%) = 100 - \%H$$

## II.2.2. Sucres totaux

Pour l'analyse des sucres totaux, nous avons suivi la méthode de **Dubois et al. (1956)**

Le principe de cette méthode est qu'en milieu acide et à chaud, les liaisons glycosidiques des hydrocarbures sont hydrolysées. Les oses simples, ainsi, libérés subissent une déshydratation intramoléculaire pour donner des dérivés furfuraux. La fonction aldéhyde se condense, à cet effet, en milieux acides avec l'hydrolyse d'un composé phénolique pour donner des acétals ou héli –acétals de couleur rougeâtre qui absorbent dans le visible (450-500 nm).

### II.2.2.1. Extraction

Le protocole d'extraction consiste à peser 50 mg du matériel végétal broyé (mélange des trois parties la plante) puis les mettre dans 50 ml d'eau distillée et laisser agir pendant 24 h à température ambiante. Ensuite, l'extrait est soumis à une filtration, alors que pour le dosage, il est dilué dans de l'eau distillée à des volumes connus.

**Tableau VII:** Préparation de la solution mère de l'échantillon.

	<b>Tube1</b>	<b>Tube 2</b>	<b>Tube 3</b>	<b>Tube 4</b>	<b>Tube 5</b>	<b>Tube 6</b>
<b>Solution mère</b>	1ml	2,5 ml	5 ml	7,5 ml	10 ml	12,5 ml
<b>Eau distillée</b>	14 ml	12,5 ml	10 ml	7,5 ml	5 ml	2,5 ml
<b>Le volume total</b>	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml



**Figure 23:** Préparation de solution mère de l'échantillon.

### II.2.2.2. Préparation de la gamme d'étalonnage

Peser 20mg de glucose et les mettre dans 20ml d'eau distillée, ensuite, dans une série de tubes à essai mettre le même volume (5ml) de la solution dont les concentrations sont connues.

**Tableau VIII :** Résultats du dosage des sucres totaux

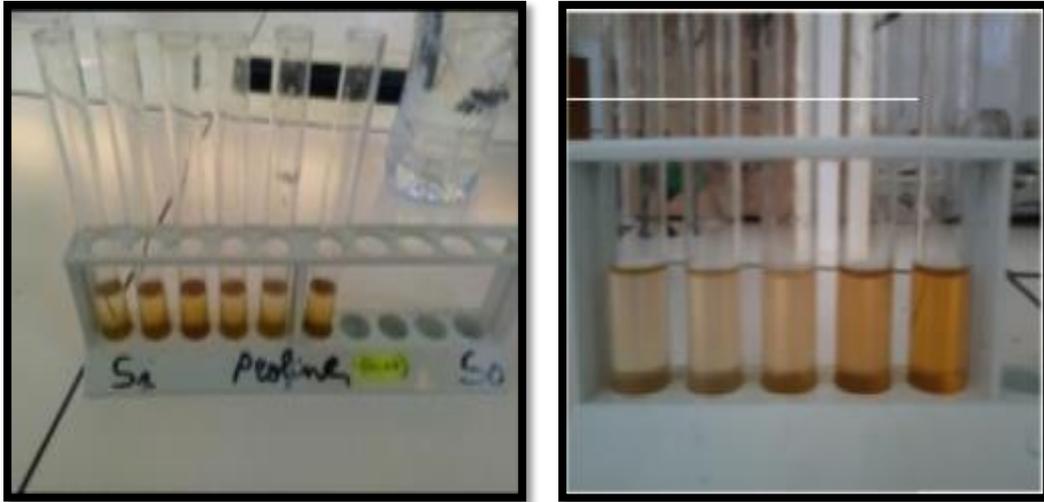
	<b>Tube 1</b>	<b>Tube 2</b>	<b>Tube 3</b>	<b>Tube 4</b>	<b>Tube 5</b>
<b>solution mère</b>	1ml	0,5 ml	0,2 ml	0,1 ml	0.05
<b>Eau distillée</b>	4 ml	4 ,5 ml	4,8 ml	4,9 ml	4.95
<b>La concentration finale</b>	20 µg/ ml	10 µg/ ml	4 µg/ ml	2µg/ ml	1µg/ ml



**Figure 24:** Préparation de gamme d'étalonnage.

### II.2.2.3. Dosage

Dans des tubes à essais, on introduit 1ml de la solution à doser, puis 1ml de la solution de phénol (5%). Les tubes sont soigneusement agités. Puis 5ml d'acide sulfurique concentrés sont ajoutés à l'aide d'une pipette graduée.



**Figure 25:** Résultats de dosage.

Après un repos de 30mn à l'obscurité, les mesures d'absorbance (densité optique ou DO) sont effectuées à une longueur d'onde égale à 490nm. Par ailleurs, le calibrage du spectrophotomètre (UV-VIS spectrophotomètre, SHIMADZU) se fait avec un blanc contenant 1ml d'eau distillée, 1ml de phénol à 5% et 5ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



**Figure 26:** Spectrophotomètre.

#### **II.2.2.4. Expression des résultats**

Une courbe d'étalonnage corrélant la variation de la DO en fonction de la concentration de glucose a été tracée. A partir de cette courbe on détermine la concentration de notre échantillon en sucres totaux. Le taux des sucres en % par rapport à la matière sèche est obtenu par la formule suivante:

$$ST (\%MS) = [(CxV)/P] \times 100$$

C: concentration en sucres de l'extrait en mg/ml

V: volume de l'eau distillé utilisé en ml

P: la prise d'essais en mg

ST: sucres totaux.

$$ST (\%MF) = [ST (\%MS) \times \%MS]/100$$

%MS: la teneur en matière sèche en %

MF : matière fraîche.

-A-

**AFNOR., 1990.** Recueil de normes françaises. Méthodes d'analyses françaises et communautaires. Aliments des animaux. Dosage de la teneur en eau. Paris, 80 p.

**AFNOR., 2000.** Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome 1– Echantillonnage et méthodes d'analyse 471 p. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 p. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles : 663 p.

**Arpino M., Prevot A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A. et Witier P., 1995.** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, ed. Masson, Paris

-B-

**Benmehdi H., 2000.** Valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Mémoire en chimie (Magistère) Tlemcen, 88 p.

**Bouchonnet S. et Libong D., 2004.** Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. *Actualité Chimique*, 7-14.

**Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Ed Tec et Doc, 3ème édition. 1269 p.

**Burgot G. et Burgot J.L., 2011.** Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications, Lavoisier, 3<sup>e</sup> édition 368 p.

-C-

**Colas C., 2006.** Développement de méthodes physico-chimiques pour le contrôle de la médication par l'Harpagophytum et l'Eleutherococcus, principes actifs utilisés en phytothérapie équine. Thèse de doctorat. Département de chimie de l'école polytechnique France, 288 p

-D-

**Dubois M., Gille K.A. et Hamilton J.D., 1956.** Colorimetric methods for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*, 28: 350-356.

-E-

**Edeoga H.O., Okwu D.E. et Mbaebie B.O., 2005.** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(7): 685-688

-G-

**Grigonis D., Venskutonis P.R., Sivik B., Sandahl M. and Eskilsson C.S., 2005.** Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloa odorata*). *The Journal of Supercritical Fluids*, 33(3): 223-233.

-H-

**Harbone J.B., 1998.** *Phytochemical Methods, a guide to modern techniques of plant analysis.* Ed Chapman et Hall, 3ème Edition, 305-306 p.

**Harborne J.B., 1993.** The aminoacide : recent advance. In : Goodwin T W ,ed . *plant pigments.* London : Academic press, 344-3358 p.

-K-

**Karumi Y., Onyeyili P.A. et Ougbuaja V.O., 2004.** Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci.* 4(3):179-182.

-L-

**Luicitla A. et Lgunez R., 2006.** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe, Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, France.

-M-

**McLafferty F.W. et Stauffer D.B., 1994.** *Wiley Registry of Mass Spectral Data*, 6th ed. Mass spectrometry library search system Bench Top/PBM, version 3.10d. *Palisade Co., Newfield.*

**Menet M.C., 2011.** Principes de la spectrométrie de masse, *Revue francophone des laboratoires*. 2011(437): 41-53 p

**Mouellet M., 2005.** Screening phytochimique de deux espèces de plantes : *Crotalaria retusa* L (Papilionaceae) et *Halimolobos ciliata* Aubrev & Pellegr. (Rubiaceae) récoltées au Gabon - thèse de doctorat. Université de Bamako Mali, 125 p

-N-

**Nowitz T. et Bottet J., 2000.** Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse.

-O-

**Organisation mondiale de la santé., 2002.** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005 (No. WHO/EDM/TRM/2002.1).

-P-

**Paolini J., 2005.** Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM (IE et IC) et RMN du carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux Asteraceae endémiques de Corse: *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* et *Doronicum corsicum* (Doctoral dissertation, Université de Corse).

**Pibiri M.C., 2005.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'HEs, thèse de doctorat, EPF Lausanne, 98-99 p.

**Pulgarin A. et Van Coillie R., 2012.** Méthodes pour la datation des hydrocarbures déversés dans l'environnement (Doctoral dissertation, Université de Sherbrooke.).

-Q-

**Quan L., Li S., Tian S., Xu H., Lin A. et Gu L., 2004.** Determination of organochlorine pesticides residue in ginseng root by orthogonal array design soxhlet extraction and gas chromatography. *Chromatographia*, 59(1-2) : 89-93.

**-R-**

**Rouessac F. et Rouessac A., 2000.** Analyse chimique : méthodes et techniques instrumentales modernes. Ed : Dunod. 430 p

**-S-**

**Sarker S.D., Latif Z. et Gray A.I., 2006.** Natural Products Isolation, Second Edition, Humana Press Inc, 81 p

**Skoog D.A., West D.M. et Holler F.J., 2012.** Les méthodes voltampérométriques, In: Chimie Analytique (7ème Edition), 685 P

**Skoog D.A., 2008.** principe d'analyse instrumental', 5ème édition, université de Bruxelles.

**Souley amadou B., 2005.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum* Perr. Ex DC (Combretaceae)- thèse de doctorat. Université de Bamako. Mali, 143 p.

**Stobiecki M., 2000.** Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides. *Phytochemistry*, 54 (3): 237-256.

**-T-**

**Tranchant J., 1996.** Chromatographie en phase gazeuse. Ed. Techniques Ingénieur.

**-W-**

**Wang P.Z. et Waller D.S., 2006.** Measuring consumer vanity: A cross-cultural validation. *Psychology & Marketing*, 23(8): 665-687.

**Site internet**

**Anonyme 07** ([http : //www.culturescience-chimie](http://www.culturescience-chimie) consulté le 20.05.2019)

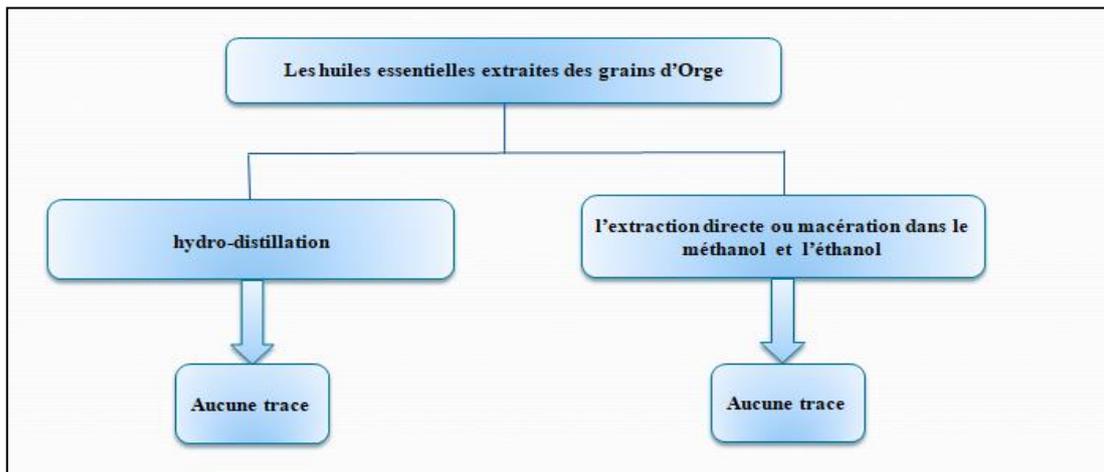
**Anonyme 08** : Article Gas chromatography de l'encyclopédie collaborative en ligne Wikipédia consulté le 17.05.2019

# **Résultats et interprétations**

## I. Extraction des huiles essentielles

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, de l'organe utilisé, des conditions de séchage, du contenu en métabolites de chaque espèce, de la nature et de la polarité du solvant utilisé.

D'après les résultats obtenus, il s'est avéré que les graines ont un faible taux en HE.



**Figure 27** : Résultat d'extraction des huiles essentielle par solvant et hydro-distillation.

## II. Etude phytochimique

### II.1. Tests qualitatifs

L'étude phytochimiques nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de nos échantillons. La détection de Ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des Réactions de précipitation et de turbidité, et un changement de couleur spécifique. Les Résultats du criblage réalisés sur les graines de l'Orge (*Hordeum vulgare L.*) sont mentionnés dans le tableau IX.

Tableau IX: Tests phytochimiques réalisés sur la poudre des grains d'Orge (*Hordeum vulgare L.*).

Composés recherchés	Réactifs utilisés	Tests réalisés sur les grains d'Orge moulus									
		E A B	E. Ether	E. Ethn	E. Méthn	FA1	FA2	FA3	FB1	FB2	FD M
Alcaloïdes	Wagner	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Composés Réducteurs	Liqueur de Fehling	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Amidon	Réactif d'amidon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acides aminés	Ninhydrine	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Les stérols et les tri-terpènes	Réaction Libermann Buchard	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+
Coumarines	KOH HCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anthraquinones	NH <sub>4</sub> OH à (10%)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Glucosides cardiotoniques	Réaction de Keller-kiliani	+	+	+	+	+	±	±	+	±	±
Flavonoïdes	Mg <sup>++</sup>	+	-	-	+	+	±	-	+	±	±
Mucilage	alcool absolu	+	+	+	+	+	±	±	+	±	±
Tanins	FeCl <sub>3</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponosides	Indice de mousse	-	+	-	-	±	-	-	±	±	±

Déecté, (+) Trace: (±) Non déecté: (-) Non effectué : (/)

E A B : Extrait aqueux brut

FA1= Fraction aqueuse 1

FB2= Fraction butanolique 2

E. Ether : Extrait Ethérique

FA2= Fraction aqueuse 2

FDM= Fraction dichlorométhanolique

E. Ethn : E. Ethanolique

FA3= Fraction aqueuse 3

E. Meth : E. Methanolique

FB1= Fraction butanolique 1

Du tableau IX , il ressort que les grains d'orge (*Hordeum vulgare*) sont riches en composés réducteurs, en alcaloïdes, par contre mucilage, glucosides cardiotoniques se trouve à l'état de traces dans les FA2, FA3, FB2, FDM. Coumarines, tanins et amidon qui sont détectés dans tous les extraits. Il faut signaler que toutes ces molécules interviennent à différents niveau de l'organisme soit comme agents protecteurs contre des maladies aiguës et même chroniques.

Cependant, les stérols et les triterpènes sont détectés dans l'E.ether, E.ethan, E. meth , FB1, FB2 et FDM , les anthraquinones dans FA1, FA2, FA3, FB1, FB2 et FDM , ainsi que, les flavonoïdes dans EAB, E. Méthanolique, FA1 et FB1 mais à l'état de traces dans FA2, FB2 et FDM alors qu'ils sont totalement absents au niveau des extraits éthérique, ethanologique et FA3. Les saponosides se trouve dans extrait éthérique mais à l'état de traces dans FA1, FB1, FB2, FDM. Par contre qu'il sont absent dans EAB, E.ethanologique, E.méthanolique , FA2 et FA3.

Par contre les acides aminés leur absence est du au manque du produit chimique la Ninhydrine qui est de première nécessité pour la mise en évidence par le test de phytochimie qualitative, afin de déduire la valeur biochimique de tout produit.

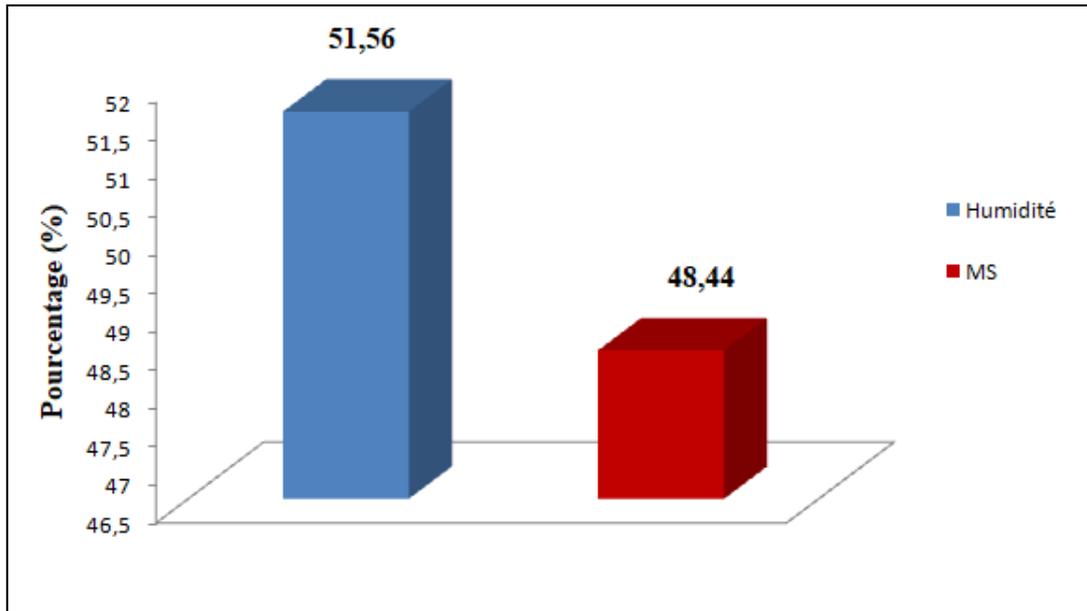
## **II.2. Tests quantitatifs**

### **II.2.1. Le taux de l'humidité et de la matière sèche**

L'appréciation de la teneur en matière sèche repose sur la détermination du taux d'humidité (eau) contenue dans l'échantillon (grain d'Orge) à analyser. Cet indice (humidité) reste très important du point de vue qualité de l'échantillon et de sa valeur alimentaire, accélère la germination si le degré de végétation est atteint et même dans la majorité des cas favorise le développement des microorganismes lors du stockage ce qui conduit à la dégradation de la valeur et la qualité nutritive.

L'analyse du taux d'humidité de *Hordevum ulgare L.* a révélé une proportion moyenne estimée à 51,56% des grains, à partir de laquelle le pourcentage en matière sèche (MS) déterminé est évalué à 48,44%.

L'Orge s'avère donc modérément riche en eau.



**Figure 28:** Taux d'humidité et de matière sèche des grains d'Orge.

### II.2.2. Le taux des Sucres totaux

Le dosage des sucres totaux d'orge est effectué par spectrophotomètre. Les résultats obtenus exprimés en  $\mu\text{g/ml}$ , sont calculés par l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage du glucose.

**Tableau X :** Résultats du dosage de la gamme d'étalonnage

	Tube 1	Tube2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
<b>La concentration finale</b>	20 $\mu\text{g/ ml}$	10 $\mu\text{g/ ml}$	5 $\mu\text{g/ ml}$	2,5 $\mu\text{g/ml}$	1.25 $\mu\text{g/ml}$
<b>D.O</b>	0.591	0.322	0.201	0.07	0.031

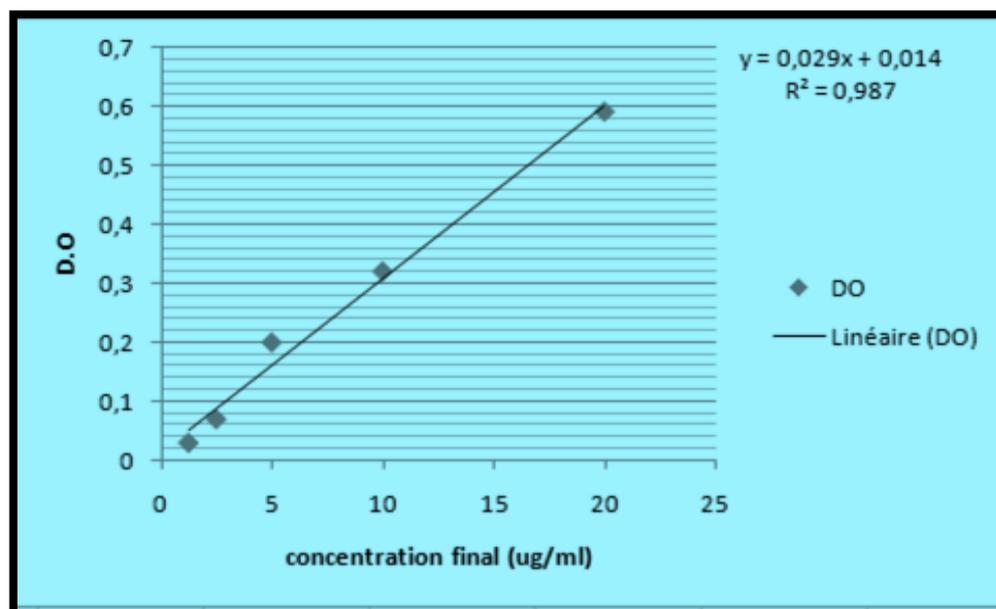


Figure 29: Gamme d'étalonnage du glucose

Tableau XI: Résultats du dosage des sucres totaux.

	Tube1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	Tube 6
<b>D.O</b>	0,016	0,05	0,118	0,238	0,211	0,258
<b>Les concentrations des sucres totaux (µg/ml)</b>	0.06 µg/ml	1.24 µg/ml	3.58 µg/ml	7.72 µg/ml	6.79µg/ml	8.41 µg/ml

A la lecture des résultats reportés dans le tableau XI, il ressort que le taux des sucres totaux reste toujours fonction de la dilution, ainsi, donc ceci montre que les échantillons sont riches en ces composés énergétiques.

### III. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC/MS)

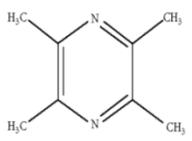
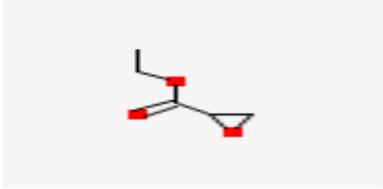
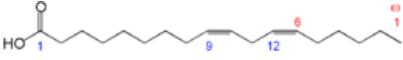
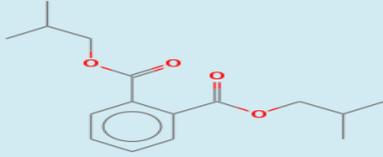
Elle reste, généralement, une méthode physique de séparation qui se fait grâce aux différences d'affinité des substances de l'échantillon à analyser, à l'égard des phases, stationnaire ou fixe, et mobile. En effet, afin d'identifier les principaux constituants, en particulier les acides gras à caractère thérapeutique, des grains d'Orge, il s'est avéré nécessaire de recourir aux méthodes chromatographiques (CPG et CPG / SM). Cependant, la technique la plus utilisée pour connaître et identifier les substances bioactives est celle du couplage CPG/SM. Dans la majorité des cas, elle donne, la masse moléculaire d'un composé et des informations

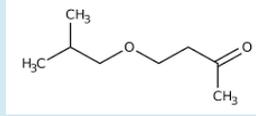
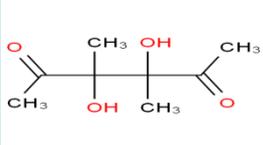
structurales relatives à toute molécule à partir de sa fragmentation (Evans et Haken, 1989; Longevialle, 1981).

Résultat d'analyse et identification des molécules bioactives de l'Orge (*Hordeum vulgare*) par le CPG-SM au laboratoire pédagogique de la faculté SNV de l'Université de Jijel sont présenté dans la figure 27 et tableau 09 qui détermine les différents constituants et le temps de rétention, formule chimique et son pourcentage de surface pour chaque composé.

Le nombre de composés identifiés pour *Hordeum vulgare* L. est de 57 composés, mais nous ne mentionnons que des composés importants.

**Tableau XII:** Caractéristique des principaux composés des extraits de la farine des grains d'Orge identifiés par GC/SM.

N° de pic	Temps de rétention	Pourcent age	Composés identifiés	Formule chimique	La structure
8	9.482	25.86	Tétraméthylpyrazine	$C_8H_{12}N_2$	
7 9	9.197 9.870	13.02 8,26	Oxirane-2carboxylic acid, ethyl ester	$C_2H_4O$	
44	43.874	11.94	n-Hexadecanoic acid ou acide palmitique	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	
50	47.329	8.33	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- Acide linoléique	$C_{18}H_{32}O_2$	
41	41,804	2,59	Benzenedicarboxylic acid, bis(2methylpropyl) ester ou phtalate de dibutyle	$C_{16}H_{22}O_4$	

56	52,018	2,57	Phenol, 4,4'-(1-methylethylidene) bis-	$C_{15}H_{16}O_2$	
24	15,705	2,50	4-Isobutoxy-2-butanone	$C_8H_{16}O_2$	
23	15,134	2,46	Propanoic acid, 2-methyl-, propyl ester	$C_7H_{14}O_2$	
3	7,304	2,11	2,5-Hexanedione, 3,4-dihydroxy-3,4-dimethyl-	$C_8H_{14}O_4$	

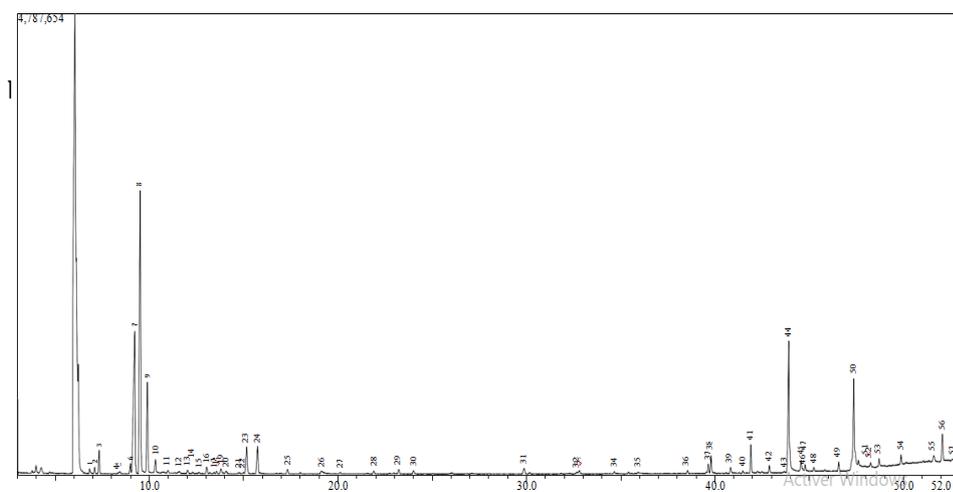


Figure 30: Chromatogramme de *Hordevum vulgare* L.

### III.1. Identification des pics

L'identification des pics par l'ordinateur relié avec la CG/MS.

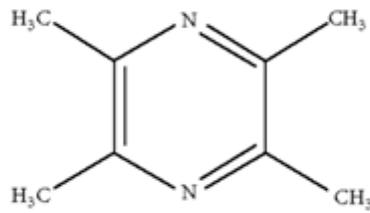
#### ✚ Le tétraméthyle pyrazine ou TMP



**Figure 31:** Pic de tétraméthyle pyrazine

Il est de formule moléculaire  $C_8H_{12}N_2$ , de poids moléculaire égal à 136.198 g/mol. Le tétraméthylpyrazine appartient à la classe des pyrazines, à savoir la pyrazine, dans laquelle les quatre atomes d'hydrogène sont remplacés par des groupes méthyle. Il joue un rôle d'antinéoplasique, d'inhibiteur de l'apoptose, d'agent neuroprotecteur, d'agent vasodilatateur, d'inhibiteur de l'agrégation plaquettaire et de métabolite bactérien.

Est un composé naturel utilisé en phytothérapie chinoise à des fins médicinales depuis plus de 2000 ans. Il possède des actions sur les infarctus du myocarde et du cerveau (**Guo et al., 1983**). A cet effet, plusieurs chercheurs se sont penchés sur d'autres capacités pharmacologiques du TMP dans diverses maladies, telles que les maladies coronariennes, le diabète, les cancers et les lésions du foie. En conséquence, sa capacité de régulation dans diverses cibles moléculaires, à savoir anti-inflammatoire, antioxydant, antiplaquettaire et anti-apoptose est vérifiée au laboratoire (**Guo et al., 2016; Mei et al., 2008**).



**Figure 32:** Structure chimique du tetramethylpyrazine (Mie et al., 2008).

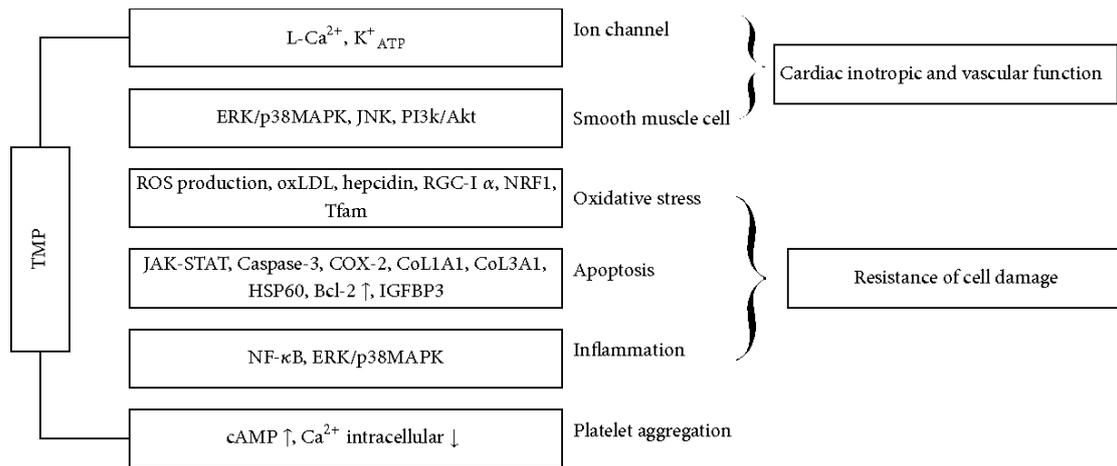
❖ **Utilisation médicinale du TMP**

✓ **Diabète**

Comme il existe de nombreuses preuves de l'action protectrice vasculaire du TMP, Lee et ses collègues ont émis l'hypothèse d'étudier cette caractéristique dès le début sur le modèle diabétique. L'induction de la maladie chez les animaux expérimentaux est réalisée par une molécule diabéto-gène dite la streptozotocine adoptée pour tester le taux de la peroxydation lipidique, l'un des changements pathologiques marqués du diabète. A cet effet, le résultat obtenu est hautement significatif car le TMP a abaissé efficacement les taux de glucose et d'urée dans le sang (Lee et al., 2002).

✓ **Action du TMP sur le system cardiovasculaire**

Les effets pharmacologiques cardiovasculaires de ce monomère constituent un remède botanique prometteur. En effet, son mécanisme d'action inclue la modulation des canaux ioniques, la stimulation de la production et de la libération du NO, l'inhibition de la prolifération et de la migration des cellules musculaires lisses vasculaires, la régulation de l'inflammation et de l'apoptose ainsi que la prévention de l'agrégation plaquettaire.



**Figure 33:** Mécanismes putatifs sous-jacents aux effets protecteurs cardiovasculaires du TMP (Guo *et al.*, 2016 ; Qian *et al.*, 2014).

➤ **Régulation des fonctions inotropes et cardio- vasculaires**

**a. Canaux ioniques**

Le TMP est un «antagoniste du calcium» (Zhou *et al.*, 1985). Il produit une libération du Ca<sup>2+</sup> intracellulaire au début suivie par une vasodilatation par inhibition du flux de Ca<sup>2+</sup> (Kwan *et al.*, 1990). En effet, il affecte le flux du calcium pour faciliter l'ouverture du canal potassique (Kwan *et al.*, 1990 ; Tsai *et al.*, 2003). de même il induit une vaso-relaxation des veines aortiques par les canaux potassiques dépendants de l'ATP (Kim *et al.*, 2010). La combinaison du phosphate de tétraméthylpyrazine (TMPP) et de Ginsenoside-Rb1 (Rb1) dans le modèle murin cTn a également donné certains avantages, le niveau régulé à la baisse de la protéine kinase IIβ (Camk2b) dépendante du calcium / calmoduline (Camk2b) a éclairé l'hypothèse que le TMP pourrait réguler le Ca<sup>2+</sup> / CaM (Lu *et al.*, 2012). Récemment, un ouvrage (Lin *et al.*, 2015). a testé avec succès l'effet protecteur du TMP sur les cardiomyoblastes H9c2; le résultat est conforme au rapport précédent de Zheng *et al.* (2013).

**b. Voie de l'oxyde nitrique**

Le TMP stimule la production de NO (Peng *et al.*, 1996). car il est démontré qu'Akt et l'isoforme endothéliale de la phosphorylation de l'oxyde nitrique synthase (eNOS) étaient significativement régulés positivement après le prétraitement au TMP in vivo, à cet effet, en conséquence il pourrait être bloqué par l'inhibiteur de NO synthase (NOS) (Lv *et al.*, 2012). Cependant, la même source indique que la voie PI3K / Akt pourrait jouer un rôle crucial dans l'activation de NOS et l'augmentation de la production de NO.

Le TMP exerce un rôle d'inhibition dans la phosphorylation de l'Akt dans les cellules microgliales N9 mais active l'Akt dans les cellules endothéliales vasculaires (**Liu et al., 2010; Kang et al., 2009**).

### **c. Prolifération et migration des cellules musculaires lisses**

Le TMP peut diminuer la prolifération du CMLV (Cellule Musculaire Lisse Vasculaire) dans les vaisseaux aortiques de lapin (**Li et al., 1999**). En outre, le TMP inhibe la prolifération des cellules du tissu musculaire lisse des voies respiratoires via la voie de signalisation ERK1 / 2, du fait que le niveau de protéines PDGF et p-ERK 1/2 a diminué de manière significative (**Qu et al., 2010**). Cependant, (**Yu et al., 2015**). Le TMP peut inhiber, aussi, la prolifération du CMLV induite par PDGF-BB.

## ➤ **Résistance aux destructions cellulaires**

### **a. Stress oxydatif**

Des études en phytothérapie sur les lésions provoquées par la voie des ROS (espèces réactive oxygène) chez les MCV (maladies cardiovasculaires) ont fait preuve de beaucoup d'intérêt médical car elles dégagent le TMP sur les fuites (**Li et al., 2015; Zhang et al., 2011**).

- Vasculaires pulmonaires induites par l'hypoxie.
- Niveau des cellules de la veine ombilicale humaine (HUVEC) induites par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dont l'évaluation de l'effet protecteur du TMP sur le stress oxydatif, ainsi que ses propriétés anti-apoptotiques sont significativement importantes

### **b. l'apoptose**

Le TMP diminue l'expression de l'ARNm d'ANP (peptide natriurétique auriculaire) et élimine les taux de pJAK2, pJAK1 (protéines ou tyrosine-kinases JAK (Janus kinases) ou de pSTAT3 (protéines signal transducers and activators of transcription qui une fois au repos dans le cytoplasme sont phosphorylées par les tyrosine-kinases JAK), démontrant ainsi qu'il peut inhiber la transduction du signal JAK-STAT (**Gao et al., 2011**). Le TMP peut, aussi, exercer une capacité anti-apoptose en inhibant le macrophage COX-2 (**Wan et al., 2004**).

### **c. l'inflammation**

Le TMP pourrait réguler l'expression de l'hepcidine (de l'anglais : hepatic *bactericidal* protein = hormone peptidique sécrétée par le foie qui régule le métabolisme du fer dans l'organisme au niveau de l'absorption intestinale et de son stockage hépatique) véritable régulateur positif de la déstabilisation de la plaque athéroscléreuse depuis 2007 par suillivan **(Sullivan, 2007; Sun et al., 2015)**.

#### ✓ **Antiplaquettaire**

L'agrégation plaquettaire joue un rôle clé dans la pathogenèse de l'athérombose, cependant, une variété de plantes médicinales chinoises, riche en TMP, testée sur des lapins a montré ses propriétés antiplaquettaires **(Liu et al., 2012)**. Il faut mentionner que le TMP est reconnu par son effet antiplaquettaire depuis les années 1980 **(Zeng et al., 1982)**, à cet effet, la stimulation de la production d'AMPc, ainsi que l'inhibition de la mobilisation du calcium intracellulaire sont supposées être le mécanisme potentiel de ce phénomène **(Liu et Sylvester, 1990)**. Une recherche menée sur des patients atteints d'un syndrome coronarien aigu et ayant bénéficié d'une intervention coronarienne percutanée a donné, après un traitement au TMP, une baisse significative du niveau de CD63, véritable indicateur de l'activation plaquettaire, donc il peut avoir un effet sur l'inhibition de la libération des plaquettes **(Chen et al., 2007)**.

#### ✓ **Protection contre les lésions cérébrales et médullaires**

L'application du TMP dans le traitement de l'AVC ischémique date depuis un temps lointain **(Chen et Chen, 1992)**. et intervient dans la récupération fonctionnelle et la plasticité dendritique après ischémie **(Lin et al., 2015)**. Signalons que l'évaluation directe de la capacité de ce produit à pénétrer au travers de la barrière hémato-encéphalique, grâce à une microdialyse qui fournit la preuve sur l'effet central de la PTM, est mise en évidence par **Tsai et Liang (2001)**. Cependant, sa propriété neuroprotectrice est en partie due à la modulation de la transcription de la thiorédoxine **(Jia et al., 2009)**. et à la régulation négative de l'expression de l'isoforme neuronal de la NO synthase (nNOS) **(Xiao et al., 2010)**. Comme, il pourrait également atténuer l'inflammation associée à l'ischémie en régulant l'expression du facteur deux (02) lié à NF-E2 (Nrf2) et de l'hème oxygenase-1 (HO-1), qui joue un rôle contre les lésions cérébrales de reperfusion ischémique **(Xiao et al., 2010; Li et al., 2011)**.

Les chercheurs ont affirmé que ce produit peut protéger la fonction mitochondriale et les antioxydants enzymatiques (**Li et al., 2010**). Les effets neuroprotecteurs du TMP ont également été testés sur les lésions de la moelle épinière (**Xiao et al., 2012; Shin et al., 2013**).

#### ✓ **Cancer**

Le TMP, en premier lieu est testé par **Liu et al. (1995)** pour une éventuelle réponse à la prolifération des lymphocytes, dont le résultat est positif. De ce fait, plus tard, il est utilisé sur divers cancers, tels que la leucémie (**Li et al., 2014; Wang et al., 2015**), le cancer du poumon (**Xu et al., 2004; Zheng et al., 2012**), le carcinome de l'ovaire (**Yin et al., 2011**), le cancer du foie (**Cao et al., 2015**), l'ostéosarcome (**Wang et al., 2013**), cancer du sein résistant à la chimiothérapie (**Zhang et al., 2012**), et cancer de la prostate (**Han et al., 2015**). ainsi, il est conclu que probablement que son mécanisme d'action comprend des anti-inflammatoires et favorise l'apoptose. Cependant, il en est de même quel'effet de ses dérivés à savoir le chlorhydrate de tétraméthylpyrazine (TMPH) a abouti à une conclusion similaire.

Signalons que pour le moment de grandes quantités d'agents sont actuellement rapportées comme anticarcinogènes via de nombreuses voies, déterminées dans des environnements expérimentaux, tandis que peu présentent les mêmes effets en clinique.

#### ✓ **Lésion hépatique**

L'effet hépato-protecteur du TMP sur les lésions hépatiques aiguës induites par l'éconazole est détecté pour la première fois par **Liu et al. (2002)**. Cependant, l'explication probable de cette action inclut l'inhibition de la peroxydation des lipides membranaires (**So et al., 2002**), et du stress oxydatif (**Lu et al., 2015**). De même, plus tard d'autres résultats montrent que le TMP joue un rôle de protection contre les lésions hépatiques aiguës induites par la sepsie, principalement en améliorant l'expression de l'aquaporine (**Wang et al., 2013**). En outre, il intervient comme un inhibiteur sur les voies de la fibrose hépatique, PI3 / AKT et ERK, et de l'inflammation de NLRP3 (**Zhang et al., 2014; Wu et al., 2015**).

#### ✓ **Lésion rénale**

Le stress antioxydant pourrait être l'un des mécanismes par lequel le TMP peut atténuer la néphrotoxicité induite par le cisplatine chez le rat

(Ali et al., 2008; Lan et al., 2014). car des effets similaires sont également observés dans les cellules tubulaires rénales de rat (Sue et al., 2009). Il faut signaler aussi que son effet thérapeutique sur les lésions d'ischémie-reperfusion hépatique / rénale chez le rat (Chen et al., 2003). ainsi que sur la fibrose rénale interstitielle, est vérifié positivement (Yuan et al., 2012 ; Li et al., 2014). De plus, le TMP protège les cellules tubulaires rénales de rats de l'apoptose induite par l'adriamycine (Cheng et al., 2006; Juan et al., 2007). suite à l'inhibition des voies p38 MAPK et FoxO1 (Gong et al., 2013).

✓ **Autres**

La réputation du TMP pour son large spectre de caractéristiques pharmacologiques, tels que les effets antioxydants, anti-inflammatoires, antifibrosiques, et les maladies, comme l'asthme et la colite, a fait l'objet de plusieurs études approfondies (Che et al., 2008 ; Lu et al., 2014).

❖ **État actuel des utilisations thérapeutiques du TMP**

La solution injectable de TMP est largement utilisée, en particulier en Chine, pour traiter les accidents vasculaires cérébraux ischémiques (Ni et al., 2013). les maladies coronariennes (Chen et al., 2007). la néphropathie diabétique (Wang et al., 2012). et la gonarthrose (Hu et al., 2006). Cette technique semble avoir une efficacité et une fiabilité bien évidentes avec, cependant, peu de recherches signalent des effets indésirables (Wang et al., 2012; Shao et al., 2015 ; Li et al., 2012).

❖ **Modification structurale du TMP visant à améliorer sa biodisponibilité**

La formule structurale du TMP montre que la pyrazine détermine en grande partie sa pharmacodynamique, tandis que la chaîne latérale pourrait être principalement responsable de sa pharmacocinétique. Compte tenu de ses caractéristiques inhérentes, la modification de la structure pour améliorer la biodisponibilité a été largement étudiée, ce qui a ouvert de nouvelles perspectives pour la découverte de médicaments. Notons que plus de 300 nouveaux dérivés de TMP sont conçus et synthétisés (Xu et al., 2015) dont, en général, la plupart des modifications sont des dérivées de 4 intermédiaires principaux du TMP à savoir l'acide 2-bromométhyl-3,5,6-triméthylpyrazine (TMP-Br), l'acide 3,5,6-triméthylpyrazine-2-yl (TMP-OH), l'acide 3,5,6-triméthylpyrazine-2-carboxylique (TMP). -COOH) et la 2,5-diméthylol-3,6-diméthylpyrazine (OH-TMP-OH).



sont orientées vers les dérivés de l'oxirane comme l'acide oxirane-carboxylique représenté par la figure 32 considéré comme un agent antidiabétique (**Senior et al., 1968**). Ces acides, exhibent une hypo-action glycémique chez les animaux à sang chaud. Cette molécule à caractère antidiabétique influe directement sur l'absorption du glucose et inhibe sa déphosphorylation une fois pénétré dans l'hépatocyte (**McGarry et Foster, 1980**).

Ils sont supérieurs aux acides oxirane 2-carboxyliques ester éthylique et se caractérisent par :

- a. Ils se distinguent par un indice thérapeutique nettement meilleur, ainsi que les augmentations d'enzymes hépatiques (transaminases) qui se produisent chez les diabétiques de type 2.
- b. Ils ont une action supérieure en ce qui concerne l'augmentation de l'effet de l'insuline dans des conditions de résistance à l'insuline.
- c. Ils sont métabolisés plus rapidement et ne forment pas de métabolites à long terme.

En raison de leur efficacité avantageuse et supérieure, les composés de formule générale I, selon l'invention et les sels pharmacologiquement acceptables conviennent au traitement et à la prophylaxie de troubles causés par des perturbations du métabolisme du glucose et des lipides, en médecine humaine et vétérinaire.

Ils sont utilisés, pour traiter des états pré-diabétiques, le traitement et la prévention de la manifestation du diabète de type 2, tous les états pathologiques associés à une insulino-résistance pathologique; le traitement et la prévention de la manifestation de toutes les conditions pathologiques avec une production pathologiquement élevée de corps cétoniques; le traitement et la prévention de la manifestation de tous états pathologiques dus à des concentrations élevées de cholestérol et / ou de triglycérides dans le sang (hyperlipidémie, artériosclérose, maladie coronarienne).

L'acide oxirane carboxylique ester éthylique constitue une nouvelle classe de substances hypoglycémiques puissantes et un effet d'abaissement plus prononcé des corps cétoniques sanguins (**Kean et Pogson, 1979**).

 n-hexadécanoïc acid



**Figure 36:** Structure de l'acide N-hexadécanoïque ou acide palmitique

Il est d'un poids moléculaire de 256,42 Da, de formule moléculaire  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$  et sa masse molaire est de 256 grammes par mole. De plus, il est l'acide gras utilisé préférentiellement pour synthétiser de l'ATP. Le bilan énergétique de sa combustion indique 129 ATP (**Kabagambe, 2005**).

L'acide palmitique est l'un des acides gras les plus courants chez les animaux, les plantes et les micro-organismes (**Harada et al., 2002**). Ont rapporté qu'il présente une forte activité cytotoxique anticancéreuse contre les cellules de fibroblastes humains en inhibant sélectivement l'effet de l'ADN topoisomérase-I, (interaction de haute affinité avec l'ADN topoisomérase-I, sans affecter l'activité de l'ADN topoisomérase-II). Ainsi, une cytotoxicité significative contre la lignée cellulaire du cancer du côlon humain, avec une valeur de CI50 de 80  $\mu\text{g mL}$  est observée.

Il est suggéré que l'activité cytotoxique observée de l'acide N-hexadécanoïque est due à son interaction avec l'ADN topoisomérase-I et que son potentiel cytotoxique anticancéreux avec d'autres protéines cible.

Alors que son importance biologique pour les activités anti-inflammatoires, anti-amibiennes, antifongiques, anti-ulcéreuses, antibactériennes, cicatrisantes et anti-oxydantes sont signalées dans plusieurs substances bioactives extraites des plantes médicinales (**Yaws, 1996; Kabagambe, 2005; Badrinathan et al., 2012; Chivandi et al., 2012; Davoodi et al., 2013**).

Il faut, cependant, signaler que divers autres constituants chimiques tels que les naphtoquinones, les iridoïdes, les acides gras, le norviburtinal, les stérols, les lignanes, les terpénoïdes et les flavonoïdes sont les éléments constitutifs essentiels de son large éventail d'activités biologiques (Atawodi et Olowoniyi, 2015).

✚ **9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)**



**Figure 37 :** Pic de 9, 12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-ou acide linoléique

Il possède plusieurs stéréoisomères, mais seul l'acide 9-cis, 12-cis octadécadiénoïque lui correspond. Il est le seul acide gras essentiel de la famille des omégas 6, grâce auquel, le corps peut produire tous les autres lipides de la famille des omégas 6 et il est présent dans quasiment toutes les huiles végétales. Heureusement, l'acide gras linoléique est très présent dans l'alimentation, il est facile d'en consommer suffisamment (comme tous les acides gras de la famille des omégas (6) :

A noter que toutes ces huiles doivent être de pression à froid car la chaleur détruit l'acide gras linoléique. Le rôle principal de l'AL se situe dans la fabrication des membranes cellulaires. Il n'est pas utilisé tel quel, mais après sa transformation en acide gamma linoléique (AGL), c'est-à-dire que l'apport alimentaire en AL sert en réalité au corps pour produire de l'AGL, qui va avoir une véritable action pour l'organisme.

Une consommation importante de CLA peut aider à limiter les risques de diabète, suite à son implication dans la régulation de l'insuline ainsi, il stabilise la glycémie et aide à obtenir un régime alimentaire plus faible en glucides.

Il existe deux principaux acides gras essentiels (AGE) retrouvés dans le régime alimentaire, l'acide linoléique (LA) de la série n-6 et acide alpha-linolénique (ALA) de la série n-3. Cependant, afin d'être pleinement utilisé par le corps et assurer toutes les leurs fonctions essentielles, LA et ALA doivent être 6-désaturés respectivement en acide gamma linoléique (GLA) et en acide stéaridonique (SA). Les métabolites 6-désaturés ont de nombreuses fonctions dans le corps, en tant que composants de la structure phospholipidique des membranes cellulaires, et précurseurs de substances régulatrices hautement actives, y compris les prostaglandines, les leucotriènes et les acides gras hydroxylés. Il faut signaler que les voies du métabolisme des acides essentiels n-6 et n-3 associés partagent, les mêmes enzymes (**Ali et Blunden, 2003**).

L'alimentation, conjuguée l'acide linoléique exerce un effet anti-inflammatoire en diminuant la production des médiateurs inflammatoires tels que la prostaglandine E2, IL-6, IL-1b, TNF $\alpha$  et oxyde nitrique. L'acide gras n-3 d'origine végétale terrestre, l'acide  $\alpha$ -linoléique (ALA) a montré un effet anti-inflammatoire plus élevé que l'acide n-3 dérivé des algues, l'acide docosahexaénoïque (DHA) (**Ali et al., 2008**). Les acides gras polyinsaturés, l'acide stéaridonique (18: 4n-3) et l'hexadécatétraénoïque acide (16: 4n-3) des algues marines *Undaria pinnatifida* et *Ulva pertusa* ont respectivement inhibé la production d'icosanoïdes (**Al-Johar et al., 2008**).

De très hauts niveaux de PLA2 sont observés dans le liquide synovial de patients arthritiques au moment de l'inflammation, ce qui suggère que la PLA2 peut être impliquée dans le processus d'inflammation et soit une cible pour la conception de médicaments anti-inflammatoires (**Kumari et al., 2012**). Une meilleure compréhension comment les acides gras modulent la fonction des cellules impliquées pourraient aider le développement de phytomédicaments basés sur la structure d'inhibiteurs naturels et leur interaction avec la molécule cible.

Un inhibiteur approprié uniquement à l'actif le site d'une enzyme peut avoir une réaction croisée avec plusieurs autres enzymes (**Sethi et al., 2008**). Plusieurs dérivés d'acides gras impliqués dans la gestion de l'inflammation sont des inhibiteurs de la PLA2 (**Sharma et al., 2009 ; Vuorelaa et al., 2004**). Il peut être préférable d'avoir un substrat analogue pour les modèles d'inhibiteurs d'enzymes.

Par conséquent, l'utilisation rigoureuse d'huiles médicamenteuses riches en l'acide  $\alpha$ -linoléique (ALA) pour le traitement des symptômes rhumatismaux est un système médical traditionnel de l'Inde.

Il est utilisé pour le traitement diurétique, apéritif, hémorragique et anti-pelliculaire en médecine traditionnelle. comme anti-inflammatoire, analgésique, antipyrétique, tonique cardiaque et antiasthmatique (Ayed et al., 2006).

✚ 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2- methylpropyl) ester.



**Figure 38:** Pic de 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2- methylpropyl) ester.

DE Formule  $C_{16}H_{22}O_4$ , et de Poids moléculaire= 278.3435

Les expériences de bio-activité de ce composé révèlent une activité anticancéreuse positive mais aussi un puissant stimulant des cellules B immuno-modulateurs (Shukla et Thakur, 1998).

Il est un agent stimulant la prolifération des cellules B Phytohémaglutinine (PHA) et aussi un stimulant puissant de la prolifération des cellules T Phytohémaglutinine (PHA) (Save et al., 2015).

Des études sur la bio activité des extraits contenant l'acide bis1, 2-Benzène-dicarboxylique ont montré que ce produit s'avère anticancéreux et immuno-modulateurs (Barbon et al., 2012). En effet, les stimulateurs de ces derniers ont un impact sur les antigènes des deux cellules T et B, alors que les Antigènes LPS activés des Cellules B indiquent que l'extrait est une

option de traitement prometteuse pour l'anémie (Chang et al., 2013). Cependant, en plus de l'activité anticancéreuse de la prostate, des seins, du côlon, des poumons et des cellules cancéreuses humaines du pancréas, il induit la perte d'activité dans la plupart des lignées de cellules cancéreuses (Save et al., 2015).

L'extraction et l'isolement de ce constituant bioactif à partir des herbes, des épices et des champignons comestibles possède des propriétés médicinales et une valeur thérapeutique importante (Su et al., 2011). L'extrait à base de ce composé peut être considéré comme un nouveau facteur pour la bio-prospection et le développement de médicaments pour le traitement du cancer, de l'arthrite et allergies microbiennes et peut agir en tant que rappel immunitaire (Lindsay et Frederick, 2007). Il contient des constitutions chimiques qui peuvent être utiles pour diverses formulations à base de plantes comme anti-inflammatoire, analgésique, antipyrétique, tonique cardiaque et antiasthmatique. Il est utilisé aussi pour le traitement diurétique, apéritif, hémorragique et anti-pelliculaire (Al-Othmanet al., 2006).

✚ **Phenol, 4,4'-(1-méthyléthylidène)bis.**



**Figure 39: Pic de Phenol, 4,4'-(1-méthyléthylidène)bis.**

De Formule chimique :  $C_{15}H_{16}O_2$  et de Poids moléculaire: 228.2863

Ce produit est classé dans la catégorie des groupes toxiques, ainsi il conduit, suite aux diverses voies d'absorption, usuellement en milieu de travail (voie respiratoire, voie cutanée), à des complications graves, cependant, la possibilité par ingestion est également mentionnée qui peut être des fois pire que les précédentes (Völkel et al., 2002).

Les données quantitatives et qualitatives concernant les principales voies d'absorption (voie respiratoire, cutanée et digestive) peuvent conduire, grâce à la circulation sanguine, à une possible accumulation dans les principaux organes (foie, cerveau, poumons, placenta, muscles... .Cependant, le processus biochimique par lequel le produit est transformé (en métabolites) dans l'organisme peut être les effets mutagènes, cancérigènes, sur la fertilité, sur le système reproducteur, hormonaux, ainsi que le lait maternel et le transfert placentaire, le développement prénatal (téatogénicité, embryotoxicité et foetotoxicité) ainsi que le développement postnatal (**anonyme 09; Vivacqua et al., 2003 ; Takahashi et Oishi, 2000**).

Il a une biodisponibilité ainsi qu'une capacité de s'accumuler dans les tissus, ce qui peut se traduire facilement par des effets toxiques aigus chez les organismes avec une incidence défavorable sur le développement et la croissance (**Takahashi et al., 2003**).

En conséquence, il contamine l'environnement en quantité ou en concentration ou dans des conditions de naturelles soit immédiatement ou à long terme, et conduit un effet nocif sur l'environnement en général et sur la diversité biologique, en particulier (**Staples et al., 1998**).

#### **4-Isobutoxy-2-butanone**



**Figure 40:** Pic de 4-Isobutoxy-2-butanone

Formule:  $C_8H_{16}O_2$  et de poids moléculaire: 144, 214

L'action physiologique la plus importante est l'exposition répétée à des concentrations supérieures élevées peut causer une irritation nasale, une inappétence, des céphalées, des étourdissements et un état de surexcitation, suivi de somnolence et des troubles mentaux.

Il peut transférer des groupements éthyle et méthyle, sur des sites donneurs d'électrons tels que  $-NH_2$  dans le matériel génétique et l'hémoglobine ce qui est intimement liée à la formation de cancers. Il est ainsi cancérigène pour l'être humain surtout chez les travailleurs exposés à ce produit pendant une très brève période qui tient probablement à sa forte activité mais également constitue une substance extrêmement irritante (**Anonyme10**)

**✚ Propanoic acid, 2-methyl-, propyl ester**



**Figure 41: Pic de** Propanoic acid, 2-methyl-, propyl ester

Formule:  $C_7H_{14}O_2$  et de poids moléculaire: 130.1849

Il possède une action neuropharmacologique ainsi qu'un large spectre de propriétés pharmacologiques telles que neuro protectrices, antimicrobiennes antidiabétiques, anti-oxydantes et des activités anticancéreuses, analgésiques et anti-inflammatoires significatives (**anonyme 11**)

✚ 2, 5-Hexanedione, 3,4-dihydroxy-3,4-dimethyl-



**Figure 42: Pic de 2, 5-Hexanedione, 3,4-dihydroxy-3,4-dimethyl-**

Formule moléculaire:  $C_8H_{14}O_4$  et de poids moléculaire: 174.19436

Les accumulations du 2,5-Hexanedione, 3,4-dihydroxy-3,4 dimethyl-dans les neurofilaments observées font suite aux divers troubles neurologiques, cependant, leur pathogenèse reste un problème fondamental de neuropathologie (**Griffin et al., 1984**). La même source signale que l'abus de l'utilisation de ce produit entraîne des gonflements de neurofilaments dans les régions distales des grands axones de l'homme et des animaux. Alors que sa neurotoxicité constitue un modèle largement étudié pour des modifications neurofibrillaires axonales où les mécanismes pathogénétiques sont conjecturaux. Le 2,5 –hexanedione constitue un marqueur biologique de l'exposition chronique et le plus grand responsable de sa neurotoxicité (**Ichihara et al., 1998**).

La méthode de détermination de la 2,5-HD urinaire en tant qu'indicateur utile est plus que primordiale. Ainsi, le marqueur biologique idéal pour évaluer les risques devrait être une mesure quantitative d'un changement chimique, biochimique, fonctionnel ou morphologique du système initié par un produit chimique et entraînant un changement pathologique et une toxicité manifeste (**Fedtke et Blot, 1986**).

**-A-**

**Ali A., Alkhawajah A.A., Randhawa M.A. and Shaikh N.A., 2008.** Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 20(2): 25-27

**Ali B.H. and Blunden G., 2003.** Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research: An international journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives*, 17(4): 299-305

**Ali B.H., Al-Moundhri M., Eldin M.T., Nemmar A., Al-Siyabi S. and Annamalai K., 2008.** Amelioration of cisplatin-induced nephrotoxicity in rats by tetramethylpyrazine, a major constituent of the Chinese herb *Ligusticum wallichii*. *Experimental biology and medicine*, 233(7): 891-896

**Al-Johar D., Shinwari N., Arif J., Al-Sanea N., Jabbar A.A., El-Sayed R A. and Al-Saleh I., 2008.** Role of *Nigella sativa* and a number of its antioxidant constituents towards azoxymethane-induced genotoxic effects and colon cancer in rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 22(10): 1311-1323

**Al-Othman A.M., Ahmad F., Al-Orf S., Al-Murshed K.S. et Arif Z., 2006.** Effect of dietary supplementation of *Ellataria cardamomum* and *Nigella sativa* on the toxicity of rancid corn oil in Rats. *Int J Pharmacol*, 2(1): 60-5

**Atawodi S.E.O. et Olowoniyi O.D., 2015.** Pharmacological and therapeutic activities of *Kigelia africana* (Lam.) Benth. *Annual Research & Review in Biology*, 5: 1-17

**Ayed A.K., Bazerbashi S., Ben-Nakhi M., Chandrasekran C., Sukumar M., Al-Rowayeh A. and Al-Othman M., 2006.** Risk factors of spontaneous pneumothorax in Kuwait. *Medical principles and practice*, 15(5): 338-342

**-B-**

**Badrinathan S., Shiju M.T., Christa A.S.S, Arya R. et Pragasam V., 2012.** Purification et caractérisation structurale du polysaccharide sulfaté de *Sargassum myricostum* et son efficacité pour le piégeage des radicaux libres. *Indian J. Pharmaceut. Sci*, 74: 549 -555

**Barbon T., da Silv C., Sampaio S. and Baldo M., 2012.** Evaluation of Anticancer Activity Promoted by Molecules Contained in the Extracts of *Thevetia peruviana*. *Toxicon*, 60(2): 179-180

**Shukla Y.N. et Thakur R.S., 1998.** Studies on Indian ginseng, Part 10. Chemical constituents from the leaves of *Panax pseudoginseng* subsp. *Himalaicus* and its varieties. *Indian J. Pharm. Sci*, 51: 209-210

**-C-**

**Cao J., Miao Q., Miao S., Bi L., Zhang S., Yang Q., ... and Wang S., 2015.** Tetramethylpyrazine (TMP) exerts antitumor effects by inducing apoptosis and autophagy in hepatocellular carcinoma. *International immunopharmacology*, 26(1): 212-220

**Chang C.H., Jang-Liaw N. H., Lin Y.S., Fang Y.C. et Shao K. T., 2013.** Authenticating the use of dried seahorses in the traditional Chinese medicine market in Taiwan using molecular forensics. *journal of food and drug analysis*, 21(3) : 310-316

**Che X.W., Zhang Y., Wang H. and Wang W., 2008.** Effect of ligustrazine injection on levels of interleukin-4 and interferon- $\gamma$  in patients with bronchial asthma. *Chinese journal of integrative medicine*, 14(3): 217-220

**Chen J.L., Zhou T., Chen W.X., Zhu J.S., Chen N.W., Zhang M.J. and Wu Y.L., 2003.** Effect of tetramethylpyrazine on P-selectin and hepatic/renal ischemia and reperfusion injury in rats. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 9(7): 1563-1566

**Chen K.J. and Chen K., 1992.** Ischemic stroke treated with Ligusticum chuanxiong. *Chinese medical journal*, 105(10): 870-873

**Chen Z.Q., Hong L. and Wang H., 2007.** Effect of tetramethylpyrazine on platelet activation and vascular endothelial function in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention. *Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi= Chinese journal of integrated traditional and Western medicine*, 27(12): 1078-1081

**Chen Z.Q., Hong L., and Wang H., 2007.** Effect of tetramethylpyrazine on platelet activation and vascular endothelial function in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention, *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine*, 27(12): 1078–1081

**Cheng C.Y., Sue Y.M., Chen C.H., Hou C.C., Chan P., Chu Y.L. and Hsu Y.H., 2006.** Tetramethylpyrazine attenuates adriamycin-induced apoptotic injury in rat renal tubular cells NRK-52E. *Planta medica*, 72(10): 888-893

**Chivandi E., CaveE., Davidson C.B., Erlwanger K.H., Moyo D. et MT Madziva., 2012.** Suppression de la prolifération des cellules Caco-2 et HEK-293 par les huiles de graines de *Kigeliaafricana*, *Mimusopszeyheri* et *Ximenia caffra*. *In vivo*, 26: 99-105

**-D-**

**Davoodi H., Hashemi S.R. et Seow H.F., 2013.** Le 5-fluorouracile induit l'expression de TLR4 sur une lignée cellulaire de cancer colorectal HCT116 exprimant différents variants de TLR4. *Iran. J. Pharmaceut. Res*, 12: 453-460

**-E-**

**Eistetter K. et Wolf H.P., 1982.** Synthesis and hypoglycemic activity of phenylalkyloxiranecarboxylic acid derivatives. *Journal of medicinal chemistry*, 25(2): 109-113

**Evans M. B. et Haken J. K., 1989.** Recent developments in the gas chromatographic retention index scheme. *Journal of Chromatography A*, 472: 93-127

**-F-**

**Fedtke N. et Bolt H.M. (1986).** Methodological investigations on the determination of n-hexane metabolites in urine. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 57(2): 149-158.

**-G-**

**Gao M.H., Zhang L., Li B., Ren S.R. and Zhang B., 2011.** Effect of tetramethylpyrazine on JAK-STAT signal transduction in cardiomyocyte hypertrophy. *Xi bao yu fen zi mian yi xue za zhi= Chinese journal of cellular and molecular immunology*, 27(5): 519-21

**Gong X., Wang Q., Tang X., Wang Y., Fu D., Lu H. and Norgren S., 2013.** Tetramethylpyrazine prevents contrast-induced nephropathy by inhibiting p38 MAPK and FoxO1 signaling pathways. *American Journal of Nephrology*, 37(3): 199-207

**Griffin J.W., Anthony D.C., Fahnestock K.E., Hoffman P. N. et Graham D.G., 1984.** 3, 4-Dimethyl-2, 5-hexanedione impairs the axonal transport of neurofilament proteins. *Journal of Neuroscience*, 4(6): 1516-1526

**Guo M., Liu Y. and Shi D., 2016.** Cardiovascular actions and therapeutic potential of tetramethylpyrazine (active component isolated from Rhizoma Chuanxiong): roles and mechanisms. *BioMed research international*, 2016

**Guo S. K., Chen K. J., Qian Z. H., Weng W. L. and Qian M.Y., 1983** Tetramethylpyrazine in the treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases, *Planta Medica*, 47(2)

**-H-**

**Han J., Song J., Li X., Zhu M., Guo W., Xing W. and Li Y., 2015.** Ligustrazine suppresses the growth of HRPC cells through the inhibition of cap-dependent translation via both the mTOR and the MEK/ERK pathways. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 15(6): 764-772

**Harada H., amashita Y.H., Kurihara F., Fukushi J. et Kamei Y., 2002.** Activité antitumorale de l'acide palmitique présent en tant que substance cytotoxique sélective chez une algue rouge marine. *AnticancerRes*, 22: 2587-2590

**Hu J.Z., Luo C.Y., Kang M., Lü H.B., Lei G.H. and Dai Z., 2006.** Therapeutic effects of intraarticular injection of ligustrazine on knee osteoarthritis. *Zhong nan da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Central South University. Medical sciences*, 31(4): 591-594

**-I-**

**Ichihara G., Saito I., Kamijima M., Yu X., Shibata E., Toida M. et Takeuchi Y., 1998.** Urinary 2, 5-hexanedione increases with potentiation of neurotoxicity in chronic coexposure to n-hexane and methyl ethyl ketone. *International archives of occupational and environmental health*, 71(2): 100-104

**-J-**

**Jia J., Zhang X., Hu Y.S., Wu Y., Wang Q.Z., Li N.N., ... and Guo Q.C., 2009.** Protective effect of tetraethyl pyrazine against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats: therapeutic time window and its mechanism. *Thrombosis research*, 123(5): 727-730

**Juan S.H., Chen C.H., Hsu Y.H., Hou C.C., Chen T.H., Lin H. and Sue Y. M., 2007.** Tetramethylpyrazine protects rat renal tubular cell apoptosis induced by gentamicin. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 22(3): 732-739

**-K-**

**Kabagambe E. K., 2005.** The Type of Oil Used for Cooking Is Associated with the Risk of Nonfatal Acute Myocardial Infarction in Costa Rica . *The Journal of Nutrition*, 1er novembre 135 : 2674-2679

**Kang Y., Hu M., Zhu Y., Gao X. and Wang M.W., 2009.** Antioxidative effect of the herbal remedy Qin Huo Yi Hao and its active component tetramethylpyrazine on high glucose-treated endothelial cells. *Life sciences*, 84(13-14): 428-436

**Kean E.A. et Pogson C.I ., 1979.** Inhibition of gluconeogenesis in isolated rat liver cells by methylenecyclopropylpyruvate (ketohypoglycin). *Biochem J* , 182: 789-796

**Kim E.Y., Kim J.H. and Rhyu M.R., 2010.** Endothelium-independent vasorelaxation by *Ligusticum wallichii* in isolated rat aorta: comparison of a butanolic fraction and tetramethylpyrazine, the main active component of *Ligusticum wallichii*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 33(8): 1360-1363

**Kim M., Kim S.O., Lee M., Lee J.H., Jung W.S., Moon S.K. and Lee E.H., 2014.** Tetramethylpyrazine, a natural alkaloid, attenuates pro-inflammatory mediators induced by amyloid  $\beta$  and interferon- $\gamma$  in rat brain microglia. *European journal of pharmacology*, 740: 504-511

**Kumari P., Sachan R., Yadav P., Tomer P., Arya A., Tripathi S. et Kumar S., 2012.** Activité anti-inflammatoire de *Kigelia pinnata* (Jacq.) DC *in vitro* et *in vivo* d'origine indienne. *Indien J. Fundam. Applied Life Sci.*, 2: 261-268

**Kwan C. Y., Daniel E.E. and Chen M.C., 1990.** Inhibition of vasoconstriction by tetramethylpyrazine: does it act by blocking the voltage-dependent Ca channel?. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 15(1): 157-162

**-L-**

**Lan Z., Bi K.S. and Chen X.H., 2014.** Ligustrazine attenuates elevated levels of indoxyl sulfate, kidney injury molecule-1 and clusterin in rats exposed to cadmium. *Food and chemical toxicology*, 63: 62-68

**Lee L.M., Liu C.F. and Yang P.P., 2002.** Effect of tetramethylpyrazine on lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic mice, *The American Journal of Chinese Medicine*, 30(4): 601–608

**Li J., Yu J., Liu Y., Hu L., Yang B., Zhou X. and Liang Y., 2014.** Expression of the matrix metalloproteinases and the tissue inhibitor of metalloproteinase factors are affected by tetramethylpyrazine treatment in a renal interstitial fibrosis rat model. *Journal of Hard Tissue Biology*, 23(3): 309-316

**Li J.S., Wang H.F., Bai Y.P., Li S.Y., Yu X.Q. and Li Y., 2012.** Ligustrazine injection for chronic pulmonary heart disease: a systematic review and meta-analysis,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012(8)

**Li L., Zhou X., Li N., Sun M., Lv J. and Xu Z., 2015.** Herbal drugs against cardiovascular disease: traditional medicine and modern development, *Drug Discovery Today*, 20(9): 1074–1086

**Li M., Zhang X., Cui L., Yang R., Wang L., Liu L. and Du W., 2011.** The neuroprotection of oxymatrine in cerebral ischemia/reperfusion is related to nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (nrf2)-mediated antioxidant response: role of nrf2 and hemeoxygenase-1 expression. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34(5): 595-601

**Li N., Jia X.H. and Wang J.Y., 2014.** Effects of tetramethylpyrazine on apoptosis of human leukemia cells and the expressions of apoptotic-relevant proteins, *Tumor*, 34(10): 919–923

**Li S., Wang J. H. and Chen S. L., 1999.** Inhibitory effect of ligustrazine on proliferation of rabbit vascular smooth muscle cells after arterial injury. *Zhongguo yao li xue bao= Acta pharmacologica Sinica*, 20(10): 917-922

**Li S.Y., Jia Y.H., Sun W.G., Tang Y., An G.S., Ni J.H. and Jia H.T., 2010.** Stabilization of mitochondrial function by tetramethylpyrazine protects against kainate-induced oxidative lesions in the rat hippocampus. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(4): 597-608

**Lin J.B., Zheng C.J., Zhang X., Chen J., Liao W.J. and Wan Q., 2015.** Effects of tetramethylpyrazine on functional recovery and neuronal dendritic plasticity after experimental stroke. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015

**Lin K.H., Kuo W.W., Jiang A.Z., Pai P., Lin J.Y., Chen W.K. and Huang C.Y., 2015.** Tetramethylpyrazine ameliorated hypoxia-induced myocardial cell apoptosis via HIF-1 $\alpha$ /JNK/p38 and IGFBP3/BNIP3 inhibition to upregulate PI3K/Akt survival signaling. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 36(1): 334-344

**Lindsay L.M. et Frederick G. D., 2007.** Isolation and structural analysis of compound isolated from *Thevetia peruviana* (yellow oleander). In abstracts of papers of the American Chemical Society ( 233 ) : 702-702. 1155

**Liu S.Y. and Sylvester D.M., 1990.** Antithrombotic/antiplatelet activity of tetramethylpyrazine. *Thrombosis research*, 58(2): 129-140

**Liu C.F., Lin C.C., Ng L.T. and Lin S.C., 2002.** Hepatoprotective and therapeutic effects of tetramethylpyrazine on acute econazole-induced liver injury, *Planta Medica*, 68(6): 510–514

**Liu H.T., Du Y.G., He J.L., Chen W.J., Li W M., Yang Z. and Yu C., 2010.** Tetramethylpyrazine inhibits production of nitric oxide and inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-induced N9 microglial cells through blockade of MAPK and PI3K/Akt signaling pathways, and suppression of intracellular reactive oxygen species. *Journal of ethnopharmacology*, 129(3): 335-343

**Liu J., Qiang W. and Ye S., 1995.** Effect of tetramethylpyrazine on lymphocytes proliferation response of murine splenocytes. *Hua xi yi ke da xue xue bao= Journal of West China University of Medical Sciences= Huaxi yike daxue xuebao*, 26(2): 177-179

**Liu Y., Yin H.J., Shi D.Z. and Chen K.J., 2012.** Chinese herb and formulas for promoting blood circulation and removing blood stasis and antiplatelet therapies. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012

**Longevialle P., 1981.** Spectrométrie de masse des substances organiques, Masson

**Lu C., Jiang Y., Zhang F., Shao J., Wu L., Wu X. and Lu Y., 2015.** Tetramethylpyrazine prevents ethanol-induced hepatocyte injury via activation of nuclear factor erythroid 2-related factor 2. *Life sciences*, 141: 119-127

**Lu D., Shao H.T., Ge W.P., Liu N., Zhang X., Ma C.M. and Zhang L.F., 2012.** Ginsenoside-RB1 and tetramethylpyrazine phosphate act synergistically to prevent dilated cardiomyopathy in cTnTR141W transgenic mice. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 59(5): 426-433

**Lu Y., Zhu M., Chen W., Yin L., Zhu J., Chen N. and Chen W., 2014.** Tetramethylpyrazine improves oxazolone-induced colitis by inhibiting the NF- $\kappa$ B pathway. *Clinical & Investigative Medicine*, 37(1): 1-9

**Lv L., Jiang S.S., Xu J., Gong J.B. and Cheng Y., 2012.** Protective effect of ligustrazine against myocardial ischaemia reperfusion in rats: the role of endothelial nitric oxide synthase. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 39(1): 20-27

**-M-**

**McGarry J.D. et Foster D.W., 1974.** Studies with (+)-octanoylcarnitine in experimental diabetic ketoacidosis. *Diabetes*, 23: 485-493

**McGarry J.D. et Foster D.W., 1980.** Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Ann Rev Biochem*, 49: 395-420

**Mei D., Mao S., Sun W., Wang Y. and Kissel T., 2008.** Effect of chitosan structure properties and molecular weight on the intranasal absorption of tetramethylpyrazine phosphate in rats? *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 70(3): 874–881

**-N-**

**Ni X., Liu S. And Guo X., 2013.** Medium- and long-term efficacy of ligustrazine plus conventional medication on ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis, *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 33(6): 715-720

**-P-**

**Peng W., Hucks D., Priest R.M., Kan Y.M. and Ward J. P. T., 1996.** Ligustrazine-induced endothelium-dependent relaxation in pulmonary arteries via an NO-mediated and exogenous L-arginine-dependent mechanism. *British journal of pharmacology*, 119(5): 1063-1071

**-Q-**

**Qian W., Xiong X., Fang Z., Lu H. and Wang Z., 2014.** Protective effect of tetramethylpyrazine on myocardial ischemia-reperfusion injury. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014

**Qu Y.J., Bai H.B., Wang C.Z., Xu J.D., Zhang T.T. and Han Z.Y., 2010.** Inhibition of tetramethylpyrazine on the proliferation of rat airway smooth muscle cells. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 26(6): 814-818

-S-

**Save S.A., Lokhande R. S. et Chowdhary A. S., 2015.** Determination of 1, 2 Benzenedicarboxylic acid, bis (2-ethylhexyl) ester from the twigs of *Thevetia peruviana* as a Colwell Biomarker. *J Innov Pharm Biol Sci*, 2: 349-362

**Senior A.E., Robson B. et Sherratt H. S.A., 1968.** Biochemical effects of the hypoglycaemic compound pent-4-enoic acid and related non-hypoglycaemic fatty acids. *Biochem J* 110: 511-519

**Sethi G., Ahn K.S. and Aggarwal B.B., 2008.** Targeting nuclear factor- $\kappa$ B activation pathway by thymoquinone: role in suppression of antiapoptotic gene products and enhancement of apoptosis. *Molecular cancer research*, 6(6): 1059-1070

**Shao H., Zhao L., Chen F., Zeng S., Liu S. and Li J., 2015.** Efficacy of ligustrazine injection as adjunctive therapy for angina pectoris: a systematic review and meta-analysis, *Medical Science Monitor*, 21: 3704-3715

**Sharma N.K., Ahirwar D., Jhade D. and Gupta S., 2009.** Medicinal and pharmacological potential of *Nigella sativa*. A review. *Ethnobot. Rev*, 13: 946-955

**Shin J.W., Moon J.Y., Seong J.W., Song S. H., Cheong Y.J., Kang C. and Sohn N.W., 2013.** Effects of tetramethylpyrazine on microglia activation in spinal cord compression injury of mice. *The American journal of Chinese medicine*, 41(6): 1361-1376

**So E.C., Wong K.L., Huang T.C., Tasi S.C. and Liu C.F., 2002.** Tetramethylpyrazine protects mice against thioacetamide-induced acute hepatotoxicity. *Journal of biomedical science*, 9(5): 410-414

**Staples C.A., Dome P.B., Klecka G.M., Oblock S.T. et Harris L.R., 1998.** A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, 36(10): 2149-2173

**Su L.L., Tang X. L., Zhang J. et Li G.Q., 2011.** Studies on chemical constituents of Gorgonian *Melithaea* sp. from the South China Sea. *Chin J Mar Drugs*, 30: 18-22

**Sue Y.M., Cheng C.F., Chang C.C., Chou Y., Chen C.H. and Juan S.H., 2008.** Antioxidation and anti-inflammation by haem oxygenase-1 contribute to protection by tetramethylpyrazine against gentamicin-induced apoptosis in murine renal tubular cells. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24(3): 769-777

**Sullivan J.L., 2007.** Macrophage iron, hepcidin, and atherosclerotic plaque stability. *Experimental biology and medicine*, 232(8): 1014-1020

**Sun M.Y., Guo C.Y. and Wang J.S., 2015.** Correlation between high expression of hepcidin and vascular endothelial damage as well as intervention of tetramethylpyrazine, *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 46(15): 2265–2269

**-T-**

**Takahashi A., Higashitani T., Yakou Y., Saitou M., Tamamoto H. et Tanaka H., 2003.** Evaluating bioaccumulation of suspected endocrine disruptors into periphytons and benthos in the Tama River. *Water Science and Technology*, 47(9): 71-76

**Takahashi O. et Oishi S., 2000.** Disposition of orally administered 2, 2-Bis (4-hydroxyphenyl) propane (Bisphenol A) in pregnant rats and the placental transfer to fetuses. *Environmental Health Perspectives*, 108(10): 931-935

**Tsai C.C., Lai T.Y., Huang W.C., Yang T., Liu I.M., Wong K. L. and Cheng J.T. ,2003.** Tetramethylpyrazine as potassium channel opener to lower calcium influx into cultured aortic smooth muscle cells. *Planta medica*, 69(6): 557-558

**Tsai T.H. and Liang C.C., 2001.** Pharmacokinetics of tetramethylpyrazine in rat blood and brain using microdialysis. *International Journal of Pharmaceutics*, 216(1-2): 61-66

**Tutwiler G.F., Mohrbacher R. et Ho W., 1979.** Methyl 2-tetradecylglycidate, an orally effective hypoglycaemic agent that inhibits long-chain fatty acid oxidation selectively. *Diabetes*, 28: 242-248

**-V-**

**Vivacqua A., Recchia A.G., Fasanella G., Gabriele S., Carpino A., Rago V. et Maggiolini M., 2003.** The food contaminants bisphenol A and 4-nonylphenol act as agonists for estrogen receptor  $\alpha$  in MCF7 breast cancer cells. *Endocrine*, 22(3) : 275-284

**Völkel W., Colnot T., Csanády G.A., Filser J.G. et Dekant W., 2002.** Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. *Chemical research in toxicology*, 15(10): 1281-1287

**Vuorela P., Leinonen M., Saikku P., Tammela P., Rauha J.P., Wennberg T. and Vuorela H., 2004.** Natural products in the process of finding new drug candidates. *Current medicinal chemistry*, 11(11): 1375-1389

**-W-**

**Wan J.Y., Ye D.Y., Wu P., Zhang L., Gong X. and Huang Y., 2004.** Effect of tetramethylpyrazine on lipopolysaccharides induced macrophage cyclo-oxidase-2 expression and apoptosis of cardiac myocytes. *Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi= Chinese journal of integrated traditional and Western medicine*, 24(10): 906-911

**Wang B., Ni Q., Wang X. and Lin L., 2012.** Meta-analysis of the clinical effect of ligustrazine on diabetic nephropathy," *The American Journal of Chinese Medicine*, 40(1): 25-37

**Wang J.Q., Zhang L., Tao X.G., Wei L., Liu B. and Chen Y.G., 2013.** Tetramethylpyrazine upregulates the aquaporin 8 expression of hepatocellular mitochondria in septic rats. *Journal of surgical research*, 185(1): 286-293

**Wang X.J., Xu Y.H., Yang G.C., Chen H.X. and Zhang P., 2015.** Tetramethylpyrazine inhibits the proliferation of acute lymphocytic leukemia cell lines via decrease in GSK-3 $\beta$ . *Oncology reports*, 33(5): 2368-2374

**Wang Y., Fu Q. and Zhao W., 2013.** Tetramethylpyrazine inhibits osteosarcoma cell proliferation via downregulation of NF- $\kappa$ B in vitro and in vivo. *Molecular medicine reports*, 8(4): 984-988

**Wu X., Zhang F., Xiong X., Lu C., Lian N., Lu Y. and Zheng S., 2015.** Tetramethylpyrazine reduces inflammation in liver fibrosis and inhibits inflammatory cytokine expression in hepatic stellate cells by modulating NLRP 3 inflammasome pathway. *IUBMB life*, 67(4): 312-321

-X-

**Xiao X., Liu Y., Qi C., Qiu F., Chen X., Zhang J. and Yang P., 2010.** Neuroprotection and enhanced neurogenesis by tetramethylpyrazine in adult rat brain after focal ischemia. *Neurological research*, 32(5): 547-555

**Xiao Z., Hu J., Lu H., Zhuo X., Xu D., Wang S. and Li J., 2012.** Effect of tetramethylpyrazine on the expression of macrophage migration inhibitory factor in acute spinal cord injury in rats. *Zhong nan da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Central South University. Medical sciences*, 37(10): 1031-1036

**Xu K., Wang P., Xu X., Chu F., Lin J., Zhang Y. and Lei H., 2015.** An overview on structural modifications of ligustrazine and biological evaluation of its synthetic derivatives. *Research on Chemical Intermediates*, 41(3): 1385-1411

**Xu X.Y., Yan P.K., Chen G. and Liao D.F., 2004.** Inhibition of tetramethylpyrazine on Lewis lung carcinomas, microvessel growth and VEGF expression in mice. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 20(2): 151-154

-Y-

**Yaws C.L., 1996.** Handbook of Thermodynamic Diagrams. Huston, Texas, Gulf Pub. Co., (ISBN 0-88415-859-4)

**Yin J., Yu C., Yang Z., He J.L., Chen W.J., Liu H.Z. and Wang Y.X., 2011.** Tetramethylpyrazine inhibits migration of SKOV3 human ovarian carcinoma cells and decreases the expression of interleukin-8 via the ERK1/2, p38 and AP-1 signaling pathways. *Oncology reports*, 26(3): 671-679

**Yu L., Huang X., Huang K., Gui C., Huang Q. and Wei B., 2015.** Ligustrazine attenuates the platelet-derived growth factor-BB-induced proliferation and migration of vascular smooth muscle cells by interrupting extracellular signal-regulated kinase and P38 mitogen-activated protein kinase pathways. *Molecular medicine reports*, 12(1): 705-711

**Yuan X.P., Liu L.S., Fu Q. and Wang C.X., 2012.** Effects of Ligustrazine on Ureteral Obstruction-induced Renal Tubulointerstitial Fibrosis. *Phytotherapy Research*, 26(5): 697-703

**-Z-**

**Zeng G.Y., Zhou Y.P., Zhang L.Y. and Zhang Y., 1982.** Effects of tetramethylpyrazine on cardiac haemodynamics in dogs. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 17(3): 182-186

**Zhang F., Zhang Z., Kong D., Zhang X., Chen L., Zhu X. and Zheng S., 2014.** Tetramethylpyrazine reduces glucose and insulin-induced activation of hepatic stellate cells by inhibiting insulin receptor-mediated PI3K/AKT and ERK pathways. *Molecular and cellular endocrinology*, 382(1): 197-204

**Zhang L., Deng M. and Zhou S., 2011.** ramethylpyrazine inhibits hypoxia-induced pulmonary vascular leakage in rats via the ROS-HIF-VEGF pathway. *Pharmacology*, 87(5-6): 265-273

**Zhang Y., Liu X., Zuo T., Liu Y. and Zhang J. H., 2012.** Tetramethylpyrazine reverses multidrug resistance in breast cancer cells through regulating the expression and function of P-glycoprotein. *Medical Oncology*, 29(2): 534-538

**Zheng C.Y., Xiao W., Zhu M.X., Pan X J., Yang Z.H. and Zhou S.Y., 2012.** Inhibition of cyclooxygenase-2 by tetramethylpyrazine and its effects on A549 cell invasion and metastasis. *International journal of oncology*, 40(6): 2029-2037

**Zheng H., Wang S., Zhou P., Liu W. and Ni F., 2013.** Effects of Ligustrazine on DNA damage and apoptosis induced by irradiation. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(3):1197-1206

**Zhou X.B., Salganicoff L. and Sevy R., 1985.** The pharmacological effect of ligustrazine on human platelets, *Acta Pharmaceutica Sinica*, 20(5): 334–339

**Site internet**

**Anonyme 09** ([https://www. Phenol, 4,4'-\(1-methylethylidene\)bis-.com/](https://www.4,4'-(1-methylethylidene)bis-phenol.com/)) (**consulté le 09 juin 2019**)

**Anonyme 10** <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Encyclopedie de securitee et de santee 3eme edition francaise (Consulte le 22 juin 2019).

**Anonyme 11** : <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook>). (**consulté le 09 juin 2019**)

# **Discussion générale**

## **Discussion générale**

Les troubles endocriniens sont les plus fréquents et touchent un nombre important à travers le monde, sans distinction d'âge. Cependant, le pancréas, le foie et la thyroïde restent les cibles les plus exposées aux diverses complications du fait qu'il y a une relation fonctionnelle étroites entre elles. En général, ces trois glandes sont liées d'une façon rigoureuse car les hormones thyroïdiennes affectent le métabolisme du glucose via plusieurs mécanismes. Il faut signaler que, depuis longtemps l'hyperthyroïdie est connue comme un facteur qui stimule l'hyperglycémie. A cet effet, au cours de l'atteinte de la thyroïde, il est fort probable que la demi-vie de l'insuline est réduite, grâce à une dégradation considérable et une libération accrue des précurseurs d'insuline biologiquement inactifs (**Hage et al, 2011**).

De ce fait, la maladie thyroïdienne non traitée est le produit de l'augmentation de l'absorption intestinale du glucose induite par l'excès d'hormones thyroïdiennes. Les hormones thyroïdiennes entraînent une augmentation des concentrations plasmatiques de GLUT-2 dans la membrane des hépatocytes, principal transporteur du glucose dans le foie. Par conséquent, les taux élevés de GLUT-2 contribuent à l'augmentation du débit de glucose hépatique et à un métabolisme anormal du glucose. De plus, une augmentation de la lipolyse dans l'hyperthyroïdie, entraîne une augmentation des acides gras libres qui stimulent la gluconéogenèse hépatique (**Brenta, 2010**).

En ce qui concerne l'hypothyroïdie, le métabolisme du glucose est également affecté via plusieurs mécanismes. Une diminution du taux de production de glucose dans le foie est observée dans l'hypothyroïdie et explique la diminution des besoins en insuline chez les patients atteints de diabète hypothyroïdien. La réduction du coefficient d'assimilation glucidique chez les hypothyroïdiens peut révéler un diabète sucré qui se traduit par une hyperglycémie modérée (**Hage et al, 2011**). Cependant, le pancréas endocrine surtout où les îlots de Langerhans, en particulier, les cellules  $\beta$  n'arrivent pas à satisfaire l'organisme en hormone insulinaire ou destruction totale de celles-ci. Ainsi, les premiers symptômes du diabète apparaissent, donc installation de cette maladie cruciale et chronique. Cependant, les céréales, en général, grâce à leur richesse en diverses molécules bioactives sont considérées des remèdes parfaits pour prévenir ou guérir plusieurs types de complications endocriniennes,

comme l'Orge dont les graines, grâce à leur richesse en divers types d'acides gras, ralentissent l'activité et régularisent la fonction de cette glande (**Manfred et al., 2000**)

De ce fait, l'étude de l'Orge (*Hordeum vulgare* L.) a permis l'identification, par les réactions de caractérisation, sa richesse en molécules bioactives qui peuvent servir comme phyto-médicaments. Ainsi, notons les tanins, coumarine, amidon, alcaloïdes, composés réducteur, les

glycosides cardiotoniques, mucilage et présence modérée des saponosides, les flavonoïdes, les stéroïls et les tri-terpènes, Anthraquinones.

Alors que les extraits de la poudre des grains d'Orge ont mis en évidence, particulièrement, des acides gras qui sont leurs véritables principes actifs, dont les principaux constituants le TMP, l'Acide palmitique, l'oxirane, l'acide linoléique, identifiés par la CG-SM.

Les résultats obtenus peuvent être liés, à l'un des constituants ou à une conjugaison de substances, aux différents composés suscités surtout que les graines sont très riches ou à d'autres familles de composés. Elles contrôlent le métabolisme des glucides, des lipides (cholestérol, TG) et de l'azote (urée, créatinine). (**Ganong, 2005**).

Il faut signaler, que les acides gras détectés se caractérisent par :

Le tétraméthylpyrazine (TMP), isolé pour la première fois en 1957, est un composé naturel utilisé en phytothérapie chinoise à des fins médicinales depuis plus de 2000 ans. Il intervient dans l'antinéoplasique, l'inhibition, l'apoptose, la neuroprotection, la vasodilatation, l'inhibition de l'agrégation plaquettaire, de métabolite bactérien comme il possède des actions sur les infarctus du myocarde et du cerveau (**Guo et al., 1983**).

Abaisse efficacement les taux de glucose et d'urée dans le sang (**Lee et al., 2002**) Ainsi, l'effet protecteur du TMP sur les cardiomyoblastes testé par **Lin et al. (2015)** est conforme à celui de **Zheng et al. (2013)** et exerce, aussi, un rôle d'inhibition dans la phosphorylation dans les cellules microgliales mais active les cellules endothéliales vasculaires. Il est utilisé sur divers cancers, tels que la leucémie le cancer du poumon (**Xu et al., 2004; Zheng et al., 2012**) le carcinome de l'ovaire, le cancer du foie (**Cao et al., 2015**), l'ostéosarcome (**Wang et al., 2013**) cancer du sein résistant à la chimiothérapie (**Zhang et al., 2012**) et cancer de la prostate (**Han et al., 2015**). .

Il joue un rôle de protection contre les lésions hépatiques aiguës, en améliorant l'expression de l'aquaporine (**Wang et al., 2013**) et intervient comme un inhibiteur sur les voies de la fibrose hépatique, et de l'inflammation de NLRP3. Le stress antioxydant est l'un des mécanismes par lequel le TMP atténue la néphrotoxicité (**Ali et al., 2008; Lan et al., 2014**) car des effets similaires sont également observés dans les cellules tubulaires rénales des rats (**Sue et al., 2009**)

Alors que l'acide oxirane carboxylique ester éthylique possède un mécanisme spécifique pour abaisser le taux de glucose dans le sang, de sorte qu'il peut être utilisé efficacement en tant qu'antidiabétique à activité remarquable. Il intervient au niveau enzymatique et transporteurs de glucose, afin d'éviter sa déphosphorylation donc inhiber sa sortie du foie, ainsi, abaisser le taux

de glucose sanguin d'où ralentir le diabète. A cet effet, grâce à sa réputation thérapeutique, d'autres recherches sont orientées vers les dérivés de l'oxirane comme l'acide oxirane considéré comme un agent antidiabétique (**Senior et al., 1968**).

L'acide palmitique est utilisé préférentiellement pour synthétiser de l'ATP (**Harada et al., 2002**), ont rapporté qu'il présente une forte activité cytotoxique anticancéreuse contre les cellules de fibroblastes humains en inhibant sélectivement l'effet de l'ADN topoisomérase-I, (interaction de haute affinité avec l'ADN topoisomérase-I, sans affecter l'activité de l'ADN topoisomérase-II). Ainsi, une cytotoxicité significative contre la lignée cellulaire du cancer du côlon humain, avec une valeur de CI50 de 80 µg mL est observée.

L'acide linoléique est le seul acide gras essentiel de la famille des omégas 6, grâce auquel, le corps peut produire tous les autres lipides de la famille des omégas 6 et il est présent dans quasiment toutes les huiles végétales. Une consommation importante de CLA peut aider à limiter les risques de diabète, suite à son implication dans la régulation de l'insuline ainsi, il stabilise la glycémie. Un inhibiteur approprié uniquement à l'actif le site d'une enzyme peut avoir une réaction croisée avec plusieurs autres enzymes. Plusieurs dérivés d'acides gras impliqués dans la gestion de l'inflammation sont des inhibiteurs de la PLA2. Il est utilisé pour le traitement diurétique, apéritif, hémorragique et anti-pelliculaire en médecine traditionnelle. comme anti-inflammatoire, analgésique, antipyrétique, tonique cardiaque et antiasthmatique (**Al-Othman et al., 2006**).

Les expériences de bio-activité de 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis révèlent une activité anticancéreuse positive mais aussi un puissant stimulant des cellules B immuno-modulateurs (**Shukla et Thakur, 1998**).

Il est un agent stimulant des la prolifération cellules B Phytohémaglutinine (PHA) et aussi un stimulant puissant de la prolifération des cellules T Phytohémaglutinine (PHA) Cependant, en plus de l'activité anticancéreuse de la prostate, des seins, du côlon, des poumons et des cellules cancéreuses humaines du pancréas, il induit la perte d'activité dans la plupart des lignées de cellules cancéreuses (**Sava et al., 2015**).

Alors que le Phenol, 4,4'-(1-méthyléthylidène)bis-, le processus biochimique par lequel le produit est transformé (en métabolites) dans l'organisme peut être les effets mutagènes, cancérigènes, sur la fertilité, sur le système reproducteur, hormonaux, ainsi que le lait maternel et le transfert placentaire, le développement prénatal (tératogénicité, embryotoxicité et foetotoxicité) ainsi que le développement postnatal (**anonyme 09; Vivacqua et al., 2003 ; Takahashi et Oishi, 2000**).

Le Propanoic acid, 2-methyl-, propyl ester possède une action neuropharmacologique ainsi qu'un large spectre de propriétés pharmacologiques telles que neuroprotectrices, antimicrobiennes antidiabétiques, anti-oxydantes et des activités anticancéreuses, analgésiques et anti-inflammatoires significatives (**anonyme 11**).

**-A-**

**Ali B.H., Al-Moundhri M., Eldin M.T., Nemmar A., Al-Siyabi S. and Annamalai K., 2008.** Amelioration of cisplatin-induced nephrotoxicity in rats by tetramethylpyrazine, a major constituent of the Chinese herb *Ligusticum wallichii*. *Experimental biology and medicine*, 233(7): 891-896

**Al-Othman A.M., Ahmad F., Al-Orf S., Al-Murshed K.S. et Arif Z., 2006.** Effect of dietary supplementation of *Ellataria cardamomum* and *Nigella sativa* on the toxicity of rancid corn oil in Rats. *Int J Pharmacol*, 2(1): 60-5

**-B-**

**Brenta G., 2010.** Diabetes and thyroid disorders. *The British Journal of Diabetes & Vascular Disease*, 10(4): 172–177.

**-C-**

**Cao J., Miao Q., Miao S., Bi L., Zhang S., Yang Q., ... and Wang S., 2015.** Tetramethylpyrazine (TMP) exerts antitumor effects by inducing apoptosis and autophagy in hepatocellular carcinoma. *International immunopharmacology*, 26(1): 212-220

**-G-**

**Ganong, W. F. (2005).** **The gonads:** development & function of the reproductive system. *Review of medical physiology*, 411-453.

**Guo S. K., Chen K. J., Qian Z. H., Weng W. L. and Qian M.Y., 1983** Tetramethylpyrazine in the treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases, *Planta Medica*, 47(2)

**-H-**

**Hage M., Zantout M., Azar S., 2011.** Thyroid Disorders and Diabetes Mellitus. *Journal of Thyroid Research*, 1–7

**Han J., Song J., Li X., Zhu M., Guo W., Xing W. and Li Y., 2015.** Ligustrazine suppresses the growth of HRPC cells through the inhibition of cap-dependent translation via both the mTOR and the MEK/ERK pathways. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 15(6): 764-772

**Harada H., amashita Y.H., Kurihara F., Fukushi J. et Kamei Y., 2002.** Activité antitumorale de l'acide palmitique présent en tant que substance cytotoxique sélective chez une algue rouge marine. *AnticancerRes*, 22: 2587-2590

**-L-**

**Lan Z., Bi K.S. and Chen X.H., 2014.** Ligustrazine attenuates elevated levels of indoxyl sulfate, kidney injury molecule-1 and clusterin in rats exposed to cadmium. *Food and chemical toxicology*, 63: 62-68

**Lee L.M., Liu C.F. and Yang P.P., 2002.** Effect of tetramethylpyrazine on lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic mice, *The American Journal of Chinese Medicine*, 30(4): 601–608

**Lin K.H., Kuo W.W., Jiang A.Z., Pai P., Lin J.Y., Chen W.K. and Huang C.Y., 2015.** Tetramethylpyrazine ameliorated hypoxia-induced myocardial cell apoptosis via HIF-1 $\alpha$ /JNK/p38 and IGFBP3/BNIP3 inhibition to upregulate PI3K/Akt survival signaling. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 36(1): 334-344

**-M-**

**Manfred J., MäoelLerand H. and joachim S., 2000.** Starvation-Induced Changes of Hepatic Glucose Metabolism in Hypo- and Hyperthyroid Rats in Vivo, InstitutPhysiologischeChemie, Universitts-Krankenhaus Eppendorf, Martinistr.52p

**McGarry J.D. et Foster D.W., 1980.** Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Ann Rev Biochem*, 49: 395-420

-S-

**Save S.A., Lokhande R. S. et Chowdhary A. S., 2015.** Determination of 1, 2 Benzenedicarboxylic acid, bis (2-ethylhexyl) ester from the twigs of *Thevetia peruviana* as a Colwell Biomarker. *J Innov Pharm Biol Sci*, 2: 349-362

**Senior A.E., Robson B. et Sherratt H. S.A., 1968.** Biochemical effects of the hypoglycaemic compound pent-4-enoic acid and related non-hypoglycaemic fatty acids. *Biochem J* 110: 511-519

**Shukla Y.N. et Thakur R.S., 1998.** Studies on Indian ginseng, Part 10. Chemical constituents from the leaves of *Panax pseudoginseng* subsp. *Himalaicus* and its varieties. *Indian J. Pharm. Sci*, 51: 209-210

**Sue Y.M., Cheng C.F., Chang C.C., Chou Y., Chen C.H. and Juan S.H., 2008.** Antioxidation and anti-inflammation by haem oxygenase-1 contribute to protection by tetramethylpyrazine against gentamicin-induced apoptosis in murine renal tubular cells. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24(3): 769-777

-T-

**Takahashi O. et Oishi S., 2000.** Disposition of orally administered 2, 2-Bis (4- hydroxyphenyl) propane (Bisphenol A) in pregnant rats and the placental transfer to fetuses. *Environmental Health Perspectives*, 108(10): 931-935

-V-

**Vivacqua A., Recchia A.G., Fasanella G., Gabriele S., Carpino A., Rago V. et Maggiolini M., 2003.** The food contaminants bisphenol A and 4-nonylphenol act as agonists for estrogen receptor  $\alpha$  in MCF7 breast cancer cells. *Endocrine*, 22(3): 275-284

**-W-**

**Wang J.Q., Zhang L., Tao X.G., Wei L., Liu B. and Chen Y.G., 2013.** Tetramethylpyrazine upregulates the aquaporin 8 expression of hepatocellular mitochondria in septic rats. *journal of surgical research*, 185(1): 286-293

**Wang Y., Fu Q. and Zhao W., 2013.** Tetramethylpyrazine inhibits osteosarcoma cell proliferation via downregulation of NF- $\kappa$ B in vitro and in vivo. *Molecular medicine reports*, 8(4):984-988

**-X-**

**Xu X.Y., Yan P.K., Chen G. and Liao D.F., 2004.** Inhibition of tetramethylpyrazine on Lewis lung carcinomas, microvessel growth and VEGF expression in mice. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 20(2): 151-154

**-Z-**

**Zhang Y., Liu X., Zuo T., Liu Y. and Zhang J. H., 2012.** Tetramethylpyrazine reverses multidrug resistance in breast cancer cells through regulating the expression and function of P-glycoprotein. *Medical Oncology*, 29(2): 534-538

**Zheng C.Y., Xiao W., Zhu M.X., Pan X J., Yang Z.H. and Zhou S.Y., 2012.** Inhibition of cyclooxygenase-2 by tetramethylpyrazine and its effects on A549 cell invasion and metastasis. *International journal of oncology*, 40(6): 2029-2037

**Zheng H., Wang S., Zhou P., Liu W. and Ni F., 2013.** Effects of Ligustrazine on DNA damage and apoptosis induced by irradiation. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(3): 1197-1206

**Site internet**

**Anonyme 09 :** ([https://www. Phenol, 4,4'-\(1-methylethylidene\)bis-.com/](https://www.Phenol,4,4'-(1-methylethylidene)bis-.com/))

**Anonyme 11 :** <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook>). (consulté le 09 juin 2019)

# **Conclusion**

## **Conclusion**

Les grains ainsi que l'herbe de l'Orge utilisés sous diverses formes sont d'une importance médicale primordiale et restent toujours une source fiable de principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. A cet effet, l'utilisation potentielle, des substances bioactives, d'origine végétale, comme phytomédicaments, a de multiples intérêts, dont les effets antidiabétique, anti-cardiovasculaire, anti-inflammatoire, antioxydant, hypotriglycéridémies, hypocholestérolémie, stimulateur, régulateur, soulageant et même curatif.

L'Orge est, cependant, choisie, pour cette étude, sur la base de sa grande consommation tant humaine que pour l'engraissement des animaux, ainsi que son utilisation en médecine traditionnelle, dans le but de rechercher de nouveaux composés naturels à intérêt thérapeutique. Ainsi, l'étude des grains à maturité a mis en évidence tous leurs bienfaits grâce à leur richesse en principes actifs.

Le criblage phytochimique des graines de l'Orge effectué sur les différents extraits et fractionnement a révélé une richesse importante en molécules bioactives, en particulier, les tanins, coumarine, amidon, alcaloïdes, composés réducteur, les glycosides cardiotoniques, mucilage et présence modérée des saponosides, les flavonoïdes, les stérols et les tri-terpènes, Anthraquinones.

D'après les résultats obtenus par dosage des extraits de la farine des grains d'Orge par CG-SM, il s'avère qu'elle offre un large spectre de phytothérapie, grâce à sa richesse en divers acides gras à activité anti-cancéreuse, anti-diabétique, protectrice...

Ces approches méthodologiques, en améliorant la connaissance de l'importance de la phytothérapie dans l'évolution des maladies aiguës ou chroniques, permettent à donner des recommandations et une éducation nutritionnelle (régime alimentaire spécifique aux divers paramètres métaboliques).

Enfin, ces plantes à usage thérapeutique, restent des essences riches en métabolites actifs, mais moins utilisées en médecine traditionnelle, à cet effet, une exploitation de leurs propriétés pharmacologiques s'impose pour une recherche approfondie de leurs principes actifs. A cet effet, il est souhaité de :

- Réétudier et approfondir la composition biochimique en fibres ( $\beta$ -glucanes) de l'Orge et vérifier leur effet sur les paramètres métaboliques un mélange d'animaux expérimentaux (rats et lapins).
- Il serait souhaitable qu'une quantification et une combinaison avec d'autres plantes de

- la même famille soient prises en considération.
- Rechercher le mécanisme moléculaire par lequel les substances bioactives agiraient sur
- quelques paramètres métaboliques.
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles qui peuvent répondre aux problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments de synthèses.
- Développer des médicaments pour des maladies à base des plantes
- (phytomédicaments).
- Orienter les recherches scientifiques vers une étude approfondie et complémentaire de l'activité des diverses molécules bioactives végétales.

# **Annexes**

## **Annexe1 : Solvants et réactifs**

### ➤ **Solvants utilisés**

- Méthanol
- Éthanol
- Ether diéthylique
- Hexane
- Chloroforme anhydre
- Acide acétique
- Eau Distillé
- Chlorure ferrique
- Hydroxyde de sodium
- Hydroxyde d'ammonium
- Peroxyde d'hydrogène
- Chloroforme
- Acide sulfurique
- Iodure de potassium
- Hydroxyde de potassium
- Iode
- Acide chlorhydrique
- Copeaux de magnésium

### ➤ **Réactifs utilisés**

Réactif de Wagner

Dissoudre 2g de Iodure de potassium (KI) dans 50ml d'eau, y ajouter 1.27 g d'Iode et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

### ➤ **Réactif d'amidon :**

Dissoudre 1,2 g d'I<sub>2</sub> et 2,5 g de KI solubilisés dans 500 ml d'eau distillée.

**Annexe 2 : Appareillage et verreries**

➤ **Appareillage**

- Rota vapeur
- Etuve
- Balance électronique
- Spectrophotomètre
- vortex
- Bain-marie
- Agitateur magnétique



➤ **Verrerie**

- Erlenmeyers
- Fioles
- Béchers
- Micropipette
- Papier filtre
- Spatule
- Tubes à essai
- Papier film
- Porte tube à essai
- Papier d'aluminium
- Entonnoir en verre
- Eprouvette
- Pipette graduée

**Annexe 3 : Résultats des tests phytochimiques des graines de l'orge.**

